

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Veterinária
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

**Deteção molecular de coronavírus canino (CCoV) em cães no município de
Pelotas – RS**

Winnie de Oliveira dos Santos

Pelotas, 2022

Winnie de Oliveira dos Santos

**Deteção molecular de coronavírus canino (CCoV) em cães no município de
Pelotas – RS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Faculdade de Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área de concentração: Sanidade Animal).

Orientadora: Silvia de Oliveira Hübner

Pelotas, 2022

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

S237d Santos, Winnie de Oliveira dos

Detecção molecular de coronavírus canino (CCoV) em cães no município de Pelotas - RS [recurso eletrônico] / Winnie de Oliveira dos Santos ; Silvia de Oliveira Hübner, orientadora. — Pelotas, 2022.
45 f.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2022.

1. Coronavirus canino. 2. Virologia. 3. Diagnóstico. 4. Rt-pcr. 5. Epidemiologia. I. Hübner, Silvia de Oliveira, orient. II. Título.

CDD 636.708962

Winnie de Oliveira dos Santos

Detecção molecular de coronavírus canino (CCoV) em cães no município de Pelotas
– RS

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências, Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 26/05/2022

Banca examinadora:

Prof^a Dr^a. Silvia de Oliveira Hübner (Orientadora)
Doutora em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Gefferson Fischer
Doutor em Biotecnologia Agrícola pela Universidade Federal de Pelotas

Prof^a. Dr^a. Marlete Brum Cleff
Doutor em Ciências Veterinárias pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Dr. Paulo Ricardo Centeno Rodrigues
Doutor em Veterinária pela Universidade Federal de Pelotas

**Dedico aos meus pais Rosa Eliana de Oliveira dos Santos
e Adonir Braga dos Santos.**

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a todos os espíritos de luz, que me guiaram nesse caminho, eu sou porque nós somos, eu existo porque vocês existem.

Aos meus pais, por todo suporte e apoio incondicional, sem vocês essa trajetória não seria possível.

A todos os animais que passaram na minha vida, vocês são luz na minha estrada.

Ao parceiro com quem compartilho minha vida, obrigada por ter sido fundamental nessa reta final, por toda reciprocidade, por ser meu lar, por todo o amor, e por tornar tudo mais leve.

À minha orientadora professora Dra. Silvia Hübner, por ser tão receptiva e ter me dado oportunidade e confiança para executar esse trabalho.

A todos meus amigos e familiares, que tornaram todo esse trajeto mais leve, obrigada por aturarem os meus “surto”, me escutarem, e se fazer presentes mesmo quando a distância em tempos de pandemia não nos permitisse um abraço.

A todos os colegas e professores do LabVir-UFPel, obrigado por todo suporte desde o esclarecimento de alguma dúvida ou um “cafezinho”.

À UFPel e Pós-Graduação em Veterinária, pela oportunidade de pós-graduação e à Capes/CNPq pela concessão da bolsa.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

***“Memento Mori
Memento Vivere”***

Resumo

DOS SANTOS, Winnie de Oliveira. **Deteção molecular de coronavírus canino (CCoV) em cães no município de Pelotas – RS**. 2022. 45f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

O coronavírus canino (*Canine coronavirus* – CCoV) é um patógeno de ampla distribuição geográfica, associado principalmente a quadros de gastroenterite autolimitante em cães. Este vírus pertence à família *Coronaviridae*, sendo classificado em dois genótipos principais: CCoV-I e CCoV-II. O genótipo CCoV-II é ainda subdividido em CCoV-IIa e CCoV-IIb devido a eventos de recombinação genética. Dentre as cepas conhecidas, as pantrópicas do CCoV-IIa destacam-se por causarem infecções sistêmicas severas, frequentemente associadas a altos índices de mortalidade. A relevância do estudo sobre o CCoV vai além de sua patogenicidade direta. A alta capacidade de mutação do vírus, uma característica marcante observada também na pandemia de COVID-19 em 2020, evidencia a necessidade de monitoramento contínuo de sua circulação e disseminação em diferentes populações de cães. Essa vigilância é crucial para prevenir surtos e identificar possíveis variantes de maior impacto na saúde animal. O diagnóstico preciso desempenha papel fundamental na gestão de doenças virais como o CCoV. Testes baseados em PCR, por sua maior sensibilidade em relação aos métodos imunocromatográficos comerciais, permitem maior confiabilidade na detecção do vírus, facilitando o fechamento diagnóstico em cães que apresentam sinais clínicos de gastroenterite ou infecções mais graves. No município de Pelotas, Rio Grande do Sul, dados epidemiológicos sobre a circulação do CCoV ainda são escassos, o que limita o entendimento de sua dinâmica local. Assim, este estudo teve como objetivo investigar a presença do coronavírus canino em cães domiciliados na cidade, por meio de um protocolo de semi-nested RT-PCR direcionado ao gene M do CCoV. A partir dessa abordagem, busca-se não apenas identificar a ocorrência do vírus, mas também reforçar a importância de métodos diagnósticos precisos

Palavras-chave: coronavirus canino; virologia; ccov; epidemiologia; diagnóstico; rt-pcr.

Abstract

DOS SANTOS, Winnie de Oliveira. **Detection of canine coronavirus (CCoV) in rectal swab and organs of dogs in Pelotas.** 2022. 45f. Dissertation (Master degree in Sciences) - Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2022.

Canine coronavirus (CCoV) is a pathogen with a wide geographic distribution, primarily associated with self-limiting gastroenteritis in dogs. This virus belongs to the *Coronaviridae* family and is classified into two main genotypes: CCoV-I and CCoV-II. The CCoV-II genotype is further subdivided into CCoV-IIa and CCoV-IIb due to genetic recombination events. Among the known strains, the pantropic CCoV-IIa strains stand out for causing severe systemic infections, often associated with high mortality rates. The relevance of studying CCoV extends beyond its direct pathogenicity. The virus's high mutation capacity, a hallmark feature also observed during the 2020 COVID-19 pandemic, underscores the need for continuous monitoring of its circulation and spread in different dog populations. This surveillance is crucial for preventing outbreaks and identifying potential variants with greater impacts on animal health. Accurate diagnosis plays a fundamental role in managing viral diseases such as CCoV. PCR-based tests, due to their higher sensitivity compared to commercial immunochromatographic methods, provide greater reliability in virus detection, facilitating definitive diagnoses in dogs presenting clinical signs of gastroenteritis or more severe infections. In the municipality of Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil, epidemiological data on CCoV circulation remain scarce, limiting the understanding of its local dynamics. Therefore, this study aimed to investigate the presence of canine coronavirus in domiciled dogs in the city using a semi-nested RT-PCR protocol targeting the CCoV M gene. Through this approach, we seek not only to identify the occurrence of the virus but also to emphasize the importance of precise diagnostic methods and to support control and prevention strategies, contributing to local veterinary public health.

Keywords: canine coronavirus; virology; ccov; epidemiology; diagnosis; rt-pcr.

Lista de Figuras

Dissertação

Figura 1	Microscopia eletrônica do CcoV.....	17
Figura 2	Estrutura do vírion da família <i>Coronaviridae</i>	17
Figura 3	Estrutura genômica das espécies dos quatro gêneros de coronavírus.....	18
Figura 4	Ciclo de replicação do coronavírus.....	20

Lista de Tabelas

Artigo

Tabela 1	Amostras caracterizadas por sexo, idade, sinais clínicos e resultados obtidos para coronavírus canino (CCoV) e parvovírus canino (CPV).....	32
----------	---	----

Lista de Abreviaturas e Siglas

CEACAM	<i>Carcinoembryonic Antigen-Related Cell Adhesion Molecules</i> (moléculas de adesão relacionadas ao antígeno carcinoembriogênico)
CcoV	<i>Canine coronavirus</i> (Coronavírus canino)
CONSEA	Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal
CPV-2	<i>Canine parvovirus type 2</i> (Parvovírus canino tipo 2)
CRCoV	<i>Canine Respiratory Coronavirus</i> (Coronavírus respiratório canino)
CRFK	<i>Crandell Reese feline kidney</i>
ERGIC	<i>Endoplasmic-reticulum–Golgi intermediate compartment</i> (Compartimento intermediário do retículo endoplasmático)
FCoV-II	<i>Feline coronavirus type II</i> (Coronavírus felino tipo II)
FIPV	<i>Feline Infectious Peritonitis Virus</i> (vírus da peritonite infecciosa felina)
IBV	<i>Infectious bronchitis virus</i> (Vírus da bronquite infecciosa aviária)
ICTV	<i>International Committee on Taxonomy of Viruses</i> (Comitê internacional de taxonomia viral)
LABVIR-UFPEL	Laboratório de Virologia e Imunologia – UFPEL
ME	Microscopia eletrônica
MHV	<i>Murine hepatitis virus</i> (Vírus da hepatite murina)
NTD	<i>N-terminal domain</i> (região N-terminal)
Pb	<i>Base pairs</i> (pares de base)
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i> (reação em cadeia da polimerase)
ORF	<i>Open reading frame</i> (fase aberta de leitura)
RE	Retículo endoplasmático
RNA	<i>Ribonucleic acid</i> (Ácido ribonucleico)
RT-PCR	<i>Reverse transcription PCR</i> (PCR via transcrição reversa)
SisBi/UFPeI	Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Pelotas
(+)ssRNA	<i>Positive-sense single-stranded RNA viroses</i> (RNA de cadeia simples e senso positivo)

TGEV	<i>Transmissible gastroenteritis vírus</i> (Vírus da gastroenterite transmissível)
UFPEL	Universidade Federal de Pelotas
UTR	<i>Untranslated region</i> (região não traduzida)
UV	<i>Ultraviolet</i> (ultravioleta)
°C	Graus Celsius
µL	Microlitro

Sumário

1 Introdução.....	13
2 Objetivos.....	15
3 Revisão de Literatura.....	16
3.1 Etiologia.....	16
3.2 Epidemiologia.....	18
3.3 Ciclo replicativo e patogenia.....	19
3.4 Sinais Clínicos.....	20
3.5 Diagnóstico.....	21
3.6 Profilaxia e Controle.....	22
4 Artigo.....	24
5 Considerações Finais.....	35
Referências.....	36
ANEXOS.....	42

1 Introdução

O coronavírus canino (*Canine Coronavirus*, CCoV) pertence à família *Coronaviridae*, subfamília *Orthocoronavirinae* nos gêneros *Alphacoronavirus* e *Betacoronavirus* (ICTV, 2019). O genoma dos membros dessa família, é uma molécula de RNA de fita simples e sentido positivo (BRANDÃO *et al.*, 2017). As proteínas estruturais presentes nos vírions são: a glicoproteína de espícula (S), a proteína de membrana (M), a proteína de nucleocapsídeo (N) e a proteína de envelope (E). A entrada do coronavírus na célula do hospedeiro é controlada principalmente pela glicoproteína S, presente no envelope viral, pois ela possui capacidade de se ligar e fundir a membrana celular (MASTERS, P. S.; PERLMAN, S., 2013; MILLET, J. K.; WHITTAKER, G. R., 2015).

