

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 03/02/2027.

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU**

**ALTERAÇÕES CLÍNICAS E MORFOLÓGICAS DA PARVOVIROSE CANINA
RELACIONADAS AO TIPO VIRAL NA REGIÃO DO CENTRO OESTE PAULISTA**

LUANDA FERREIRA CIPRIANO

BOTUCATU, SP

2025

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU**

**ALTERAÇÕES CLÍNICAS E MORFOLÓGICAS DA PARVOVIROSE CANINA
RELACIONADAS AO TIPO VIRAL NA REGIÃO DO CENTRO OESTE PAULISTA**

LUANDA FERREIRA CIPRIANO

Tese de doutorado apresentada à
FMVZ, Unesp, campus de Botucatu,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária para a
obtenção da aprovação na defesa de
doutorado.

Área: Enfermidades infecciosas dos
animais

Orientador: Prof. Titular Dr. Antônio
Carlos Paes

BOTUCATU, SP

2025

FICHA CATALOGRÁFICA

C577a Cipriano, Luanda Ferreira
Alterações clínicas e morfológicas da parvovirose canina
relacionadas ao tipo viral na região do centro oeste paulista / Luanda
Ferreira Cipriano. -- Botucatu, 2025
167 f. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP),
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu
Orientador: Antônio Carlos Paes

1. Parvovírus canino. 2. Gastroenterite hemorrágica. 3.
Seqüenciamento gênico. 4. Tipos de parvovírus. 5. CPV-2. I. Título.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE LUANDA FERREIRA CIPRIANO, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA, DA FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 03 dias do mês de fevereiro do ano de 2025, às 15h, no(a) Anfiteatro da M.I., realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de LUANDA FERREIRA CIPRIANO, intitulada **ALTERAÇÕES CLÍNICAS E MORFOLÓGICAS DA PARVOVIROSE CANINA RELACIONADAS AO TIPO VIRAL NA REGIÃO DO CENTRO OESTE PAULISTA**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. ANTONIO CARLOS PAES (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Depto de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva / FMVZ UNESP, Profa. Dra. MARIA LUCIA GOMES LOURENÇO (Participação Presencial) do(a) DCV / FMVZ - UNESP, Profa. Dra. NOEME SOUSA ROCHA (Participação Presencial) do(a) PATOLOGIA VETERINÁRIA / FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA, UNESP, CAMPUS DE BOTUCATU, Prof. Dr. ROGÉRIO GIUFFRIDA (Participação Presencial) do(a) Programa de Pós-graduação em Ciência Animal / Universidade do Oeste Paulista, Dra. RITA DECASSIA CARVALHO MAIA (Participação Virtual) do(a) Medicina Veterinária / Universidade Federal de Pernambuco. Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: Aprovada. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.


Prof. Dr. ANTONIO CARLOS PAES

Nome da Autora: Luanda Ferreira Cipriano

Título: Alterações clínicas e morfológicas da parvovirose canina relacionadas ao tipo viral na região do centro oeste paulista

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Antônio Carlos Paes

Presidente e orientador

Departamento: Higiene e
saúde pública/ FMVZ –

UNESP - Botucatu

Prof^ª Dr^ª Maria Lúcia Gomes

Lourenço Membro titular

Departamento: Clínica Veterinária

FMVZ – UNESP - Botucatu

Prof^ª Dr^ª Noeme Sousa Rocha

Membro

Departamento: Clínica Veterinária

FMVZ – UNESP - Botucatu

Prof. Dr. Rogerio Giuffrida

Membro titular

Departamento de Ciência Veterinária

Universidade do Oeste Paulista-

Presidente Prudente

Prof^ª Dr^ª Rita de Cássia Carvalho Maia

Membro titular

Departamento de Medicina Veterinária

Universidade Federal Rural de Pernambuco- Recife PE

Prof^ª Dr^ª Renata da Fontoura Budaszewski

Membro suplente

Departamento de Patologia clínica
Universidade Federal do Rio Grande do Sul- Porto Alegre RS

Profª Drª Leila Sabrina Ullmann
Membro suplente
Departamento de Medicina Veterinária
e Zootecnia
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)- Campo Grande MS

Profª Drª Alessandra Melchert
Membro suplente
Departamento de Animais Selvagens
Unesp-Botucatu SP

Data da defesa: 03/02/2025

Dedicatória

À Maria, mãe de Deus e nossa.

“Solus tuus ego sum Mariae et omnia mea tua sunt”

Papa São João Paulo II

Agradecimentos Oficiais

Ao meu orientador, professor Dr. Antônio Carlos Paes, pela orientação, ajuda, apoio, incentivo e paciência. Sinto-me honrada e grata ao senhor pela oportunidade de ser sua orientanda na pós-graduação. Agradeço por todos os ensinamentos transmitidos e pela confiança ofertada em meu trabalho, para que esse estudo fosse desenvolvido.

Aos professores da Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária (FMVZ) da Unesp, que foram mestres excepcionais na arte de ensinar e conduzir. Cresci muito sendo aluna de vocês!

À banca de qualificação pelas contribuições a este trabalho.

À banca de defesa pela disponibilidade em me avaliar e contribuir para o aprimoramento desta tese.

Ao Colegiado da Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Unesp- Botucatu, pelo apoio durante o doutorado.

Aos secretários da Seção Técnica de Pós-Graduação, pela atenção e trabalho de excelência na orientação ao pós-graduando.

Aos tutores dos cães do estudo por concordarem com a participação de seus animais.

Ao diretor da Faculdade de Medicina Veterinária, professor dr. Alexandre, por conceder isenção na cobrança dos serviços hospitalares referentes ao meu estudo.

Ao Nivaldo do setor financeiro do Hospital Veterinário por auxiliar nos descontos oferecidos para os responsáveis pelos cães desse projeto.

Às discentes Mariana Pacheco e Alessandra por auxiliarem na realização dos exames de imagens abdominais do projeto.

À professora Dra. Maria Lúcia por se disponibilizar a realizar a avaliação cardíaca da pesquisa.

Ao professor Dr. Rogério por se responsabilizar pelas análises estatísticas do estudo.

Ao professor Dr. Didier, por ajudar na seleção e laudo das imagens de histopatologia.

Aos residentes do setor de moléstias infecciosas, por toda a ajuda durante a avaliação dos casos clínicos e coletas de exames. Agradeço em especial os residentes Gustavo, Aline, Alec, Beatriz e Bianca por ajudarem em todas as etapas do estudo, se disponibilizando a tornar possível a realização

de todas as coletas de exames e acompanhamento clínico.

Aos residentes do setor de clínica de pequenos animais pela paciência e ajuda nos agendamentos de avaliação cardíaca e apoio durante os exames. Agradeço em especial aos residentes André e Júlio por fornecerem os dados dos exames.

Aos residentes dos setor de patologia clínica e parasitologia veterinária pela realização dos exames solicitados e entrega rápida de resultados.

Ao laboratório VidaVet por realizar a dosagem de troponina.

Ao professor Dr. André Felipe e os seus orientados: Rafael, Pedro, Nicole e Ketlin por me acolherem tão bem em seu laboratório e “salvarem” a etapa final desse estudo, recebendo as minhas amostras no laboratório de diagnóstico molecular da Universidade de Caxias do Sul (UCS). Agradeço por disponibilizarem o seu tempo para me ensinar e realizar as etapas de preparo das amostras para o sequenciamento genético (purificação e quantificação de DNA). Agradeço ainda por auxiliarem na interpretação dos dados do sequenciamento genético.

Ao laboratório ACTgene Análises Moleculares por realizar o sequenciamento genético.

Ao CNPQ, pela bolsa de doutorado que foi essencial para a minha permanência em Botucatu.

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

Agradecimentos pessoais

A Deus, por tornar possível todas as etapas de estudo.

Aos meus pais, irmãos e sobrinhos pelo apoio e carinho em especial nesse momento de doutorado.

Ao meu noivo, Demétrius, por me ajudar na contenção dos cães durante a pesquisa, pelo apoio, carinho e escuta durante o doutorado.

Aos meus amigos pelo apoio e incentivo.

À psicóloga Dali pela escuta, apoio e reflexões propostas.

À prof. Dra Malu, aos residentes e estagiários dos setores de Moléstias Infecciosas (MI) e clínica médica por “colocarem a mão na massa” e executar algumas etapas do projeto comigo.

Agradeço novamente à equipe do laboratório de diagnóstico molecular da UCS por participarem da etapa final do meu estudo e tornar possível a conclusão da minha pesquisa.

Ao meu orientador prof. Paes por toda paciência, simpatia e confiança em meu trabalho.

“Buscai em primeiro lugar o Reino de Deus e a sua justiça e todas estas coisas vos serão dadas em acréscimo.

“Não vos preocupeis, pois, com o dia de amanhã: o dia de amanhã terá as suas preocupações próprias. A cada dia basta o seu cuidado.”

(Mt 6, 33-34)

Lista de figuras:

Figura 1: A figura mostra a distribuição temporal, de hospedeiros e de países de sequências pertencentes à linhagem asiática CPV-2c registradas no GenBank. O destaque em verde no mapa, apresenta as primeiras sequências que foram identificadas entre 2013–2016, indicadas em verde. As sequências identificadas entre 2017–2021, foram documentadas nos países coloridos de roxo. Os países em cinza no mapa indicam que nenhuma sequência foi relatada até o momento. Em preto destaca-se os animais domésticos identificados e em cinza os outros animais. Mapa criado por Mapchart.net © e sua classificação foi baseada no NS1 (FRANZO et al., 2023).39

Figura 2: A figura mostra os aminoácidos-chave em resíduos específicos em VP2 (esquerda) e NS1 (direita), definindo cepas encontradas na Ásia de CPV-2c. A posição do aminoácido é indicada acima da figura, enquanto o número (N) de vezes e porcentagens (%) que essas sequências foram encontradas no clado CPV-2c asiático (asiático) e em todas as outras cepas CPV-2 (não asiáticas) são indicadas à direita (FRANZO et al., 2023).40

Apresentam genoma de aproximadamente 4 a 6 KB, estimando-se em torno de 5200 nucleotídeos, contendo dois grandes quadros de leitura (ORFs). Uma das quais codifica as proteínas não estruturais NS1 e NS2, e as outras duas proteínas estruturais VP1 e VP2. Os vírions do parvovírus possuem pequenos capsídeos sem envelope com diâmetro de 200 a 280 Å [3–9] (MIRANDA et al., 2016; MIETZSCH et al., 2019).41

Figura 3: Cladograma da subfamília Parvovirinae, mostrando os 8 gêneros (*Amdoparvovirus*, *Aveparvovirus*, *Bocaparvovirus*, *Dependoparvovirus*, *Eritroparvovirus*, *Copiparvovirus*, *Protoparvovirus* e *Tetraparvovirus*), por meio de sua ORF. A proteína não estrutural (NS) expressa os genes NS ou REP são simplificados e apenas a ORF é mostrada. As transcrições abaixo do limite ORF para a expressão do VP individual são mostrados. No lado direito da figura, encontra-se o peso dos VPs, sendo que os perfis de transcrição dos gêneros *Aveparvovirus* e *Copiparvovirus* não foram determinados e, portanto, os tamanhos dos VPs são baseados em previsões *in silico* (MIETZSCH et al., 2019).44

Figura 4: A estrutura de um monômero VP de CPV. A figura mostra um diagrama de fita de desenho. As fitas em cinza são: beta β A a β I, a fita vermelha representa a α -hélice A, em verde estão as alças superficiais interconectadas (com todos os elementos estruturais removidos e os terminais N e C são indicados. Os eixos icosaédricos de 2, 3 e 5 vezes são indicados por um oval, um triângulo e um pentágono, respectivamente. Esta imagem foi gerada usando PyMOL 77 (MIETZSCH et al., 2019).45

Figura 5: A figura representa os VPs dos Parvovirinae.46

(A) Representação da superposição estrutural de monômeros de VPs de diferentes integrantes do *Protoparvovirus* (esquerda), *Bocaparvovirus* (centro) e *Dependoparvovirus* em cores

diferentes. Os VPs: VP-I a VP-IX (ou VP0 a VP8 para os *Protoparvovirus*). Os loops DE e HI são mostrados (MIETZSCH et al., 2019)..... 46

(B) Localização dos VPs, coloridos conforme indicado, na superfície do capsídeo MVMp como exemplo para *Protoparvovirus* (esquerda), para *Bocaparvovirus* (centro) e AAV2 para o *Dependoparvovirus* (à direita). Os números foram gerados usando PyMOL (MIETZSCH et al., 2019)..... 46

Figura 6: A figura ilustra os segmentos do ventrículo esquerdo avaliados pelo ecocardiograma speckle-tracking. O eixo curto ao nível dos músculos papilares é representado em A, e o corte apical esquerdo de 4 câmaras é representado em B (DE ABREU et al., 2019). 55

Figura 4: O gráfico mostra o número de raças mais frequentes na pesquisa comparadas as cepas de CPV-2. 84

Figura 5: Comparação entre os dias de diarreia e dias de internação da cepa CPV-2a..... 86

Figura 6: Comparação entre os dias de diarreia e dias de internação da cepa CPV-2 b. 86

Figura 7. Dos 6 cães infectados com a cepa CPV-2a, apenas 1 foi classificado no score 0 e os outros no score 1, conforme pontuação SIRS. Dos cães infectados pela cepa CPV-2b, 2 cães atingiram o score 0, 12 cães pontuaram com score 1, 6 cães com score 2, apenas 1 cão com score 3 e nenhum com score 4, de acordo com a pontuação SIRS. **Fonte:** Arquivo pessoal, 2025. 90