Em relação a evolução genética observada nos coronavírus, as cepas de CCoV são classificadas em dois grupos, CCoV tipo I (CCoV-I) e tipo II (CCoV-II). O CCoV-II também é classificado em dois subtipos: CCoV-IIa, que deriva da recombinação com um coronavírus felino (FCoV-II), e CCoV-IIb, que deriva da recombinação com o vírus da gastroenterite transmissível dos porcos (TGEV) (TIMURKAN *et al.*, 2020; DECARO *et al.*, 2011). O CCoV-I e II também são conhecidos como coronavírus canino entérico, causadores de diarreia, contudo, desde 2012 têm sido descritos cepas de CCoV-IIa pantrópicas, com perfil mais virulento. No gênero betacoronavirus, está classificado o coronavírus respiratório canino (CRCoV).

A maioria dos estudos para classificação do CCoV têm como enfoque a análise da proteína S, que é alvo dos anticorpos neutralizantes (PINTO *et al.*, 2014; TIMURKAN *et al.*, 2020). Esta é a principal abordagem para identificar cepas pantrópicas; entretanto, no estudo realizado por Timurkan *et al.* (2020), apenas 10 das 26 amostras produziram amplificação para essa região do gene, mostrando que apenas a utilização do gene S para o diagnóstico pode resultar em falsos negativos.

A imunidade, após a exposição natural ao coronavírus canino entérico (CCoV-I), não fornece proteção completa contra a infecção com a cepa pantrópica (CCoV-IIa) (DECARO *et al.*, 2010; TIZARD, 2020). Apesar de apresentarem níveis séricos elevados de anticorpos como resultado da exposição anterior ao CCoV entérico, os cães desafiados com CCoV-IIa ainda desenvolveram vômitos e diarreia, além de uma linfopenia grave (LICITRA *et al.*, 2014).

Filhotes de cães com menos de um ano de idade, são altamente suscetíveis a infecções gastrointestinais. A diarreia aguda é uma das manifestações clínicas mais comuns, podendo levar a desidratação grave e morte (HUBBARD *et al.*, 2007; DUIJVESTIJN *et al.*, 2016). Assim como vômito, perda de apetite e letargia (BRANDÃO *et al.*, 2017).

O coronavírus canino (CCoV) é um patógeno de ampla distribuição geográfica, associado principalmente a gastroenterites em cães. Recentemente, o surgimento de cepas pantrópicas, como a CCoV-IIa, aumentou a preocupação com sua patogenicidade, especialmente devido à capacidade de causar infecções sistêmicas graves (DECARO *et al.*, 2012; PRATELLI *et al.*, 2021). A alta taxa de mutação e recombinação do CCoV, semelhante ao observado no SARS-CoV-2 (vírus da COVID-19), reforça a necessidade de vigilância contínua para prevenir surtos e identificar variantes de maior impacto (ZHANG *et al.*, 2021). Durante a pandemia de COVID-19, houve confusão na população sobre a possibilidade de transmissão entre cães e humanos, embora não haja evidências de que o CCoV infecte humanos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2021). Após o surgimento da cepa pantrópica CCoV-IIa, a mais virulenta (DECARO *et al.*, 2012), a detecção, identificação e monitoramento desses novos coronavírus se tornaram mais importantes, quando os cães são apresentados com gastroenterite grave que anteriormente teria sido atribuída a infecção por Pavorvírus canino tipo 2 (CPV- 2) (PINTO *et al.*, 2014). A incidência das coronaviroses que acometem cães são pouco estudadas no Brasil, desta forma levantar dados sobre a existência dessas patologias na região é importante, para a implantação de medidas preventivas adequadas e tratamentos apropriados.

2 Objetivos

2.1 Objetivo geral

O presente estudo teve por objetivo detectar a presença de CCoV em amostras de cães domésticos sintomáticos e não sintomáticos, no município de Pelotas (Rio Grande do Sul, Brasil).

2.2 Objetivos específicos

- Verificar presença de coronavírus canino na região e com a existência da cepa pantrópica;
- Detectar o principal sinal clínico apresentado pelos cães estudados;
- Analisar o percentual de cães com sinais gastroentéricos e que estavam infectados com o coronavírus canino.

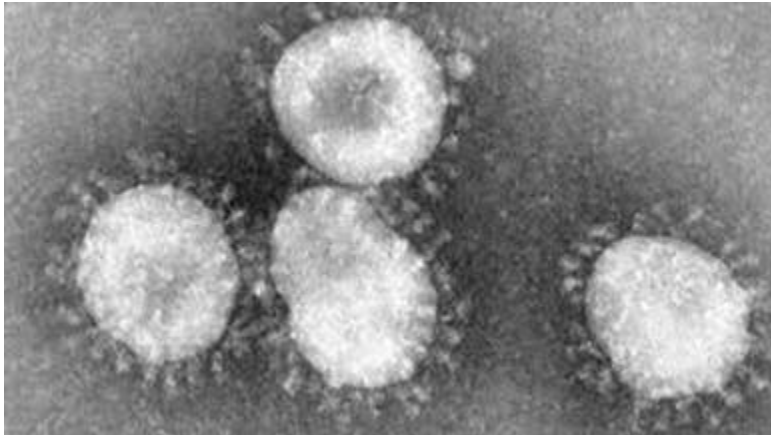
3 Revisão de Literatura

3.1 Etiologia

Os membros da família *Coronaviridae* estão divididos em 3 subfamílias, 6 gêneros, 28 subgêneros, 54 espécies (ICTV, 2021). A subfamília *Orthocoronaviridae* possui quatro gêneros: *Alphacoronavirus* (α CoV), *Betacoronavirus* (β CoV), *Gammacoronavirus* (γ CoV) e *Deltacoronavirus* (δ CoV), caracterizados por um tropismo tecidual variável e pela capacidade de atravessar facilmente as barreiras interespecies, causando doenças com diferenças notáveis (PRATELLI, 2011; PRATELLI *et al.*, 2022). É aceito que os alfa e betacoronavírus infectam apenas espécies de mamíferos, enquanto os gama e deltacoronavírus infectam espécies de aves, embora alguns deles também possam infectar mamíferos, como por exemplo, espécies de baleias e suínos) (DOMAŃSKA-BLICHARZ *et al.*, 2020).

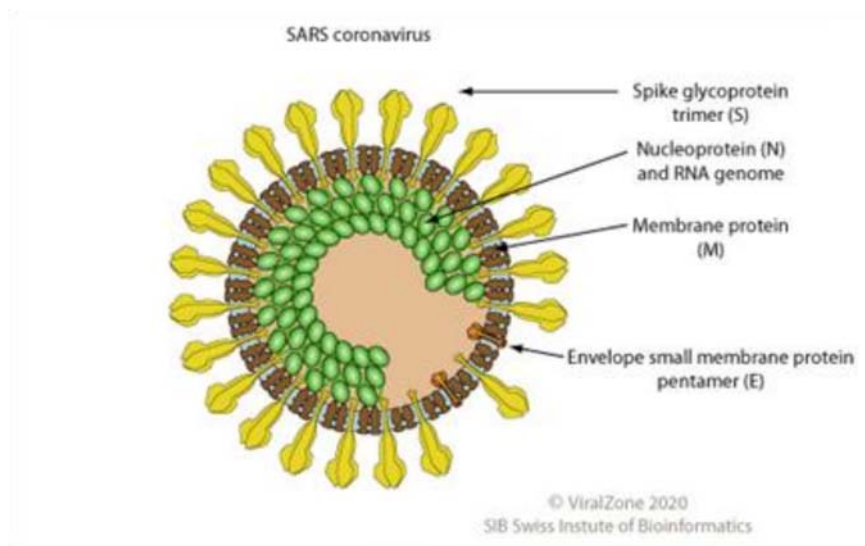
Os coronavírus possuem vírions envelopados e pleomórficos, cujo diâmetro pode variar de 80 a 120nm, apresentando um diâmetro médio de 100nm. A aparência desses vírus, quando observados sob microscopia eletrônica (ME), deu origem ao nome da família. Os vírions possuem geralmente uma forma esférica, com o envelope circundado por peplômeros ou projeções externas de aproximadamente 20nm de extensão, que conferem à partícula uma aparência similar a uma coroa (Figura 1). Essas projeções externas são formadas pelas glicoproteínas S da superfície (Figura 2) do envelope viral (BRANDÃO *et al.*, 2017).

Figura 1 - Microscopia eletrônica do CcoV



Fonte: MENEZES, M. E. (2020) (<http://surl.li/oubrjv>)

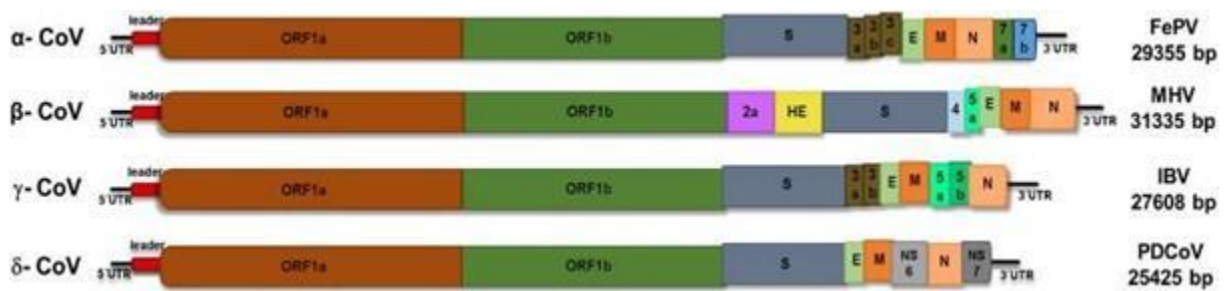
Figura 2: - Estrutura do vírion da família *Coronaviridae*.