Figura 8: Sistema de pontuação SIRS comparando as cepas CPV-2a e CPV-2b. 91

Figura 9: A: Exame realizado em 3 minutos com paciente em decúbito lateral direito. Predomínio de arritmia sinusal com FC média de 150 bpm, evidenciou-se onda T negativa e menor que 25% de onda R. O eixo cardíaco médio de $+60^\circ$ e eixo médio de onda p de $+49^\circ$ (origem em nó sinusal ou teto de átrio direito). B: Observa-se em análise qualitativa o ritmo: irregular e FC média de 109 BPM (batimentos por minuto). Paciente com bloqueio atrioventricular (BAV) de 2º grau. 94

Figura 10 A: Valvas semilunares pulmonar aspecto e movimentação normais, estudo doppler e mapeamento do fluxo em cores demonstram insuficiência de grau discreto. B: Valvas tricúspide com aspecto normal e movimentação normal de cúspides valvares. Em estudo doppler, o mapeamento do fluxo em cores, demonstram insuficiência rt $v_{max}= 2,68 \text{ m/s}$, $\text{grad}= 28,66\text{mmhg}$. C: Estudo em modo M. D: Válvula mitral: aspecto espessado e movimentação normais de cúspides valvares; estudo doppler e mapeamento do fluxo em cores demonstram insuficiência de grau discreto (escape). 95

Figura 11 – Curvas de sobrevivência para cães infectados pela variante CPV-2a (n =6) e CPV-2b (n = 21). 96

- Figura 12** A figura mostra a Serosa do intestino delgado avermelhada e com aspecto finamente granular (seta). **Fonte:** Arquivo pessoal, 2024..... 97
- Figura 13:** Mucosa do intestino delgado avermelhada com conteúdo seroso avermelhado. **Fonte:** Arquivo pessoal, 2024. 98
- Figura 14:** Visão macroscópica da depleção das placas de Peyer em decorrência da necrose provocada pelo PVC-2. **Fonte:** Arquivo pessoal, 2024. 98
- Figura 15:** Microscopia em menor aumento evidenciando a necrose da mucosa do intestino delgado (linha tracejada) e do MALT (setas) (HE, 40x). **Fonte:** Arquivo pessoal, 2024..... 99
- Figura 16:** Visão aproximada da necrose da mucosa do intestino delgado (HE, 100x). **Fonte:** Arquivo pessoal, 2024. 100
- Figura 17:** Detalhe do folículo linfóide necrótico (HE, 100x). **Fonte:** Arquivo pessoal, 2024. 101

Lista de tabelas:

Tabela 1- O sistema de pontuação SOFA.....	68
Tabela 2- O sistema de pontuação SIRS.....	70
Tabela 3 – Fatores de risco avaliados para infecção pelas variantes virais identificadas em 28 cães com parvovirose, Região Centro-oeste SP, 2025	88
Tabela 4 – Frequências das alterações observadas no eletrocardiograma (ECG) de cães infectados pela cepa CPV-2b (Região Centro-oeste SP, 2024).....	92
Tabela 5 – Frequências das alterações observadas no ecocardiograma de cães infectados pelo CPV-2 b, Região Centro-Oeste SP, 2024	92
Tabela 6 – Frequências das alterações observadas no eletrocardiograma de cães infectados pelo parvovírus canino, na região Centro-oeste paulista, SP, 2024.	93

Lista de abreviações

AE: Átrio esquerdo

ALT: Alanina Aminotransferase

AO: Artéria aorta

BAV: Bloqueio atrioventricular de 2º grau

BLAST: Basic Ferramenta de pesquisa de alinhamento local

BPM: Batimentos por minuto

CK: Creatina quinase

CPV-1: Parvovírus canino tipo I

CPV-2: Parvovírus canino tipo II

cTNL: (troponina cardíaca)

DIVD: Diâmetro interno do ventrículo direito

DIVED: Diâmetro do ventrículo esquerdo na diástole

DIVES: Diâmetro interno (sistólico) do ventrículo esquerdo na sístole

EDTA: Ácidoetilenodiaminotetra-acético

EPSS: Distância entre o ponto E do folheto anterior da valva mitral e o septo

FAL: Fosfatase alcalina

FC: Frequência cardíaca

FE: Fração de ejeção

FEN: Fração de encurtamento

FPV: Vírus da panleucopenia felina

FR: Frequência respiratória

GGT: Gama Glutamil Transferase

GRA: Gradiente

HA: Hemaglutinação

IC: Imunocromatográfico

IM: Intramuscular

IV: Intravenosa

NCBI: National Center for Biotechnology Information

ORFs: Quadros de leitura

PA: Pressão arterial

PIRO: Predisposição, Infecção, Resposta e disfunção do Órgão

PPVED: Parede posterior do ventrículo direito

PVE: Parvovirus canino
PCV-2: Parvovirus canino 2
PCR: Reação em Cadeia da Polimerase
PPVED: Parede livre do ventrículo esquerdo na diástole
PPVES: Parede livre do ventrículo esquerdo na sístole
SC: Subcutânea
SIRS: Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica
SIVD: Septo interventricular na diástole
SIVS: Septo interventricular
SOFA: Sequential Organ Failure Assessment
TRFIA: Imunoensaio de fluorescência resolvida no tempo de dupla marcação
TDOM: Tempo de desaceleração onda mitral
TNL: Troponina I (TnI)
TNL T: Troponina cardíaca T
TR: Temperatura retal (corporal)
TRIV: Tempo de relaxamento isovolumétrico
VOM: Velocidade onda mitral
VMFA: Velocidade máxima do fluxo aórtico
VMFP: Velocidade máxima do fluxo pulmonar
VP: Proteína viral do capsídeo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO:.....	34
2. REVISÃO DE LITERATURA	36
2.1 Etiologia e epidemiologia do CPV-2.....	36
2.2 Variações gênicas do parvovírus canino	41
2.3 Resistência ambiental	46
2.4 Patogenia da infecção por parvovírus canino	46
2.5 Sinais clínicos da parvovirose canina.....	48
2.5.1 Sinais clínicos entéricos.....	48
2.5.2 Sinais clínicos cardíacos.....	49
2.6 Alterações clínico-patológicas e desregulações ácido-base	49
2.7 Miocardite secundária a parvovirose canina	51
2.8 Diagnóstico do parvovirose canina.....	55
2.8.1 Reação de PCR	57
2.8.2 Sequenciamento de nucleotídeos e análise molecular	59
2.8.3 Sorologia para diagnóstico de parvovirose canina.....	60
2.9 Tratamento de PVE canino	61
2.9.1 Tratamento do choque séptico na parvovirose	64
2.10 Parvovirose como modelo experimental de sepse	67
2.10.1 Sistema de classificação SOFA	67
2.10.2 Avaliação do estado de SIRS.....	69
2.10.3 Sistema de classificação PIRO (Predisposição, Infecção, Resposta e disfunção do Órgão) adaptado para cães em sepse	70
3 OBJETIVO	71
3.1 Objetivo Geral.....	71
3.2 Objetivos Específicos.....	72