Fonte: EXPASY© ViralZone (https://viralzone.expasy.org/764?outline=all_by_species)

O genoma dos vírus da família *Coronaviridae* é formado por uma molécula de RNA de cadeia simples e sentido positivo ((+)ssRNA), possui uma extremidade CAP 5' e uma extremidade 3' poliadenilada, em ambas as extremidades, existem regiões não traduzidas (UTRs), que desempenham papéis importantes na transcrição e replicação viral. Dependendo da espécie, existem 7 a 14 quadros de leitura aberta (ORFs) que codificam as diferentes proteínas virais, sendo que as porções correspondentes a ORF1a, 1b, S, E, M e N são conservadas entre as diferentes espécies (Figura 3) (COLINA *et al.*, 2021; MASTERS, 2006; YANG & LEIBOWITZ, 2015).

Figura 3: Estrutura genômica de espécies dos quatro gêneros de coronavírus¹



Fonte: COLINA *et al.*, 2021; MASTERS, 2006; YANG & LEIBOWITZ, 2015)

Existem dois genótipos do CCoV, denominados, CCoV tipo I (CCoV-I) e tipo II (CCoV-II), com base em diferenças nos genes M e S. Cepas recombinantes do CCoV-II foram relatadas, o que levou a uma classificação do genótipo em dois subtipos, o CCoV-IIa (tradicional) e o CCoV-IIb, recombinada com Vírus da gastroenterite transmissível (TGEV) (GREENE & DECARO, 2015). A existência de uma cepa de CCoV-IIa hipervirulenta, conhecida como CCoV pantrópico (pCCoV – CB/05), tem sido relatada desde 2005 e é capaz de se espalhar para tecidos extra-intestinais (BUONAVOGLIA *et al.*, 2006; ALFANO *et al.*, 2020).

3.2 Epidemiologia

O coronavírus canino é cosmopolita e endêmico em populações de cães, podendo estar associado a surtos esporádicos de enterite nos animais. Os cães afetados podem apresentar sinais leves a moderados de enterite. As manifestações mais frequentes são diarreia, vômito, desidratação, perda de apetite e letargia (BRANDÃO *et al.*, 2017). Historicamente, casos graves de infecção por coronavírus têm sido associados à coinfeção com cães positivos para parvovirose, mas as mortes por coronavírus canino aumentaram recentemente na ausência de coinfeção conhecida, especialmente em canis (WHITTAKER; BROWNLIE, 2017).

¹Em todos os coronavírus, os genomas (~27-33 kbp) são organizados em ORFs não estruturais 5' (ORF1a e ORF1b), que são dois terços do genoma, e ORFs estruturais e acessórios 3'. A representação dos coronavírus de importância veterinária incluem: alfacoronavírus, representados pelo vírus da peritonite infecciosa felina (FIPV) (Sequência de Referência NCBI: NC_002306.3); betacoronavírus, representados pelo vírus da hepatite murina (MHV) (Sequência de Referência NCBI: NC_048217.1); gamacoronavírus, representado pelo vírus da bronquite infecciosa aviária (IBV) (Sequência de Referência NCBI: NC_001451.1), e deltacoronavírus, representado pelo coronavírus suíno HKU15 cepa HKU15-155 (GenBank: JQ065043.2). Fonte: Colina *et al.* (2021).

No trabalho realizado por Radford *et al.* (2021), o CCoV mostrou forte sazonalidade, onde o número de testes positivos obteve pico durante os meses de inverno, na União Européia, fazendo o acompanhamento anual dos casos.

Investigações epidemiológicas revelaram que os CCoVs se espalharam pelo mundo (COSTA *et al.*, 2014; DECARO *et al.*, 2009; DECARO *et al.*, 2012; ERLES; BROWLIE, 2009,; MCELLIGOTT *et al.*, 2011; NAYLOR *et al.*, 2001; NTAFIS *et al.*, 2013; STAVISKY *et al.*, 2012). Na região central do estado do Rio Grande do Sul, Dezengrini *et al.* (2007), detectaram anticorpos contra o CCoV em 50,4% de cães não vacinados. No trabalho realizado por Castro *et al.* (2010), na cidade de Pelotas, região sul do Rio Grande do Sul, foram detectados anticorpos em 45,5% dos cães não vacinados examinados, confirmando a circulação do CCoV nessas regiões.

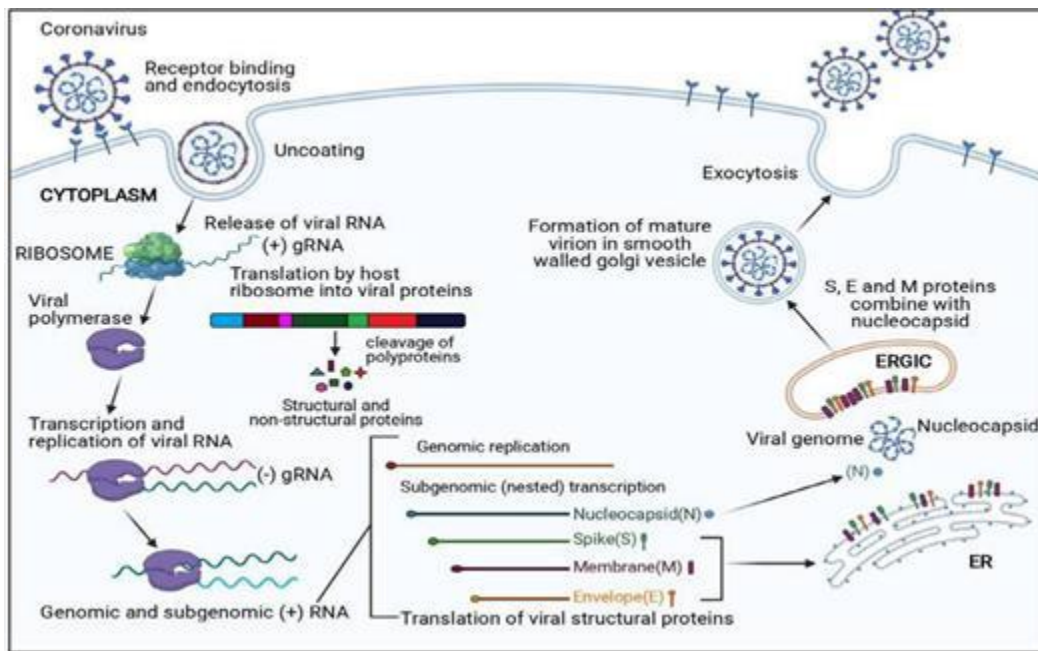
3.3 Ciclo replicativo e patogenia

Em animais naturalmente infectados, o período de incubação viral é curto, ficando entre um a quatro dias, enquanto, *in vitro* o período de incubação leva cerca de vinte e quatro à quarenta e oito horas. Em geral, é possível detectar o CCoV nas fezes de cães infectados entre 3 e aproximadamente 14 dias após a infecção (GREENE, 2015). A entrada do coronavírus na célula do hospedeiro é controlada principalmente pela glicoproteína S (*spike*), presente no envelope viral, pois ela possui capacidade de se ligar e fundir-se à membrana (MASTERS; PERLMAN, 2013; MILLET; WHITTAKER, 2015). Os receptores responsáveis por essa ligação já foram identificados para alguns coronavírus, incluindo a aminopeptidase N, enzima conversora de angiotensina e moléculas de adesão relacionadas ao antígeno carcinoembriogênico (CEACAM), mas ainda são desconhecidos para outros (BRANDÃO *et al.*, 2017).

Após a entrada do coronavírus na célula hospedeira, uma série de eventos moleculares ocorre para permitir sua replicação. Inicialmente, há a tradução do gene da replicase presente no genoma viral, o que resulta na formação de poliproteínas que são posteriormente processadas. Em seguida, ocorre a transcrição e síntese de RNA viral. Durante esse processo, as proteínas estruturais virais S (*spike*), E (envelope) e M (membrana) são sintetizadas e inseridas no retículo endoplasmático. As proteínas M e E trabalham em conjunto para formar o envelope viral. Paralelamente, a proteína N (nucleocapsídeo) liga-se ao RNA viral, sendo estabilizada pela interação com a proteína M. Essa ligação é essencial para manter

a integridade do complexo RNA-proteína. Essas interações facilitam a montagem das partículas virais na membrana do compartimento intermediário retículo endoplasmático-Golgi, dando início ao processo de brotamento. Finalmente, os vírions maduros, formados dentro de vesículas associadas à membrana, são liberados da célula hospedeira por exocitose (Figura 4) (PARKHE; VERMA, 2021).

Figura 4: Ciclo de replicação do coronavírus¹



Fonte: PARKHE; VERMA, 2021.

3.4 Sinais Clínicos

O CCoV infecta e se replica nos enterócitos apicais e laterais das vilosidades intestinais (enterócitos maduros), resultando em degeneração e/ou necrose celular caracterizada por atrofia dos enterócitos, perda da borda em escova celular e desprendimento de células necróticas para o lúmen intestinal. A degeneração e a destruição de enterócitos maduros nas pontas das vilosidades podem levar à atrofia destas, resultando clinicamente em má digestão, má absorção e diarreia (HAAKE *et al.*, 2020). O CCoV é considerado responsável pela infecção gastrointestinal em cães; mais precisamente, os filhotes jovens são mais suscetíveis (HOSSAIN *et al.*, 2022; DECARO; BUONAVOGLIA, 2008; ZAPPULLI *et al.*, 2008).

¹N, Nucleocapsídeo; S, proteína Spike; M, proteína de membrana; E, proteína de envelope; RE, retículo endoplasmático; ERGIC, compartimento intermediário do retículo endoplasmático-Golgi. Fonte: Parkhe & Verma (2021).