4 MATERIAL E MÉTODOS.....	72
4.1 Aprovação do Comitê de ética	72
4.2 Pacientes do estudo.....	72
4.3 Local da pesquisa	73
4.4 Critérios de inclusão.....	73
4.5 Critérios de exclusão	74
4.6 Anamnese, exame físico e sinais clínicos.....	74
4.7 Coleta de material biológico:	75
4.7.1 Coleta de fezes para exame de perfil coproparasitológico e PCR:.....	75
4.7.2 Hemograma	75
4.7.3 Bioquímica sérica	76
4.7.4 Gasometria	76
4.7.5 Dosagem de troponina cardíaca T	77
4.8 Biologia Molecular	77
4.8.1 Detecção de CPV-2	77
4.8.2 Sequenciamento genético:.....	78
4.9 Avaliação cardíaca:	78
4.10 Avaliação histopatológica	81
4.11 Tratamento:	82
4.12 Análise estatística	82
4.12.1 Comparação entre subtipos	82
4.12.2 Associação entre sinais clínicos e subtipo viral.....	83
4.12.3 Análise de sobrevivência.....	83
4.12.4 Comparação entre frequências das alterações cardíacas	83
4.12.5 Pacote estatístico.....	83
5. RESULTADOS	84
5.1 Avaliação da gravidade do quadro clínico	85

5.2 Resultados dos hemogramas	87
5.3 Dosagem sérica de Creatina Kinase (CK).....	87
5.4 Análise de fatores de risco e sinais clínicos	88
5.5 Avaliação de sepse baseada nos critérios SOFA e SIRS	89
5.6 Resultados da avaliação cardíaca	91
5.7 Análise de sobrevivência.....	95
5.8 Resultados da avaliação macroscópica e microscópica	96
6. DISCUSSÃO:.....	101
6.1 Avaliação cardíaca	101
6.2 Avaliação de sepse baseado em parâmetros do critério SIRS	103
6.3 Avaliação da gravidade do quadro clínico	106
6.4 Dosagem de Troponina cardíaca T	106
6.5 Elevação de creatina quinase em cães infectados com os subtipos de parvovírus CPV-2a e CPV-2b.....	107
6.6 Eletrocardiograma	109
6.7 Ecocardiograma	110
6.8 Alterações macroscópicas encontradas na necropsia de cães com parvovirose	111
6.9 Achados microscópicos post-mortem de cães acometidos pela CPV-2.....	112
6.10 Limitações do estudo	114
7. CONCLUSÃO:.....	115
REFERÊNCIAS	116
ANEXOS	123
Anexo 1- Atestado de aprovação do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.	123
MATERIAL SUPLEMENTAR	125
Tabela1: Dados obtidos dos eletrocardiogramas de cães com parvovirose.....	125
Tabela 2 : Avaliação ecocardiográfica de cães com parvovirose.....	127
Tabela 3 - Estudo em modo M dos exames de ecocardiograma de cães com parvovirose.....	129

Tabela 4 - Avaliação doppler função diastólica de cães com parvovirose.....	131
Seção 1.....	135

RESUMO:

O objetivo deste estudo foi investigar a influência dos tipos de parvovírus caninos, na gravidade do quadro clínico, letalidade, alterações cardíacas e hematológicas em vinte e oito cães na região do centro oeste paulista. O parvovírus canino (CPV) é um patógeno importante na clínica de cães domésticos, sendo responsável por quadros severos de gastroenterite hemorrágica e miocardite, com alta mortalidade em cães jovens. Os tipos antigênicos e suas principais variantes CPV-2a, CPV-2b e CPV-2c estão prevalentes em todo o mundo. O vírus possui três proteínas estruturais (VP1, VP2 e VP3) e duas não estruturais (NS1 e NS2), sendo VP2 altamente imunogênico. Os cães do estudo, foram pacientes do serviço de Moléstias Infeciosas do Hospital Veterinário da Unesp, que apresentaram sintomatologia e histórico clínico compatíveis com a parvovirose canina, somado ao exame positivo de PCR para o CPV-2. A partir do resultado molecular positivo, as amostras fecais reagentes, foram submetidas ao sequenciamento gênico para identificação do tipo viral, diferenciando em CPV-2a, 2b e 2c. Os pacientes positivos para o CPV-2 foram acompanhados clinicamente e as alterações hematológicas, bioquímicas, cardiológicas, histopatológicas e macroscópicas (em caso de óbito devido a um mal prognóstico), foram analisadas em relação ao tipo viral, detectando-se o subtipo CPV-2a em 21,42%, o biotipo CPV-2 b em 78,57% e a variante CPV-2 c em 3,57%. Após análise dos dados, notou-se que a cepa CPV-2a infecta principalmente filhotes de até 3 meses de vida e o quadro clínico apresenta maior gravidade. A cepa CPV-2b é mais abrangente na região centro-oeste paulista, podendo causar a parvovirose em cães jovens e adultos. Dos 28 cães do estudo, 40,74% exibiram alterações no ecocardiograma, em 29,62% dos pacientes, identificou-se alterações no ECG. Sendo que as todas as alterações em exames cardíacos foram relacionadas somente em uma parte de cães do grupo infectado pela CPV-2b. Porém o número amostral foi baixo e possivelmente interferiu na avaliação dos dados. O monitoramento contínuo das variantes do CPV-2 é fundamental para um maior conhecimento acerca da evolução do vírus, dinâmica e propagação da doença. A identificação de variantes do CPV em diversos países é importante para avaliar a gravidade do quadro clínico, em relação ao subtipo em cães infectados, contribuindo para a melhoria na investigação epidemiológica da parvovirose.

Palavras-chaves: Parvovírus canino, gastroenterite hemorrágica, sequenciamento gênico.