Normalmente, o coronavírus se replica nos enterócitos da ponta das vilosidades intestinais, e causa um grau variável de enterite e excreção de vírus por um longo período através das fezes (HOSSAIN *et al.* 2022; DECARO *et al.*, 2005; PRATELLI *et al.*, 2002).

Assim, os sinais clínicos mais comuns nos cães são letargia, anorexia, vômito, diarreia e desidratação, com duração de 1 a 2 semanas, além de alterações hematológicas como linfopenia (HOSSAIN *et al.*, 2022; DECARO; BUONAVOGLIA, 2008; ZAPPULLI *et al.*, 2008). Cepas pantrópicas de coronavírus canino também foram descritas por Whittaker e Brownlie (2017), causando doença sistêmica grave caracterizada por febre, anorexia, prostração, vômitos, diarreia, leucopenia e sinais neurológicos, incluindo ataxia e convulsões.

3.5 Diagnóstico

O diagnóstico presuntivo do CCoV pode ser obtido através da associação entre sinais clínicos e alterações laboratoriais, complementados por testes laboratoriais específicos, destacando-se a RT-PCR. A leucopenia é uma das alterações mais frequentes, com redução significativa do número de leucócitos, especialmente linfócitos, um indicativo de comprometimento do sistema imunológico (PARKHE *et al.*, 2021). Além disso, alterações no perfil bioquímico são comuns, com destaque para hipoglicemia, que pode ocorrer devido à disfunção hepática ou à resposta inflamatória sistêmica. Também são frequentemente observadas elevações nas enzimas hepáticas, como ALT (alanina aminotransferase) e AST (aspartato aminotransferase), indicando possível envolvimento do fígado na infecção viral (LI *et al.*, 2020). Outras anomalias incluem alterações no perfil proteico, com redução de proteínas totais, refletindo a resposta inflamatória crônica, e alterações nos eletrólitos séricos, como hiponatremia, em casos mais graves (SMITH *et al.*, 2022). Foi desenvolvido um ensaio de RT-PCR altamente sensível para a detecção do CCoV em amostras fecais. A PCR quantitativa com detecção fluorogênica possibilitou a detecção precisa da cepa viral, a quantificação do vírus e a rápida discriminação entre os genótipos do CCoV (GREENE; DECARO, 2015).

A pesquisa de anticorpos tem utilidade limitada no diagnóstico, por dois fatores principais: a) o coronavírus é amplamente disseminado na população canina, e a infecção frequentemente é subclínica; e b) a presença de anticorpos no soro

nem sempre indica exposição recente ao vírus. A sorologia pareada poderia ser útil, demonstrando soroconversão. Para a detecção de anticorpos no soro, são utilizadas técnicas como soroneutralização, imunoperoxidase e ELISA. Kits comerciais de imunoquimioluminescência estão disponíveis para uso em clínicas e consultórios, sendo que a presença de anticorpos no soro pode indicar infecção recente pelo CCoV (BRANDÃO *et al.*, 2017).

3.6 Profilaxia e Controle

Segundo Tizard (2020), a vacinação de cães contra o coronavírus canino (CCoV) permanece um tema controverso. Apesar da disponibilidade de vacinas vivas inativadas e modificadas contra o vírus do grupo 1, seu uso é frequentemente questionado, visto que a infecção por CCoV geralmente causa apenas uma gastroenterite leve, autolimitada ou assintomática, caracterizada por anorexia, febre e diarreia. Essa condição afeta principalmente filhotes com menos de seis semanas de idade e na maioria dos casos é autolimitante. Além disso, o momento da vacinação, geralmente ocorre entre seis e doze semanas de idade, coincide com a interferência dos anticorpos maternos, o que pode limitar a eficácia protetiva da vacina nesse período crítico (DECARO; BUONAVOGLIA, 2021).

Embora a vacinação não seja amplamente recomendada para o CCoV, ela pode ser considerada em situações de alto risco, como em ambientes com alta densidade populacional, onde a transmissão horizontal do vírus é mais provável, como canis, abrigos e locais de reprodução (DAY *et al.*, 2016). As vacinas disponíveis podem reduzir a gravidade clínica e a excreção viral, mas sua capacidade de prevenir completamente a infecção é limitada. O foco principal deve ser a adoção de estratégias abrangentes de controle de infecção e manejo ambiental.

O controle eficaz do CCoV inclui a separar os animais infectados para evitar a disseminação do vírus, que é altamente contagioso, especialmente via contato fecal-oral. O manejo adequado inclui o isolamento de filhotes recém-introduzidos ou doentes e a limitação de contato direto com cães não infectados. Além disso, a limpeza rigorosa e a desinfecção do ambiente com produtos eficazes contra vírus envelopados, como soluções à base de hipoclorito de sódio, amônia quaternária ou

compostos fenólicos, são essenciais para reduzir a carga viral no ambiente (GORMAN; MACKAY, 2020).

Por fim, a manutenção de práticas adequadas de biossegurança, incluindo o controle de visitas e o monitoramento regular dos cães em ambientes com densidade populacional elevada, são fundamentais para minimizar a propagação do CCoV. Embora o uso de vacinas possa oferecer proteção parcial em situações específicas, o controle ambiental e a gestão adequada são ferramentas indispensáveis para prevenir surtos e limitar a transmissão do coronavírus canino.

4 Artigo

Detecção molecular de coronavírus canino em cães no município de Pelotas – RS

Winnie Oliveira dos Santos, Ana Carolina de Assis Scariot, Geferson Fischer,
Marcelo de Lima, Sílvia de Oliveira Hübner
Submetido à revista Ciência Animal Brasileira

Avaliação da frequência de coronavírus canino em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil

Assessment of the frequency of canine coronavirus in Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil

Resumo: O coronavírus canino (CCoV) é um vírus que afeta principalmente o sistema gastrointestinal de cães. A severidade dos sintomas pode variar de leve a grave, dependendo da idade dos cães, condição geral de saúde, e a presença de infecções concomitantes. Filhotes e cães com sistema imune comprometido são mais suscetíveis a complicações. O objetivo deste estudo foi avaliar a frequência de ocorrência de CCoV na cidade de Pelotas, em cães com doença gastrointestinal e sem histórico de vacinação. O estudo analisou um total de 58 amostras (53 *swabs* retais e 5 órgãos) de 54 animais, dos quais, 96,3% apresentavam sinais gastrointestinais (desconforto abdominal, anorexia, vômito, diarreia e/ou melena). Por *semi-nested* PCR tendo com alvo região do gene M que detecta de todos os genótipos de CCoV, 11,1% (6/54) dos cães foram positivos para coronavírus. A frequência observada é considerada moderada e destaca a importância do CCoV como um patógeno entérico em cães da região do estudo.

Palavras-chave: CCoV; ocorrência; diagnóstico; *semi-nested* PCR.

Abstract: Canine coronavirus (CCoV) is a virus that primarily affects the gastrointestinal system of dogs. The severity of symptoms can vary from mild to severe, depending on the dog's age, general health, and the presence of other concurrent infections. Puppies and dogs with compromised immune systems are more susceptible to complications. The aim of this study was to evaluate the frequency in which CCoV occurs in the city of Pelotas, in dogs with gastrointestinal clinical signs and unvaccinated. The study analyzed a total of 58 samples (53 rectal swabs and 5 organs) from 54 animals, in which 96,3 % had gastroenteric signs (abdominal discomfort, anorexia, vomiting, diarrhea and/or melena). By semi nested PCR targeted to detect the M gene region of all CCoV genotypes, 11,1% (6/54) of dogs tested positive for coronavirus. The observed frequency is moderate and highlights the importance of CCoV as an enteric pathogen in dogs in the study region.

Key-words: CCoV; occurrence; diagnosis; semi-nested PCR.

1. Introdução

CCoV é considerado um patógeno comum em cães, atraindo grande preocupação entre veterinários e tutores. CCoV são envelopados, com RNA de fita simples e sentido positivo, classificados na família *Coronaviridae*. Desde a descoberta em 1971 ⁽¹⁾, o CCoV é descrito associado ao desenvolvimento de sinais clínicos entéricos leves e autolimitantes, geralmente em cães com menos de 12 semanas de idade ⁽²⁻⁴⁾. Contudo, infecções simultâneas, especialmente com parvovírus canino tipo 2 (CPV2), aumentam a severidade dos sinais clínicos observados ⁽⁵⁾. Além disso, a partir de 2005, tem sido relatados casos de infecções por CCoV pantrópicos, associados a doença sistêmica e de alta letalidade ⁽⁶⁻⁸⁾.

Em Pelotas, a circulação de CCoV foi relatada anteriormente através de um estudo sorológico, em que foi pesquisado a presença de anticorpos específicos ⁽⁹⁾. Contudo, dados sobre a frequência da ocorrência de CCoV e sua associação com doenças entéricas na região

são desconhecidos. Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar a frequência de ocorrência de CCoV em cães com sinais clínicos gastrointestinais em Pelotas, Rio Grande do Sul.

2. Material e métodos

2.1 Desenho experimental e amostras

Swab retal e/ou órgãos provenientes de 54 cães foram coletadas no Hospital de Clínicas Veterinárias - UFPel e em seis clínicas privadas, no município de Pelotas, RS, entre agosto de 2019 e janeiro de 2022. Foi dada prioridade à coleta de amostras de cães que apresentavam sintomas gastrointestinais, como vômito, diarreia e/ou melena. Foi inferido que o cães do estudo não foram vacinados, embora informações sobre o histórico de vacinação eventualmente não estivesse disponível. As amostras foram examinadas para CCoV por semi-nested PCR e, sempre que possível, *swabs* fecais de cães com diarreia foram testados para detecção de antígeno do parvovírus canino (CPV) usando um kit de imunocromatografia rápida (IC), seguindo as instruções do fabricante (Alere Parvovirus Ag Test, Abbott Laboratories LTDA).

2.2 Coleta

Foram disponibilizados aos locais de atendimento clínico, tubos coletores contendo 0,5 ml de *RNAlater™ Stabilization Solution* da *ThermoFisher Scientific™*, juntamente com *swab* estéril, para coleta de amostras de fezes a partir da mucosa retal. As amostras foram acondicionadas refrigeradas por até 24 horas e então conduzidas ao Laboratório de Virologia - UFPel onde foram mantidas a -80 °C até a análise. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) sob registro de número 10790-2020.

2.3 Isolamento de RNA e transcrição reversa

A extração de RNA foi realizada utilizando o kit “BioGene extração DNA/RNA viral” (Bioclin, EUA), conforme as instruções fornecidas pelo fabricante, sendo as amostras provenientes de órgãos, maceradas previamente em nitrogênio líquido. cDNA foi sintetizado com *Hight-Capacity cDNA Reverse Transcription Kit* (Applied Biosystems™, EUA), conforme as instruções fornecidas pelo fabricante.

2.4 Semi-nested PCR

As amostras de cDNAs obtidas foram submetidas a uma *semi-nested* PCR, utilizando primers descritos por Pratelli et al. ⁽¹⁰⁾, os quais permitem a detecção de um amplo espectro de coronavírus. A sequência alvo para amplificação foi um segmento do gene que codifica para a proteína de transmembrana denominada M, uma das regiões mais conservadas nos ciclos replicativos. Foram utilizados os seguintes primers: CCV1: *forward* 5'-TCC AGA TAT GTA ATG TTC GG-3'; CCV2: *reverse* 5'-TCT GTT GAG TAA TCA CCA GCT-3' e CCV3: 5'-GGT GTC ACT CTA ACA TTG CTT-3', sendo o CCV1 e o CCV2 utilizados no primeiro *round* (produto esperado de 410 pb) e o CCV2 e CCV3 utilizados no segundo *round* (produto esperado de 212 pb). O volume total da reação de PCR foi 25 µL, destes 12,5 µL foram GoTaq® Colorless Master Mix (Promega - Fitchburg, EUA), 10mM em 1µL de cada primer, 3 µL de amostra e 7,5µL de água livre de DNase/RNase. Água livre de RNase foi usada como controle negativo e isolado de CCoV que estava armazenado no (NOME) foi utilizado como controle positivo. As condições de termociclagem utilizadas para amplificação foram: 94°C por 5 minutos, 40 ciclos de 94°C, 56°C e 72°C por 45, 30 e 45 segundos, respectivamente, e extensão final a 72°C por 7 minutos. Os produtos de amplificação foram analisados após eletroforese em gel de agarose a 1,5%, coloração com brometo de etídio e visualização sob luz UV, na presença de um marcador de 100 pb. Os produtos de amostras positivas foram purificados usando GFX® PCR DNA e Gel Band Purification Kit (Cytiva, EUA) e submetidos para sequenciamento de DNA. As amostras positivas foram confirmadas como sendo CCoV (dados não mostrados).

3. Resultados e discussão

Dos cães avaliados para a presença de CCoV neste estudo, 96,3 % apresentavam sinais clínicos gastrointestinais, sendo que 57,4% (31/54) apresentavam desconforto abdominal, 20,3% (11/54) anorexia, 48,1% (26/54) vômito, 90,7% (49/54) diarreia, e 7,4% (4/54) apresentavam melena. A maioria dos cães amostrados tinham entre 2 e 8 meses (78%), mas a idade amostrada variou entre 2 e 60 meses. Dos 54 cães, 2 eram filhotes e estavam clinicamente saudáveis (controles negativos). Das amostras, 91,4% (53/58) foram *swab* retal, e as demais (8,6%) foram órgãos coletados por necropsia (5/58), sendo 2 amostras de intestino delgado, uma de coração, uma de pulmão, e uma amostra de intestino grosso.

Dos 54 cães analisados, 6 foram positivos na semi-nested PCR (11,1%), provenientes de 6 amostras de *swab* fecal e 1 amostra de intestino delgado. Os cães positivos apresentavam idade entre 3 e 6 meses e todos apresentavam diarreia. As amostras positivas do presente

estudo não foram genotipadas. Genotipicamente, o CCoV é agrupado em CCoV-I e CCoV-II, conforme diferenças na proteína de membrana (M) e proteína *spike* (S) do envelope viral. O CCoV II está relacionado a doença sistêmica, além de enterite ^(3,11,12).

Embora não fosse o objetivo principal deste estudo, algumas amostras (14/54) também foram analisadas para a presença de CPV. Todos os cães que foram avaliados para CPV apresentaram reação positiva no teste IC. Infecções por CCoV associadas com CPV tem sido registradas^(14,15), com estudos no Brasil mostrando significativas taxas de ambos ^(15,16). Embora co-infecções de CCoV com CPV possuam a tendência a resultar em maior gravidade clínica, é também importante reconhecer que infecção somente com CCoV pode causar significativa mortalidade ⁽¹³⁾. No presente estudo, infecção por CCoV e concomitante detecção de CPV foi observada somente em um cão. O cão apresentava vômito e melena e rapidamente veio a óbito. Após necropsia, os achados macroscópicos e histopatológicos observados foram consistentes com os anteriormente descritos ⁽¹⁶⁾. Macroscopicamente, observou-se serosa intestinal com áreas congestionadas, mucosa do intestino delgado avermelhada e congesta, mucosa gástrica amarelada com ulcerações e conteúdo intestinal líquido. No exame histológico, identificou-se necrose e degeneração das células epiteliais das criptas intestinais, presença de células sinciciais, contaminação bacteriana secundária, infiltrado inflamatório e hemácias no tecido intestinal.

A frequência de ocorrência de CCoV na população canina pode variar dependendo de vários fatores, como região geográfica, condições de saúde na população estudada (cães com diarreia vs. assintomáticos), condições sanitárias, métodos diagnósticos utilizados, circulação de diferentes cepas e densidade populacional. Os estudos epidemiológicos indicam que a ocorrência de CCoV pode ser mais alta em locais com grande concentração de cães, como abrigos, canis e áreas urbanas densamente povoadas. No Brasil, é estimado que a população canina seja aproximadamente 20% a 25% da população humana, dependendo da região e das condições socioeconômicas, segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Contudo, um estudo local realizado mostrou que há um cão domiciliado para cada dois habitantes em Pelotas, superando a média nacional de um para cada quatro habitantes ou de um para cada sete habitantes em média, na Europa ⁽¹⁷⁻¹⁹⁾. Além disso, pesquisas realizadas pelo Centro de Pesquisas Epidemiológicas da Faculdade de Medicina da UFPel apontam ainda que aproximadamente 70% dos cães de Pelotas são sem-domiciliados, ou seja, com tutores e com circulação livre pelas ruas; 10% são animais sem tutor e somente 20% completamente domiciliados. *É amplamente conhecido que um considerável número de cães errantes e semidomiciliados resulta em condições propícias à disseminação de patógenos*

causadores de doenças que afetam a sua espécie, ou mesmo zoonoses. Nesse sentido, na presente investigação havia uma expectativa de encontrar um maior número de cães com CCoV do que o encontrado. Ainda assim, a prevalência observada é considerada moderada e destaca a importância do CCoV como um patógeno entérico em cães da região do estudo ⁽²⁰⁾.

Em um estudo abrangendo mais estados brasileiros, Alves et al. ⁽¹⁵⁾ detectaram uma maior frequência de ocorrência de CCoV (30.4%), demonstrando ser o CCoV um patógeno relevante em diferentes regiões do Brasil. Evidência da presença de CCoV já havia sido relatada em um estudo sorológico realizado na região de Pelotas, onde a presença de anticorpos neutralizantes contra CCoV estavam presentes em 33% dos cães sem sintomatologia clínica amostrados ⁽⁹⁾. Uma menor prevalência de CCoV é geralmente descrita em países com baixa densidade populacional canina, possivelmente associada à menor interação entre os animais e boas práticas sanitárias. No Reino Unido, por exemplo, em um estudo transversal com 249 amostras de fezes obtidas de cães presentes por razões variadas em clínicas veterinárias, somente 7 cães foram positivos, uma prevalência de 2,8% ⁽²¹⁾.

A prevalência de CCoV pode ser reduzida com a adoção de determinadas medidas. Segundo as Diretrizes da World Small Animal Veterinary Association (WSAVA) e a American Animal Hospital Association (AAHA), não é recomendado realizar vacinação contra o CCoV, devido a insuficientes evidências de que as vacinas forneçam adequada proteção ⁽²²⁾. Contudo, a vacinação pode ser utilizada em situações específicas e de alto risco, como em abrigos ou criadouros, e local com histórico de surtos. Assim, a redução da prevalência de CCoV requer que várias estratégias sejam implementadas, com foco em práticas rigorosas de higiene ambiental, utilização de desinfetantes eficazes ⁽²⁴⁾, minimização da superlotação, isolamento de cães infectados, tratamento adequado e práticas de monitoramento. Em ambientes de alto risco, a implementação rigorosa dessas medidas é essencial para reduzir a transmissão e o impacto do vírus.

5. Conclusão

Os resultados permitem concluir que o CCoV está presente na população canina de Pelotas, RS e deve ser incluso como parte do diagnóstico diferencial de gastroenterites, permitindo uma abordagem mais assertiva para a implementação de medidas preventivas e terapêuticas adequadas.

Material suplementar

Tabela S1 – Cães analisados, caracterizados por sexo, idade, sinais clínicos e resultados obtidos para coronavírus canino (CCoV) e parvovírus canino (CPV).