ABSTRACT:

The aim of this study was to investigate the influence of canine parvovirus types on the severity of clinical symptoms, lethality, cardiac and hematologic alterations in twenty-eight dogs in the central-western region of São Paulo. Canine parvovirus (CPV) is an important pathogen in domestic dog clinics, responsible for severe cases of hemorrhagic gastroenteritis and myocarditis, with high mortality in young dogs. The antigenic types and their main variants CPV-2a, CPV-2b and CPV-2c are prevalent worldwide. The virus has three structural proteins (VP1, VP2 and VP3) and two non-structural proteins (NS1 and NS2), with VP2 being highly immunogenic. The dogs in the study were patients of the Infectious Diseases Service of the Veterinary Hospital of Unesp, which presented symptoms and clinical history compatible with canine parvovirus, in addition to a positive PCR test for CPV-2. Based on the positive molecular result, the reactive fecal samples were subjected to gene sequencing to identify the viral type, differentiating them into CPV-2a, 2b and 2c. Patients positive for CPV-2 were clinically monitored and the hematological, biochemical, cardiological, histopathological and macroscopic alterations (in case of death due to a poor prognosis) were analyzed in relation to the viral type, detecting the CPV-2a subtype in 21.42%, the CPV-2 b biotype in 78.57% and the CPV-2 c variant in 3.57%. After analyzing the data, it was noted that the CPV-2a strain mainly infects puppies up to 3 months of age and the clinical picture is more severe. The CPV-2b strain is more widespread in the central-west region of São Paulo and can cause parvovirus in young and adult dogs. Of the 28 dogs in the study, 40.74% exhibited alterations in the echocardiogram, and in 29.62% of the patients, alterations in the ECG were identified. All alterations in cardiac exams were related to only a portion of dogs in the group infected with CPV-2b. However, the sample size was low and possibly interfered with the evaluation of the data. Continuous monitoring of CPV-2 variants is essential for greater knowledge about the evolution of the virus, dynamics and spread of the disease. The identification of CPV variants in different countries is important to assess the severity of the clinical picture, in relation to the subtype in infected dogs, contributing to the improvement of the epidemiological investigation of parvovirus.

Keywords: Canine parvovirus, hemorrhagic gastroenteritis, gene sequencing.

1 INTRODUÇÃO:

O parvovírus canino 2 (CPV-2) é um vírus DNA de fita simples, pertencente à família *Parvoviridae*. O CPV-2 é responsável por aproximadamente 91% de mortalidade em filhotes não tratados. A alta patogenicidade do CPV-2 está relacionada a proteína VP2 do capsídeo viral. As principais complicações do CPV-2 são a gastroenterite hemorrágica, miocardite e sepse. O sítio 426 da proteína VP2, do capsídeo, determina os tipos CPV-2a, CPV 2b e CPV 2c, sendo que o prognóstico clínico depende dos tipos virais de CPV-2 causadores da parvovirose no hospedeiro. A investigação da correlação entre a gravidade do quadro clínico causadas pelas variantes de parvovírus canino, auxilia na maior compreensão sobre os mecanismos de ação do vírus, aprimorando as estratégias de controle da doença.

Na década de 70, a infecção por parvovírus canino causou um grande impacto na clínica médica de cães, por ser um agente de alta gravidade e letalidade. A ocorrência de enterite e intensa multiplicação do vírus na medula óssea e no tecido linfóide, culminam na destruição da linhagem mieloide, causando linfopenia. A translocação bacteriana por rompimento da barreira intestinal pode estabelecer o quadro de sepse, associado a miocardite, morte súbita ou insuficiência cardíaca. A infecção por CPV-2 foi considerada uma pandemia que evoluiu para uma endemia em cerca de 30 anos.

Os parvovírus são vírus não envelopados, cujo capsídeo mede aproximadamente 25 nm de diâmetro. Os genomas de parvovírus apresentam dois quadros de leitura abertos, a ordem à esquerda, codifica os genes NS ou REP, responsáveis por séries de proteínas reguladoras que participam da replicação viral. A ordem a direita codifica as proteínas VP1, VP2, VP3 que montam o capsídeo. A VP2 apresenta as principais propriedades antigênicas responsáveis pela evolução genética do CPV. A classificação das variantes de CPV-2 é realizada por sequenciamento gênico, após a amplificação por PCR (Reação em cadeia polimerase).

O vírus CPV-2 sofreu uma mutação que alterou o sítio 426 da proteína VP2, gerando o subtipo CPV-2a com asparagina no aminoácido 426. O subtipo CPV-2b oriundo de mutações do subtipo CPV-2a, contém ácido aspártico no aminoácido 426. A última cepa identificada é a PVC-2c que difere das variantes anteriores por apresentar o glutamato no aminoácido 426. Essas alterações fornecem aos subtipos de CPV-2, características que se distinguem quando a patogenicidade e letalidade nos cães.

Após o ingresso no organismo do hospedeiro, o CPV-2 se replica no tecido linfóide da orofaringe e no timo, se dissemina pela corrente sanguínea. A partir do 3º e 4º dia de infecção,

se estabelece a viremia e eliminação do vírus pelas fezes. Durante o período de 45 dias, as células miocárdicas de neonatos e cães filhotes estão completando o seu desenvolvimento e apresentam, portanto, taxas altas de mitoses, sendo maiores do que das células intestinais. O vírus CPV-2 apresenta tropismo por células de alta capacidade mitótica, em decorrência da facilidade de ligação entre o CPV-2 e os receptores de transferrina na superfície celular.

Além da miocardite, os cães recém-nascidos podem apresentar gastroenterite grave, letargia, vômitos, febre e diarreia (geralmente com sangue), conforme a cepa de CPV-2 causadora da infecção. O diagnóstico preliminar consiste no histórico vacinal, sinais clínicos e leucopenia, seguido da confirmação através de métodos moleculares, baseados em protocolos de PCR devido a sua sensibilidade.

As mutações no CPV-2 forneceram benefícios adaptativos que tornaram os subtipos mais patogênicos nos últimos 30 anos. Existe uma lacuna de informações na literatura científica, referentes às manifestações clínicas relacionadas aos subtipos do CPV-2. Os estudos científicos realizados até o momento, são insuficientes para prever a associação entre sinais clínicos e os tipos de cepas do CPV-2. Investigar as principais alterações no quadro clínico de cães infectados pelo CPV-2, é fundamental para obter informações sobre a patogenia dos subtipos, trazendo assim dados importantes para o estudo, prevenção e controle da disseminação do CPV no mundo.

7. CONCLUSÃO:

O presente estudo buscou associar os parâmetros de gravidade clínica da parvovirose com os tipos de cepas de CPV-2. A importância dessa pesquisa se deve a carência de informações disponíveis na literatura acerca de alterações clínicas relacionadas aos subtipos de CPV-2.

Nesta pesquisa o número de animais estudados foi estatisticamente baixo (vinte e oito), inicialmente haviam quarenta cães no projeto, porém doze deles não atenderam aos critérios de inclusão. Embora o número da amostra seja limitado, observou-se que pelos dados que conseguimos, a cepa CPV-2a se mostrou mais patogênica do que a cepa CPV-2b, no entanto não podemos fazer afirmações sobre a cepa CPV-2 c, já que apenas um cão foi infectado por esse subtipo viral.