Declaração de conflito de interesse

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

Referências

1. Pratelli A. The Evolutionary Processes of Canine Coronaviruses. *Advances in Virology*. 2011;2011:1–10. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2011/562831>
2. Pollock RVH, Carmichael LE. Canine Viral Enteritis. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 1983 Aug;13(3):551–66. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0195-5616\(83\)50059-4](https://doi.org/10.1016/S0195-5616(83)50059-4)
3. Licitra B, Duhamel G, Whittaker G. Canine Enteric Coronaviruses: Emerging Viral Pathogens with Distinct Recombinant Spike Proteins. *Viruses*. 2014 Aug 22;6(8):3363–76. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v6083363>
4. Hossain ME, Islam A, Islam S, Rahman MK, Miah M, Alam MS, Rahman MZL. Detection and Molecular Characterization of Canine Alphacoronavirus in Free-Roaming Dogs, Bangladesh. *Viruses*. 2021 Dec 30;14(1):67. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v14010067>
5. Yasoshima A, Fujinami F, Doi K, Kojima A, Takada H, Okaniwa A. Case Report on Mixed Infection of Canine Parvovirus and Canine Coronavirus - Electron Microscopy and Recovery of Canine Coronavirus. *Japan Journal Veterinary Science*. 1983; 45(2):217–225. Disponível em: <https://doi.org/10.1292/jvms1939.45.21>
6. Buonavoglia C, Decaro N, Martella V, Elia G, Campolo M, Desario C, Castagnaro M, Tempesta M. Canine Coronavirus Highly Pathogenic for Dogs. *Emerg Infect Dis*. 2006 Mar;12(3):492–4. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid1203.050839>
7. Decaro N, Mari V, Elia G, Addie DD, Camero M, Lucente MS, Martella V, Buonavoglia C. Recombinant Canine Coronaviruses in Dogs, Europe. *Emerg Infect Dis*. 2010 Jan;16(1):41–7. Disponível em: <https://doi.org/10.3201/eid1601.090726>
8. Pratelli A, Buonavoglia A, Lanave G, Tempesta M, Camero M, Martella V, Decaro N. One world, one health, one virology of the mysterious labyrinth of coronaviruses: the canine coronavirus affair. *The Lancet Microbe*. 2021 Dec;2(12):e646–7. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(21\)00282-2](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(21)00282-2)
9. Castro CCD, Johann JM, Finger PF, Nunes CF, Vargas GD, Fischer G, Hübner SO. Canine coronavirus (CCoV) in dogs vaccinated and unvaccinated domiciliated in Pelotas, RS, Brazil. *Sem Ci Agr*. 2010 Dec 20;31(4):995. Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2010v31n4p995>

10. Pratelli A, Tempesta M, Greco G, Martella V, Buonavoglia C. Development of a nested PCR assay for the detection of canine coronavirus. *Journal of Virological Methods*. 1999 Jun;80(1):11–5. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0166-0934\(99\)00017-8](https://doi.org/10.1016/S0166-0934(99)00017-8)
11. Decaro N, Mari V, Campolo M, Lorusso A, Camero M, Elia G, Martella V, Cordioli P, Enjuanes L, Buonavoglia C. Recombinant Canine Coronaviruses Related to Transmissible Gastroenteritis Virus of Swine Are Circulating in Dogs. *J Virol*. 2009 Feb;83(3):1532–7. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JVI.01937-08>
12. Pratelli A, Tempesta M, Elia G, Martella V, Decaro N, Buonavoglia C. The knotty biology of canine coronavirus: A worrying model of coronaviruses' danger. *Research in Veterinary Science*. 2022 May;144:190–5. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2021.11.014>
13. Evermann JF, Abbott JR, Han S. Canine Coronavirus-Associated Puppy Mortality without Evidence of Concurrent Canine Parvovirus Infection. *J VET Diagn Invest*. 2005 Nov;17(6):610–4. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/104063870501700618>
14. Duijvestijn M, Mughini-Gras L, Schuurman N, Schijf W, Wagenaar JA, Egberink H. Enteropathogen infections in canine puppies: (Co-)occurrence, clinical relevance and risk factors. *Veterinary Microbiology*. 2016 Nov;195:115–22. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.09.006>
15. Alves CDBT, Granados OFO, Budaszewski RDF, Streck AF, Weber MN, Cibulski SP, Pinto LD, Ikuta N, Canal CW. Identification of enteric viruses circulating in a dog population with low vaccine coverage. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2018 Oct;49(4):790–4. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.02.006>
16. Pinto LD, Barros IN, Budaszewski RF, Weber MN, Mata H, Antunes JR, Boabaid FM, Wouters ATB, Driemeier D, Brandão PE, Canal CW. Characterization of pantropic canine coronavirus from Brazil. *The Veterinary Journal*. 2014 Dec;202(3):659–62. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.09.006>
17. Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação (ABINPET). ABINPET: Indústria de pets no Brasil. Brasil: ABINPET; [citado 2025 Abr 07]. Disponível em: <https://abinpet.org.br/>
18. European Pet Food Industry Federation (FEDIAF). FEDIAF - The European Pet Food Industry Federation [Internet]. Bruxelas: FEDIAF; [Citado 2025 Abr 07]. Disponível em: <https://www.fediaf.org>
19. Domingues LR, Cesar JA, Fassa AG, Domingues MR. Guarda responsável de animais de estimação na área urbana do município de Pelotas, RS, Brasil. *Ciência coletiva*. 2015 Jan;20(1):185–92. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1413-81232014201.19632013>
20. Kaster GF, Madrid IM; Souza Neto FM. Ações de controle populacional canino e felino no município de Pelotas, estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista e Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP*. 2017 Jan; 15(1):77-78. Disponível em: <https://www.revistamvez-crmvsp.com.br/index.php/recmvz/article/view/36816>

21. Stavisky J, Pinchbeck GL, German AJ, Dawson S, Gaskell RM, Ryvar R, Radford AD. Prevalence of canine enteric coronavirus in a cross-sectional survey of dogs presenting at veterinary practices. *Veterinary Microbiology*. 2010 Jan;140(1–2):18–24. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.07.012>

22. Squires RA, Crawford C, Marcondes M, Whitley N. 2024 guidelines for the vaccination of dogs and cats – compiled by the Vaccination Guidelines Group (VGG) of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA). *J of Small Animal Practice*. 2024 May;65(5):277–316. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jsap.13718>

Título das tabelas

Tabela 1 - Amostras caracterizadas por sexo, idade, sinais clínicos e resultados obtidos para coronavírus canino (CCoV) e parvovírus canino (CPV).

Tabela S1 – Cães analisados, caracterizados por sexo, idade, sinais clínicos e resultados obtidos para coronavírus canino (CCoV) e parvovírus canino (CPV)

Cão	Sexo	Idade	Sinais clínicos	CCoV	CPV
1	Fêmea	36 m	Desconforto abdominal, diarreia	-	nt
2	Macho	4 m	Desconforto abdominal, vômito, diarreia	-	nt
3	Macho	6 m	Desconforto abdominal, diarreia	-	nt
4	Fêmea	4 m	Desconforto abdominal, febre, diarreia	-	nt
5	Fêmea	8 m	Diarreia e melena	-	nt
6	Fêmea	6 m	Vômito, diarreia	-	nt
7	Macho	4 m	Desconforto abdominal e diarreia	-	nt
8	Fêmea	5 m	Vômito, diarreia, melena	-	+
9	Macho	7 m	Desconforto abdominal, anorexia vômito, diarreia	-	+
10	Fêmea	2 m	Sem sinais clínicos	-	nt
11	Macho	3 m	Vômito e diarreia	-	nt
12	Fêmea	4 m	Sem sinais clínicos	-	nt
13	Fêmea	4 m	Desconforto abdominal, anorexia vômito, diarreia	-	+
14	Fêmea	6 m	Diarreia e desconforto abdominal	-	nt
15	Fêmea	10 m	Vômito, diarreia e anorexia	-	nt
16	Macho	4 m	Desconforto abdominal, febre e diarreia	-	nt
17	Macho	8 m	Diarreia, melena e desconforto abdominal	-	nt
18	Macho	3 m	Vômito, desconforto abdominal, anorexia	-	nt

19	Fêmea	5 m	Desconforto abdominal, diarreia	-	nt
20	Fêmea	4 m	Desconforto abdominal, diarreia	-	nt
21	Fêmea	11 m	Vômito e diarreia	-	nt
22	Fêmea	4 m	Desconforto abdominal, diarreia	-	nt
23	Fêmea	3 m	Anorexia e diarreia	-	nt
24	Fêmea	7 m	Desconforto abdominal, diarreia	-	nt
25	Fêmea	3 m	Desconforto abdominal, vômito, diarreia	-	+
26	Macho	3 m	Desconforto abdominal, vômito, diarreia	+	+
27	Macho	6 m	Desconforto abdominal, vômito, diarreia	-	+
28	Fêmea	8 m	Desconforto abdominal, febre, diarreia	-	nt
29	Macho	4 m	Desconforto abdominal, diarreia	-	+
30	Macho	2 m	Desconforto abdominal, vômito, diarreia	-	+
31	Macho	2 m	Desconforto abdominal, vômito, diarreia	-	+
32	Macho	3 m	Desconforto abdominal, vômito, diarreia	-	+
33	Fêmea	6 m	Desconforto abdominal, anorexia, diarreia	+	nt
34	Macho	3 m	Desconforto abdominal, vômito, diarreia	+	nt
35	Macho	3 m	Desconforto abdominal, anorexia, vômito, diarreia	-	+
36	Fêmea	2 m	Desconforto abdominal, anorexia, vômito, diarreia	-	+
37	Macho	5 m	Desnutrição, anorexia, verminose, diarreia melena	-	nt
38	Macho	3 m	Desconforto abdominal, anorexia, vômito, diarreia	+	nt
39	Fêmea	3 m	Desconforto abdominal, anorexia, vômito, diarreia	-	+
40	Macho	4 m	Diarreia	-	nt
41	Fêmea	3 m	Anorexia, vômito, diarreia	-	nt
42	Fêmea	60 m	Vômito e diarreia	-	nt
43	Macho	48 m	Anorexia, vômito, diarreia	-	Nt
44	Macho	60 m	Diarreia	-	Nt
45	Fêmea	24 m	Diarreia	-	Nt
46	Macho	6 m	Desconforto abdominal, vômito, diarreia	-	Nt

47	Macho	3 m	Diarreia	-	+
48	Fêmea	3 m	Diarreia	-	Nt
49	Macho	12 m	Diarreia	+	Nt
50	Fêmea	3 m	Vômito, diarreia	-	Nt
51	Fêmea	60 m	Vômito, diarreia	-	Nt
52	Fêmea	48 m	Vômito	+	Nt
53	Macho	96 m	Desconforto abdominal	-	Nt
54	Macho	60 m	Diarreia	-	Nt

m: meses; nt: não testado; +: positivo; -: negativo.

5 Considerações Finais

A partir dos resultados obtidos nessa dissertação, após pesquisa realizada, conseguimos concluir que:

- Diarreia foi o principal sinal clínico observado em cães infectados, seguido por vômito e letargia, especialmente em filhotes, que são mais suscetíveis a complicações graves.
- Foram encontradas evidências que sugerem a possível circulação de cepas pantrópicas (CCoV-IIa), reforçando a necessidade de vigilância contínua para identificar variantes de maior patogenicidade.
- No período analisado somente 13% dos cães com sinais gastroentéricos (7/53) estavam infectados com o coronavírus canino.

Os resultados destacam a necessidade de medidas preventivas, como vacinação e diagnóstico precoce, além de reforçar a importância de estudos regionais para monitorar a evolução do vírus e suas variantes.

Referências

ALFANO, F.; FUSCO, G.; MARI, V.; OCCHIOGROSSO, L.; MILETTI, G.; RUNETTI, R.; GALIERO, G.; DESARIO, C. C.; CIRILLI, M.; DECARO, N. Circulation of antropic canine coronavirus in autochthonous and imported dogs, Italy. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 65, n. 5, p. 1-9, 12 mar. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/tbed.13542>. Acesso em: 10 out. 2023.

BINN, L. N.; LAZAR, E. C.; KEENAN, K. P.; HUXSOLL, D. L.; MARCHWICKI, R. H.; STRANO, A. J. Recovery and characterization of a coronavirus from military dogs with diarrhea. **Proceedings, Annual Meeting of the United States Animal Health Association**, v. 78, p. 359-366, 1974.

BRANDÃO, P. E. et al. Coronaviridae. In: FLORES, E. F. (Org.). **Virologia Veterinária: virologia geral e doenças víricas**. 3. ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2017. Cap. 25. p. 738-765.

BUONAVOGLIA, C.; DECARO, N.; MARTELLA, V.; ELIA, G.; CAMPOLO, M.; DESARIO, C.; CASTAGNARO, M.; TEMPESTA, M. Canine coronavirus highly pathogenic for dogs. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 3, p. 492-494, mar. 2006. Disponível em: https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/12/3/05-1499_article. Acesso em: 10 out. 2023.

CASTRO, C. C.; JOHANN, J. M.; FINGER, P. F.; NUNES, C. F.; VARGAS, G.; FISCHER, G.; HÜBNER, S. de O. Canine coronavirus (CCoV) in dogs vaccinated and unvaccinated domiciliated in Pelotas, RS, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 4, p. 995-1000, out. 2010. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/2008/6697>. Acesso em: 7 mar. 2022.

COLINA, S. E.; SERENA, M. S.; ECHEVERRÍA, M. G.; METZ, G. E. Clinical and molecular aspects of veterinary coronaviruses. **Virus Research**, v. 297, p. 1-15, maio 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2021.198382>. Acesso em: 10 out. 2023.

COSTA, E. M.; CASTRO, T. X. de; BOTTINO, F. de O.; GARCIA, R. de C. N. C. Molecular characterization of canine coronavirus strains circulating in Brazil. **Veterinary Microbiology**, v. 168, n. 1, p. 8-15, jan. 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.10.002>. Acesso em: 10 out. 2023.

DAY, M. J.; HORZINEK, M. C.; SCHULTZ, R. D.; SNAPE, M. D. Guidelines for the vaccination of dogs and cats. **Journal of Small Animal Practice**, v. 57, p. 1-45, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jsap.12468>. Acesso em: 10 out. 2023.

DECARO, N.; MARTELLA, V.; RICCI, D.; ELIA, G.; DESARIO, C.; CAMPOLO, M.; CAVALIERE, N.; TRANI, L. di; TEMPESTA, M.; BUONAVOGLIA, C. Genotype-

specific fluorogenic RT-PCR assays for the detection and quantitation of canine coronavirus type I and type II RNA in faecal samples of dogs. **Journal of Virological Methods**, v. 130, n. 1-2, p. 72-78, dez. 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2005.06.005>. Acesso em: 10 out. 2023.

DECARO, N.; BUONAVOGLIA, C. An update on canine coronaviruses: viral evolution and pathobiology. **Veterinary Microbiology**, v. 132, n. 3-4, p. 221-234, dez. 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.06.008>. Acesso em: 10 out. 2023.

DECARO, N.; BUONAVOGLIA, C.; MARTELLA, V.; ELIA, G.; CAMPAGNOLI, F.; DESARIO, C.; CIRONE, F. Recombinant canine coronaviruses related to transmissible gastroenteritis virus of swine are circulating in dogs. **Journal of Virology**, v. 83, n. 3, p. 1532-1537, fev. 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1128/JVI.01937-08>. Acesso em: 10 out. 2023.

DECARO, N.; BUONAVOGLIA, C.; TEMPESTA, M.; LUCENTE, M. S.; CIRONE, F.; ELIA, G.; MARTELLA, V.; BUONAVOGLIA, A. Immunity after natural exposure to enteric canine coronavirus does not provide complete protection against infection with the new pantropic CB/05 strain. **Vaccine**, v. 28, n. 3, p. 724-729, jan. 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2009.10.077>. Acesso em: 10 out. 2023.

DECARO, N.; MARI, V.; VON REITZENSTEIN, M.; LUCENTE, M. S.; CIRONE, F.; ELIA, G.; MARTELLA, V.; KING, V. L.; DI BELLO, A.; VARELLO, K. A pantropic canine coronavirus genetically related to the prototype isolate CB/05. **Veterinary Microbiology**, v. 159, n. 1-2, p. 239-244, set. 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.03.039>. Acesso em: 10 out. 2023.

DECARO, N.; BUONAVOGLIA, C. Canine coronavirus: not only an enteric pathogen. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 51, n. 4, p. 799-814, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2021.01.009>. Acesso em: 10 out. 2023.

DEZENGRINI, R.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Soroprevalência das infecções por parvovírus, adenovírus, coronavírus canino e pelo vírus da cinomose em cães de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 37, n. 1, p. 183-189, fev. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782007000100029>. Acesso em: 10 out. 2023.

DOMAŃSKA-BLICHAŁ, K.; KLICHOWSKA, D.; LEMAŃCZYK, G. Animal coronaviruses in the light of COVID-19. **Journal of Veterinary Research**, v. 64, n. 3, p. 333-345, 2 ago. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2478/jvetres-2020-0050>. Acesso em: 10 out. 2023.

DUIJVESTIJN, M.; MUGHINI-GRAS, L.; SCHUURMAN, N.; SCHIJF, W.; WAGENAAR, J. A.; EGBERINK, H. Enteropathogen infections in canine puppies: co-occurrence, clinical relevance and risk factors. **Veterinary Microbiology**, v. 195, p. 115-122, nov. 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.09.006>. Acesso em: 10 out. 2023.

ERLES, K.; TOSETH, R.; BROWN, L.; HELLARD, E.; WILLIAMS, N.; WILLIS, J. R.; RADFORD, A. D. Sequence analysis of divergent canine coronavirus strains present in a UK dog population. **Virus Research**, Amsterdam, v. 141, n. 1, p. 21-25, abr. 2009.

EXPASY. Coronaviridae. **ViralZone**. Disponível em: https://viralzone.expasy.org/764?outline=all_by_species. Acesso em: 25 mar. 2022.

GARCIA, R. C. N. C. Molecular characterization of canine coronavirus. **Springer Protocols Handbooks**, New York, p. 189-198, 2016.

GIANNITTI, F.; DIAB, S.; METE, A.; STANTON, J. B.; FIELDING, L.; CROSSLEY, B.; SVERLOW, K.; FISH, S.; MAPES, S.; SCOTT, L. Necrotizing enteritis and hyperammonemic encephalopathy associated with equine coronavirus infection in equids. **Veterinary Pathology**, Washington, DC, v. 52, n. 6, p. 1148-1156, 3 fev. 2015.

GNIRS, K.; QUINTON, J. F.; DALLY, C.; NICOLIER, A.; RUEL, Y. Cerebral pyogranuloma associated with systemic coronavirus infection in a ferret. **Journal of Small Animal Practice**, London, v. 57, n. 1, p. 36-39, 4 jun. 2015.

GORMAN, S.; MACKAY, B. Environmental control of viral pathogens in veterinary clinics and shelters. **Journal of Animal Science Research**, v. 49, p. 65-72, 2020.

GREENE, C. E.; DECARO, N. Enterite Viral Canina. In: GREENE, C. E. **Doenças Infeciosas em Cães e Gatos**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. Cap. 8. p. 69-82.

HAAKE, C.; COOK, S.; PUSTERLA, N.; MURPHY, B. Coronavirus Infections in Companion Animals: virology, epidemiology, clinical and pathologic features. **Viruses**, [S.L.], v. 12, n. 9, p. 1-22, 2020.

HERREWEGH, A. A. P. M.; SMEENK, I.; HORZINEK, M. C.; ROTTIER, P. J. M.; DE GROOT, R. J. Feline coronavirus type II strains 79-1683 and 79-1146 originate from a double recombination between feline coronavirus type I and canine coronavirus. **Journal of Virology**, Washington, DC, v. 72, p. 4508-4514, 1998.

HOSSAIN, M. E.; ISLAM, A.; ISLAM, S.; RAHMAN, M. K.; MIAH, M.; ALAM, M. S.; RAHMAN, M. Z. Detection and Molecular Characterization of Canine Alphacoronavirus in Free-Roaming Dogs, Bangladesh. **Viruses**, [S.L.], v. 14, p. 1-12, 2022.

HUBBARD, K.; McLEAN, I.; HERD, H.; THOMAS, K.; ELY, P.; CORLESS, L.; BATSHAW, M. L. Risk of vomiting and diarrhoea in dogs. **Veterinary Record**, London, v. 161, n. 22, p. 755-757, 1 dez. 2007.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (ICTV). Coronaviridae. 2019. Disponível em: <https://talk.ictvonline.org/ictv->

reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/222/coronaviridae. Acesso em: 15 out. 2021.

KEENAN, K. P.; JERVIS, H. R.; MARCHWICKI, R. H.; BINN, L. N. Intestinal infection of neonatal dogs with canine coronavirus 1-71: studies by virologic, histologic, histochemical, and immunofluorescent techniques. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 37, n. 3, p. 247-256, mar. 1976.

KIPAR, A.; KREMENDAHL, J.; ADDIE, D. D.; LEUKERT, W.; GRANT, C. K.; REINACHER, M. Fatal enteritis associated with coronavirus infection in cats. **Journal of Comparative Pathology**, v. 119, n. 1, p. 1-14, jul. 1998.