Nas avaliações, foi possível constatar a relação entre a enterite parvoviral e a miocardite secundária a sepse. Os cães foram classificados no quadro clínico de sepse baseados nos critérios de SIRS e SOFA modificado. Esses dados auxiliaram na previsão de prognóstico, associado ao exame físico no período pelo qual os cães permaneceram na internação.

A miocardite em filhotes infectados pelo parvovírus canino pode ocorrer durante a vida uterina ou nas primeiras semanas após o nascimento, os cães que sobrevivem às complicações cardíacas podem desenvolver alterações miocárdicas crônicas como a cardiomiopatia dilatada, insuficiência cardíaca congestiva e morte súbita.

As dosagens séricas de creatina quinase (CK) se mostraram elevadas em todos os pacientes do projeto. Essa observação foi útil para associar os valores totais de CK com lesões cardíacas e entéricas, constatando-se o papel de marcador de lesão intestinal exercida pelo CK.

São necessários maiores estudos a respeito da relação entre a gravidade clínica da enterite parvoviral com o tipo de cepa do CPV-2, para assim obter maiores dados epidemiológicos sobre o parvovírus.

REFERÊNCIAS

ADIN DB, OYAMA MA, SLEEPER MM, MILNER RJ. Comparison of canine cardiac troponin I concentrations as determined by 3 analyzers. *J Vet Intern Med.* Sep-Oct;20(5):1136-42, 2006.

AGUNGPRIYONO DR, UCHIDA K, TABARU H, YAMAGUCHI R, TATEYAMA S. Subacute massive necrotizing myocarditis by canine parvovirus type 2 infection with diffuse leukoencephalomalacia in a puppy. *Vet Pathol.* Jan;36(1):77-80, 1999.

AKTAS M, AUGUSTE D, LEFEBVRE HP, TOUTAIN PL, BRAUN JP. Creatine kinase in the dog: a review. *Vet Res Commun;*17(5):353-69, 1993.

ALVES F, PRATA S, NUNES T, GOMES J, AGUIAR S, AIRES DA SILVA F, TAVARES L, ALMEIDA V, GIL S. Canine parvovirus: a predicting canine model for sepsis. *BMC Vet Res.* Jun 15;16(1):199, 2020.

BONAGURA JD, VISSER LC. Echocardiographic assessment of dilated cardiomyopathy in dogs. *J Vet Cardiol.* Apr;40:15-50, 2022.

BOON JA: *Veterinary Echocardiography*. 2nd edition. Baltimore: John Wiley & Sons; 2011.

BUONAVOGLIA C., MARTELLA V., PRATELLI A., TEMPESTA M., CAVALLI A., BUONAVOGLIA D., BOZZO G., ELIA G., DECARO N. & CARMICHAEL L. Evidence for evolution of canine parvovirus type-2 in Italy. *J Gen Virol*, 82, 1555-1560, 2001.

BURCHELL RK, SCHOEMAN JP, LEISEWITZ AL. The central role of chloride in the metabolic acid-base changes in canine parvoviral enteritis. *Vet J.* Apr;200(1):152-6, 2014.

CAMPOS FILHO O, ZIELINSKY P, ORTIZ J, MACIEL BC, ANDRADE JL, MATHIAS JR. W, et al. Diretriz para Indicações e Utilização da Ecocardiografia na Prática Clínica. *Arq Bras Cardiol;* 82:11–34, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0066-782X2004000800002>. Acesso em 13 de abril de 2024.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. *Clinical biochemistry of domestic animals*. [s.l.] Academic press, 2008.

CHANG CC, LIOU CB, SU MJ, LEE YC, LIANG CT, HO JL, TSAI HW, YEN TH, CHU FY. Creatine Kinase (CK)-MB-to-Total-CK Ratio: a Laboratory Indicator for Primary Cancer Screening. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16(15):6599-603, 2015.

CHEN S., CHAO T., CHIANG M., KUO S., CHEN L., YIN T., CHEN T., FUNG C.: Prediction of patient outcome from *Acinetobacter baumannii* bacteremia with Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) and Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II Scores. *Intern. Med.* , 50: 871 – 877, 2011.

CHOLONGITAS E., SENZOLO M., PATCH D., SHAW S., HUI C., BURROUGHS A. K.: Review article: scoring systems for assessing prognosis in critically ill adult cirrhotics. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 24: 453 – 464, 2006.

DE ABREU CB, MUZZI RAL, DE OLIVEIRA LED, SCHULIEN T, COELHO MR, ALVES LA, HIRSCH C, DORNELES EMS, PINTO AMBG, BARRETO MSO, MUZZI LAL, NOGUEIRA RB. Systolic dysfunction by two-dimensional speckle tracking echocardiography in dogs with parvoviral enteritis. *J Vet Cardiol.* Apr;34:93-104, 2021.

De Campos T., Cerqueira C., Kuryura L., Parreira J. G., Soldà S., Perlingeiro J. A. G., Assef J. C., Rasslan S.: Morbimortality indicators in severe acute pancreatitis. *J. Pancreas* 9: 690 – 697, 2008.

DE OLIVEIRA PSB, CARGNELUTTI JF, MASUDA EK, WEIBLEN R, FLORES EF. New variants of canine parvovirus in dogs in southern Brazil. *Arch Virol.* May;164(5):1361-1369, 2019.

DECARO N, BUONAVOGLIA C. Canine parvovirus--a review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. *Vet Microbiol.* Feb 24;155(1):1-12, 2012.

DEMA, A., GANJI, V.K., YELLA, N.R. et al. A novel one-step amplification refractory mutation system PCR (ARMS-PCR) for differentiation of canine parvovirus-2 variants. *Virus Genes* 57, 426–433, 2021. Disponível em <https://doi.org/10.1007/s11262-021-01861-w>. Acesso em 3 de janeiro de 2023.

DINES B, KELLIHAN H, ALLEN C, LOYNACHAN A, BOCHSLER P, NEWBURY S. Case report: long-term survival in puppies assessed with echocardiography, electrocardiography and cardiac troponin i after acute death in littermates due to parvoviral myocarditis. *Front vet sci.* 2023 aug 14;10:1229756, 2023.

DOERR F., BADRELDIN A. M. A., HELDWEIN M. B., BOSSERT T., RICHTER M., LEHMANN T., BAYER O., HEKMAT K.: A comparative study of four intensive care outcome prediction models in cardiac surgery patients. *J. Cardiothorac. Surg.*, 6: 21 – 28, 2011.

GULERSOY E, OK M, YILDIZ R, KORAL E, IDER M, SEVINC M, ZHUNUSHOVA A. Assessment of intestinal and cardiac-related biomarkers in dogs with parvoviral enteritis. *Pol J Vet Sci.* Jun;23(2):211-219, 2020.

EXCOFFIER, L. & LISCHER, H.E.L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10: 564-567, 2010.

FARAJI R, MOSTAFAVI B, SADEGHI M, DECARO N, VASINIOTI V, DESARIO C, MIRAEI-ASHTIANI SR, MOZHGANI SH. Genomic characterization and phylogenetic evolution of the canine parvoviruses in Iranian dogs, a nationwide study: CPV evolutionary analysis in Iran. *Acta Trop.*, v.244, 2023.

FAUST, E.C; RUSSELL, P.F; JUNG, R.C. Parasitologia Clínica. Salvat. Barcelona: 8º edição, 888p, 1974.

FEITOSA, Francisco Leydson F. (Org.). Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico. 3. ed. São Paulo: Roca, 627 . p.27-35, 2017.

FLORES-SOMARRIBA, B., SAÉNZ, J., GUTIÉRREZ-SOZA, J., SHELEBY-ELÍAS, J., FUERTES-NEGRO, H., & HALIHEL-KASSAB, N. Identificación de parvovirus canino tipo 2C en cachorros de Nicaragua. *Revista MVZ Córdoba*, 25(2), e1788, 2020.

FORD J, MCENDAFFER L, RENSHAW R, MOLESAN A, KELLY K. Parvovirus Infection Is Associated With Myocarditis and Myocardial Fibrosis in Young Dogs. *Vet Pathol*. Nov; 54(6):964-971, 2017.

FRANZO G, MIRA F, SCHIRÒ G, CANUTI M. Not Asian Anymore: Reconstruction of the History, Evolution, and Dispersal of the "Asian" Lineage of CPV-2c. *Viruses*. Sep 20;15(9):1962, 2023.

GERLACH M, PROKSCH AL, DÖRFELT R, UNTERER S, HARTMANN K. Therapie der kaninen Parvovirose – Übersicht und aktuelle Erkenntnisse [Therapy of canine parvovirus infection - review and current insights]. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere*. Feb;48(1):26-37. German, 2020.

GULERSOY E, OK M, YILDIZ R, KORAL E, IDER M, SEVINC M, ZHUNUSHOVA A. Assessment of intestinal and cardiac-related biomarkers in dogs with parvoviral enteritis. *Pol J Vet Sci*. Jun;23(2):211-219, 2020.

HONG, C.; DECARO, N.; DESARIO, C.; TANNER, P., PARDO, M.C.; SANCHEZ, S.; W Se Co BUONAVOGLIA, C.; SALIKI, J.T. Ocomence of canine parvovirus type 2c in the United States. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, n. 19, p. 535-539, 2007.

JAIN, N.C. Essentials of Veterinary Hematology. *Lea and Febiger*, Philadelphia, 76-250, 1993.

JANSSENS U., GRAF C., GRAF J., RADKE P. W., KONIGS B., KOCK K. C., LEPPER W., VOM DAHL J., HANRATH P: Evaluation of the SOFA score: a single-center experience of a medical intensive care unit in 303 consecutive patients with predominantly cardiovascular disorders. *Intensive Care Med.*, 26: 1037 – 1045, 2000.

JAIN, N. C. Essential of veterinary hematology. copyrights by Lea and Febiger Philadelphia. USA, 1993

JANE E. SYKES. Immunodeficiencies Caused by Infectious Diseases. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, Volume 40, Issue 3, Pages 409-423, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195561610000197>. Acesso em 30 de março de 2024.

JOMBART T, BALLOUX F, DRAY S. ADEPHYLO. New tools for investigating the phylogenetic signal in biological traits. *Bioinformatics*, 1;26(15):1907-9, Aug, 2010.

JOSEPH J, CARDESA A, CARRERAS J. Creatine kinase activity and isoenzymes in lung, colon and liver carcinomas. *Br j cancer*. 1997;76(5):600-5, 1997.

KARSTEN E. SCHOBER, BABETT KIRBACH, GERHARD OECHTERING. Noninvasive assessment of myocardial cell injury in dogs with suspected cardiac contusion. *Journal of Veterinary Cardiology*, Volume 1, Issue 2, p. 17-25, 1999.

KAUR G, CHANDRA M, DWIVEDI PN, NARANG D. Multiplex real-time PCR for identification of canine parvovirus antigenic types. *J Virol Methods*, 233:1-5, 2016.

KOCATURK M, MARTINEZ S, ERALP O, TVARIJONAVICIUTE A, CERON J, YILMAZ Z. Tei index (myocardial performance index) and cardiac biomarkers in dogs with parvoviral enteritis. *Res Vet Sci*. Feb;92(1):24-9, 2012.

LÊ, S.; JOSSE, J.; HUSSON, F. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*, v. 25, n. 1, 2008.

LI L, CHEN C, LIANG H, DONG W, LEONTIEV VN, VOYTOV IV. Development of a time-resolved fluorescence immunoassay kit for detecting canine coronavirus and parvovirus through double labeling. *Virol J*. Mar 11;21(1):64, 2024.

MANTIONE NL, OTTO CM. Characterization of the use of antiemetic agents in dogs with parvoviral enteritis treated at a veterinary teaching hospital: 77 cases (1997-2000). *J Am Vet Med Assoc*;227(11):1787-93, 2005.

MAZZAFERRO EM. Update on Canine Parvoviral Enteritis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. Nov;50(6):1307-1325, 2020.

MEGID J., RIBEIRO MG, PAES AC. Doenças Infeciosas em Animais de Produção e de Companhia. E 1, Botucatu SP, editora Roca, 2016.

MIETZSCH, M, JUDIT J. P., AGBANDJE-MCKENNA, M. Twenty-Five Years of Structural Parvovirology. *Viruses*, 11, n. 4: 362, 2019. Disponível em <https://doi.org/10.3390/v11040362> 2019. Acesso 4 de janeiro de 2023.

MIRA F, SCHIRÒ G, FRANZO G, CANUTI M, PURPARI G, GIUDICE E, DECARO N, VICARI D, ANTOCI F, CASTRONOVO C, GUERCIO A. Molecular epidemiology of canine parvovirus type 2 in Sicily, southern Italy: A geographical island, an epidemiological continuum. *Heliyon*. Feb 17;10(4):e26561, 2024.

MIRANDA C, THOMPSON G. Canine parvovirus: the worldwide occurrence of antigenic variants. *J Gen Virol*. Sep;97(9):2043-2057, 2016.

MYLONAKIS ME, KALLI I, RALLIS TS. Canine parvoviral enteritis: an update on the clinical diagnosis, treatment, and prevention. *Vet Med (Auckl)*. Jul 11;7:91-100, 2016.

MOLESAN A, GOODMAN L, FORD J, LOVERING SJ, KELLY K. The Causes of Canine Myocarditis and Myocardial Fibrosis Are Elusive by Targeted Molecular Testing: Retrospective Analysis and Literature Review. *Vet Pathol.* Sep;56(5):761-777, 2019.