LE PODER, S.; PHAM-HUNG D. D. A. L.; DUARTE, L.; FOURNIER, A.; HORHOGEA, C.; PINHAS, C.; VABRET, A.; ELOIT, M. Infection of cats with atypical feline coronaviruses harbouring a truncated form of the canine type I non-structural ORF3 gene. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 20, p. 488-494, 2013.

LI, Y.; WANG, J.; KAN, L. et al. Clinical and laboratory findings of canine coronavirus infection in dogs: a retrospective study. **Journal of Veterinary Science**, v. 21, n. 2, p. 147–155, 2020.

LICITRA, B.; DUHAMEL, G.; WHITTAKER, G. Canine enteric coronaviruses: emerging viral pathogens with distinct recombinant spike proteins. **Viruses**, Basel, v. 6, n. 8, p. 3363-3376, 22 ago. 2014.

MASTERS, P. S. The molecular biology of coronaviruses. **Advances in Virus Research**, Cambridge, v. 66, p. 193-292, 2006.

MASTERS, P. S.; PERLMAN, S. Coronaviridae. In: KNIPE, D. M.; HOWLEY, P. M. **Fields Virology**. 6. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2013. Cap. 28. p. 825-858.

McELLIGOTT, S.; SHEEHY, M.; O'NEILL, D. G.; LYONS, J.; BRESLIN, A.; MARKS, D.; MORE, S. J. Detection and genetic characterization of canine parvoviruses and coronaviruses in southern Ireland. **Archives of Virology**, Vienna, v. 156, n. 3, p. 495-503, 24 nov. 2010.

MILLET, J. K.; WHITTAKER, G. R. Host cell proteases: critical determinants of coronavirus tropism and pathogenesis. **Virus Research**, Amsterdam, v. 202, p. 120-134, abr. 2015.

NAYLOR, M. J.; MONCKTON, R. P.; STEINER, J. M.; CARTER, C. R.; MCORIST, S. Identification of canine coronavirus strains from feces by S gene nested PCR and molecular characterization of a new Australian isolate. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, DC, v. 39, n. 3, p. 1036-1041, mar. 2001.

NTAFIS, V.; XYLIOUKOS, N.; KARIPIDIS, A.; PLOUSIADIS, P.; FARNOS, M.; PASA, S.; TZANIDAKIS, N.; SOPHIANOPOULOU, A. Canine coronavirus, Greece:

molecular analysis and genetic diversity characterization. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 16, p. 129-136, jun. 2013.

PINTO, L. B.; BARROS, I. N.; BUDAZSEWSKI, R. F.; WEBER, M. N.; MATA, H.; ANTUNES, J. R.; BOABAID, F. M.; WOUTERS, A. T. B.; DRIEMEIER, D.; BRANDÃO, P. E. Characterization of pantropic canine coronavirus from Brazil. **The Veterinary Journal**, London, v. 202, n. 3, p. 659-662, dez. 2014.

PARKHE, P.; VERMA, S. Evolution, Interspecies Transmission, and Zoonotic Significance of Animal Coronaviruses. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, p. 1-29, 2021.

PARKHE, S.; VERMA, S. Molecular characterization and diagnostic techniques for canine coronavirus: A comprehensive review. **Veterinary Microbiology**, v. 252, p. 108–114, 2021.

POLLOCK, R. V. H.; CARMICHAEL, L. E. Canine Viral Enteritis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 13, n. 3, p. 551-566, ago. 1983.

PRATELLI, A.; TEMPESTA, M.; GRECO, G.; MARTELLA, V.; BUONAVOGLIA, C. Development of a nested PCR assay for the detection of canine coronavirus. **Journal of Virological Methods**, [S.L.], v. 80, n. 1, p. 11-15, jun. 1999.

PRATELLI, A. The evolutionary processes of canine coronaviruses. **Advances in Virology**, [s.l.], v. 2011, p. 1-10, 2011. Hindawi Limited. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2011/562831>. Acesso em: 28 dez. 2022.

PRATELLI, A.; TEMPESTA, M.; GRECO, G.; MARTELLA, V.; ELIA, G.; CERCONE, F.; BUONAVOGLIA, C. M gene evolution of canine coronavirus in naturally infected dogs. **Veterinary Record**, Londres, v. 151, n. 25, p. 758-761, dez. 2002. Disponível em: <https://bvajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1136/vr.151.25.758>. Acesso em: 3 fev. 2022.

PRATELLI, A.; TEMPESTA, M.; ELIA, G.; MARTELLA, V.; DECARO, N.; BUONAVOGLIA, C. The knotty biology of canine coronavirus: a worrying model of coronaviruses' danger. **Research in Veterinary Science**, [S.L.], v. 144, p. 190-195, maio 2022.

PRATELLI, A.; BUONAVOGLIA, A.; LANAVE, G.; TEMPESTA, M.; CAMERO, M.; MARTELLA, V.; DECARO, N. One world, one health, one virology of the mysterious labyrinth of coronaviruses: the canine coronavirus affair. **The Lancet Microbe**, [S.L.], v. 2, n. 12, p. 646-647, dez. 2021.

RADFORD, A. D.; MORRIS, S.; COOKE, L.; BAILEY, N.; TURNER, J.; BARNARD, V.; GRAHAM, E.; STOKES, J.; SIVASUBRAMANIAM, G.; SCHUMACHER, E.; WHITTAKER, E.; SANDER, A.; CUNNINGHAM, M.; DUNN, K.; HALL, G.;

JOHNSON, P.; CAVE, N. J.; NIELSEN, L.; RYVAR, R. Outbreak of severe vomiting in dogs associated with a canine enteric coronavirus, United Kingdom. **Emerging Infectious Diseases**, Atlanta, v. 27, n. 2, p. 517-528, fev. 2021.

SMITH, A. K.; ROBERTS, M.; LEE, J. et al. Hematological and biochemical changes in dogs infected with canine coronavirus. **Journal of Animal Sciences Research**, v. 48, n. 1, p. 35–42, 2022.

STAVISKY, J. et al. Cross sectional and longitudinal surveys of canine enteric coronavirus infection in kennelled dogs: a molecular marker for biosecurity. **Infection, Genetics and Evolution**, [S.L.], v. 12, n. 7, p. 1419-1426, out. 2012.

TIMURKAN, M. O. et al. Molecular characterization of canine coronaviruses: an enteric and pantropic approach. **Archives of Virology**, [S.L.], n. 166, p. 35-42, 2021.

TIZARD, Ian R. Vaccination against coronaviruses in domestic animals. **Vaccine**, [S.L.], v. 38, n. 33, p. 5123-5130, jul. 2020.

WHITTAKER, G.; BROWNLIE, J. (comp.). Coronaviridae. In: **FENNER, F.** Veterinary Virology. 5. ed. Cambridge: Academic Press, 2017. Cap. 24. p. 435-461.

YANG, D.; LEIBOWITZ, J. L. The structure and functions of coronavirus genomic 3' and 5' ends. **Virus Research**, [S.L.], v. 206, p. 120-133, ago. 2015.

ZAPPULLI, V.; CALIARI, D.; CAVICCHIOLI, L.; TINELLI, A.; CASTAGNARO, M. Systemic fatal type II coronavirus infection in a dog: pathological findings and immunohistochemistry. **Research in Veterinary Science**, [S.L.], v. 84, n. 2, p. 278-282, abr. 2008.

ANEXOS

Anexo A - Documento da Comissão de Ética e Experimentação Animal



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

PARECER N°
PROCESSO N°

64/2020/CEE/REITORIA
23110.010790/2020-41

Certificado

Certificamos que a proposta intitulada “**Identificação e caracterização molecular de coronavírus em animais de companhia e em morcegos e roedores que coabitam espaços com humanos**”, registrada com o nº 23110.010790/2020-41, sob a responsabilidade de Silvia de Oliveira Hübner - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e recebeu parecer **FAVORÁVEL** a sua execução pela Comissão de Ética em Experimentação Animal, em reunião de **03 de junho de 2020**.

Finalidade	(x) Pesquisa () Ensino
Vigência da autorização	10/06/2020 a 30 /12 /2023
Espécie/linhagem/raça	<i>Felis domesticus</i> <i>Canis lupus familiaris</i> <i>Tadarida brasiliensis</i> <i>Mus musculus</i> <i>Rattus norvegicus</i> <i>Rattus rattus</i>
	<i>Felis domesticus</i> - 114

Nº de animais	<i>Felis domesticus</i> - 114 <i>Canis lupus familiaris</i> - 114 <i>Tadarida brasiliensis</i> - 72 <i>Mus musculus</i> - 60 <i>Rattus norvegicus</i> - 60 <i>Rattus rattus</i> - 60
Idade	Variável
Sexo	Machos e Fêmeas
Origem	Cães e Gatos - Animais com tutores, em suas propriedades <i>Tadarida brasiliensis</i> - redes de neblina (mist nets) e armadilhas de harpa (harp trap) Roedores - ratoeira do tipo gangorra SISBIO 75148

Código para cadastro nº CEEA 10790-2020

M.V. Dra. Anelize de Oliveira Campello Felix

Presidente da CEEA



Documento assinado eletronicamente por **ANELIZE DE OLIVEIRA CAMPELLO FELIX**, Médico Veterinário, em 10/06/2020, às 16:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

Anexo B – Laudo histopatológico referente ao animal Jorge

	LABORATÓRIO REGIONAL DE DIAGNÓSTICO CAMPUS UNIVERSITÁRIO - C.P. 354 Fone / Fax: 053-3275-7310 CER: 96 010 - 900 - Pelotas - RS.	
---	--	---

Laudo de Exame

Ficha	21459		
Vet remetente	Winnie de Oliveira dos Santos	Fone	5399455255
Endereço		Cidade	Pelotas
e-mail:	winnie-oliveira@hotmail.com	cep	
Proprietário		Município propriedade	Pelotas
Endereço:			
Espécie	Canino	Raça	SRD
Nome/identificação	Jorge	Data recebimento:	09/02/2022
Diagnóstico	Parvovirose Canina		
Relatório	No exame externo do cadáver observou-se mucosas ocular e oral pálidas. Macroscopicamente foi observado serosa intestinal com áreas congestionadas, mucosa do intestino delgado avermelhada e com		