MOHR AJ, LEISEWITZ AL, JACOBSON LS, STEINER JM, RUAUX CG, WILLIAMS DA. Effect of early enteral nutrition on intestinal permeability, intestinal protein loss, and outcome in dogs with severe parvoviral enteritis. *J Vet Intern Med.* Nov-Dec;17(6):791-8, 2003.

NAKAMURA, M.; TOHYA, Y.; MIYAZAWA, T.; MOCHIZUKI, M.; PHUNG, H.T.; NGUYEN, N.P.; HUYNH, L.M.; NGUYEN, L.T.; NGUYEN, P.N.; NGUYEN, P.V.; NGUYEN, N.P.; AKASHI, H. A novel antigenic variant of canine parvovirus from a Vietnamese dog. *Archives of Virology*, v. 149, p. 2261-2269, 2004.

OIKONOMIDIS IL, THEODOROU K, PAPAIOANNOU E, XENOULIS PG, ADAMAMA-MORAITOU KK, STEINER JM, KRITSEPI-KONSTANTINO M, SUCHODOLSKI JS, RALLIS T, SOUBASIS N. Serial measurement of cardiac troponin I in hospitalised dogs with canine parvoviral enteritis: Association with outcome and canine pancreas-specific lipase concentration. *Res Vet Sci.* Apr; 157:1-5, 2023.

OLIVER W & GIUGLIANO RP. Benefit of Combination Ezetimibe/Simvastatin Among High-Risk Populations: Lessons from the IMPROVE-IT Trial. *Curr Atheroscler Rep.* Mar;25(3):85-93, 2023.

PAVARINI, S. P., OLIVEIRA, E. D., SANTOS, A. D. S., PESCADOR, C. A., SONNE, L., CORBELLINI, L. G., & DRIEMEIER, D. Análise imuno-histoquímica de cães naturalmente infectados pelo parvovírus canino. *Pesquisa veterinária brasileira.* Rio de Janeiro, RJ. Vol. 29, n. 2, p. 131-136, fev, 2009.

PÉREZ, R.; FRANCIA, L.; ROMERO, V.; MAYA, L. First detection of canine parvovirus type 2e in South America. *Veterinary Microbiology*, n. 124, p. 147-152, 2007.

PARKER J, RAMBAUT A, PYBUS OG. Correlating viral phenotypes with phylogeny: accounting for phylogenetic uncertainty. *Infect Genet Evol.* May;8(3):239-46, 2008.

PAUL BR, KUMAR DE U, SARKAR VK, GANDHAR JS, PATRA MK, SINGH MK, SONI S, EREGOWDA CG. Prognostic Potential of Thrombocyte Indices, Acute Phase Proteins, Electrolytes and Acid-Base Markers in Canine Parvovirus Infected Dogs with Systemic Inflammatory Response Syndrome. *Top Companion Anim Med.* 2023 Sep-Dec;56-57:100803, 2023.

PEREIRA C.A., MONEZI T.A., MEHNERT D.U., D'ANGELO M. & DURIGON E.L. Molecular characterization of canine parvovirus in Brazil by polymerase chain reaction assay. *Vet Microbiol*, 75, 127-133, 2000.

QI S, ZHAO J, GUO D, SUN D. A Mini-Review on the Epidemiology of Canine Parvovirus in China. *Front Vet Sci.* 20;7:5, fev, 2020.

RIPANTI D, DINO G, PIOVANO G, FARCA A. Application of the Sequential Organ Failure Assessment Score to predict outcome in critically ill dogs: preliminary results. *Schweiz Arch Tierheilkd*. 2012aug;154(8):325-30, 2012.

R CORE TEAM. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. Viena, 2024. Disponível em: < <https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 9 de agosto de 2024.

ROSS MA, KOHUT L, LOUGHRAN PA. Cryosectioning. *Curr Protoc*, (1):e342, jan, 2022.

SAMBROOK J., FRITSCH E.F. & MANIATIS T. *Molecular Cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2nd ed. N.Y., 1989.

SEGEV G, YAARAN T, MAURICE S, BANETH G. Effect of sampling site on the diagnosis of canine parvovirus infection in dogs using polymerase chain reaction. *J Vet Intern Med*, 36(2):591-598. Jan, 2022.

SIME TA, POWELL LL, SCHILDT JC, OLSON EJ. Parvoviral myocarditis in a 5-week-old Dachshund. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. 25(6):765-9, 2015.

SINGER M, DEUTSCHMAN CS, SEYMOUR CW, SHANKAR-HARI M, ANNANE D, BAUER M, BELLOMO R, BERNARD GR, CHICHE JD, COOPERSMITH CM, HOTCHKISS RS, LEVY MM, MARSHALL JC, MARTIN GS, OPAL SM, RUBENFELD GD, VAN DER POLL T, VINCENT JL, ANGUS DC. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *Jama*. Feb 23;315(8):801-10, 2016.

STANDER N, WAGNER WM, GODDARD A, KIRBERGER RM. Ultrasonographic appearance of canine parvoviral enteritis in puppies. *Vet Radiol Ultrasound*. Feb;51(1):69-74, 2010.

STRECK, A. et al. First detection of canine parvovirus type 2c in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, v. 40, p. 465-469, 2009.

TILLEY, L.P.; GOODWIN, J.K. *Manual of canine and feline cardiology*. 3.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, p.337-344, 2002.

TURLEY K, BRACKER K, FERNAN C, GAO E, ORSKY A, YANG D, SINNOTT-STUTZMAN V. A comparison of the Sepsis-2 and Sepsis-3 definitions for assessment of mortality risk in dogs with parvovirus. *J Vet Emerg Crit Care (San Antonio)*. Mar;33(2):208-216, 2023.

TRUYEN U. Evolution of canine parvovirus--a need for new vaccines? *Vet Microbiol*. Oct 5;117(1):9-13, 2006.

WILLIS, H. Hastings et al. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. *Medical Journal of Australia*, v. 2, n. 18, 1921.

YAZLIK MO, MUTLUER İ, YILDIRIM M, KAYA U, ÇOLAKOĞLU HE, VURAL MR. The evaluation of SIRS status with hemato-biochemical indices in bitches affected from pyometra and the Usefulness of these indices as a potential diagnostic tool. *Theriogenology*. Nov; 193:120-12, 2022.

YI L, TONG M, CHENG Y, SONG W, CHENG S. Phylogenetic Analysis of Canine Parvovirus VP2 Gene in China. *Transbound Emerg Dis*, 63(2):e262-9, 2016.

ZHANG Y, LIU M, ZHANG C, ZOU Y, KANG L, SONG L. Role of Biomarkers of Myocardial Injury to Predict Adverse Outcomes in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. Feb;17(2):e010243, 2024.

ZHANG, Z.; CASTELLÓ, A. Principal components analysis in clinical studies. *Annals of Translational Medicine*, v. 5, n. 17, p. 351–351, set. 2017.