

Epidemiologia da Norovirose e Estudo do Papel do Cão como Reservatório para este Agente Zoonótico

Norovirus Epidemiology and Study of Role of the Dog as a Reservoir for this Zoonotic Agent

Raphael Rogger Vieira^{*a}; Helen Cristina Gomes de Lima^a; Paulo Victor Braga de Almeida Santos^a; Natalino Francisco da Silva^b; Gabriela Darold^b; Michele Lunardi^b; Ana Helena Benetti^c; Alexandre Mendes Amude^b

^aUniversidade Federal de Mato Grosso. MT, Brasil.

^bUniversidade de Cuiabá, Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Biociência Animal. MT, Brasil.

^cUniversidade de Cuiabá. MT, Brasil.

*E-mail: raphaelr.vieira@gmail.com

Resumo

Os norovírus foram os primeiros agentes virais ligados a doenças gastrointestinais em humanos. Por muito tempo, foram considerados como causa secundária de gastroenterite, após o rotavírus. O desenvolvimento de técnicas moleculares favoreceu dados mais claros sobre o impacto epidemiológico dos norovírus, que são atualmente reconhecidos como principal causa de surtos de gastroenterite não bacteriana esporádica em crianças e adultos. Em análise da diversidade genética e recombinação dos norovírus sabe-se que os mesmos estão presentes em várias espécies animais, incluindo os cães, o que denota na possível exposição dos seres humanos a estas novas cepas recém-descobertas. Devido à intensa relação social atualmente observada entre humanos e animais de estimação, sugerem-se novas investigações sobre o potencial zoonótico deste norovírus. O método de pesquisa utilizado neste trabalho foi uma revisão de literatura, que teve como objetivo revisar toda literatura atual sobre a epidemiologia e relevância do cão como potencial reservatório para este agente. Ainda são poucos os relatos sobre a presença do norovírus em cães, que podem apresentar um potencial de transferência zoonótica, porém devido à sua maior proximidade com os seres humanos na atualidade, considera-se a importância de novos estudos para avaliar o papel do cão como reservatório do norovírus, em especial no Brasil, pela inexistência de relatos até o presente momento.

Palavras-chave: Cães. Gastroenterite não Bacteriana. Risco Zoonótico.

Abstract

Noroviruses were the first viral agents linked to gastrointestinal diseases in humans. For a long time, they were considered as secondary cause of gastroenteritis after rotavirus. The development of molecular techniques has favored data on the epidemiological impact of noroviruses, which are currently recognized as the main cause of outbreaks of sporadic non-bacterial gastroenteritis in children and adults. In analyzing the genetic diversity and recombination of noroviruses it is known that they are present in several animal species, including dogs, which denotes the possible exposure of humans to these newly discovered strains. Due to the intense social relationship currently observed between humans and pets, further research on the zoonotic potential of this norovirus is suggested. The research method used is a review of the literature, which aimed to review all current literature on the epidemiology and relevance of the dog as potential reservoir for this agent. There are still few reports on the presence of norovirus in dogs, which may present a potential for zoonotic transfer, but due to its greater proximity to humans nowadays, the importance of new studies to evaluate the role of the dog as norovirus reservoir, especially in Brazil, due to the lack of reports to date.

Keywords: Dog. Nonbacterial Gastroenteritis. Zoonotic Potential.

1 Introdução

As norovirose são consideradas a causa mais comum de surtos de gastroenterite não-bacteriana em humanos de todas as idades, particularmente crianças, em todo o mundo. Casos esporádicos da doença são comumente relatados em ambientes como restaurantes, escolas, creches, hospitais, asilos e cruzeiros marítimos. Dentre a população suscetível, os idosos estão entre os mais acometidos; geralmente, a doença se apresenta de forma mais grave nesses indivíduos, nos imunocomprometidos e nas crianças. Em países industrializados, os norovírus (NoV) destacam-se como o segundo agente viral mais comum de gastroenterite em crianças, estando em primeiro lugar o rotavírus (DONALDSON *et al.*, 2008).

Os membros dos gêneros *Sapovirus* e *Norovirus* são

considerados os agentes patogênicos de maior importância incluídos na família *Caliciviridae*. Ambos estão associados com distúrbios entéricos em seres humanos (FANKHAUSER *et al.*, 1998; CHIBA *et al.*, 2000) e animais (VAN DER POEL *et al.*, 2000), podendo também ser identificados em portadores assintomáticos (MONICA *et al.*, 2007). Os calicivírus podem infectar diversas classes de animais como mamíferos (caninos, felinos, suínos, leporinos, símios, bovinos, martas), aves, répteis, anfíbios e insetos, e estão associados a várias afecções, tais como doenças respiratórias, lesões vesiculares, hepatite necrosante e gastroenterite (VAN DER POEL *et al.*, 2000).

A técnica molecular RT-PCR (Transcriptase Reversa seguida de Reação em cadeia da Polimerase) tem se tornado um dos principais meios de diagnóstico para a detecção

de NoV humano, animal e em amostras ambientais. Duas estratégias têm sido comumente utilizadas para a identificação dos NoVs: a primeira é o emprego de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) específicos para cepas virais da espécie. A segunda é a utilização de *primers* que amplificam regiões conservadas de genes dos calicivírus (NoV e SaV) de cepas humanas e de outras espécies animais. Vários fatores afetam a sensibilidade e especificidade da RT-PCR, como por exemplo, a qualidade da amostra, o método de extração e purificação do ácido nucléico utilizado, a seleção dos *primers* e o método de confirmação da especificidade das ampliações (ATMAR; ESTES, 2006; WANG *et al.*, 2005).

A transmissão dos NoV humanos ocorre predominantemente pela via fecal-oral. A contaminação fecal em alimentos, água, fômites e o contato direto (pessoa-pessoa) são responsáveis pela ocorrência da maioria dos surtos de gastroenterite determinados por este vírus. Estudos experimentais sugerem que a transmissão de partículas virais presentes em aerossóis originados pelo vômito também pode ocorrer. Os alimentos podem estar contaminados com partículas virais desde a sua produção ou colheita, como no caso de ostras (sem o envolvimento de vetores), ou são contaminados no local da preparação, por meio da manipulação por pessoas infectadas (GREEN, 2007). Em seres humanos a transmissão de NoV através da ingestão de moluscos e ostras contaminados já foi relatada. Surtos de infecção em cruzeiros marítimos e alojamentos improvisados devido a desastres ambientais também são descritos (COSTANTINI *et al.*, 2010).

Morfologicamente os NoV são classificados como vírus de estrutura circular e pequena, têm a característica de apenas se propagarem em cultivos celulares específicos como células dendríticas e macrófagos (DUIZER *et al.*, 2004; WOBUS; THACKRAY; VIRGIN, 2006). Com base nas características moleculares, as cepas de NoV são divididas em cinco genogrupos (ZHENG *et al.*, 2006). Os membros dos genogrupos I, II e IV são causadores de surtos de gastroenterite em seres humanos. Porém, cepas isoladas de amostras de fezes de suínos demonstraram maior similaridade genética com as de NoV humanos do GII. As cepas de NoV bovinos estão classificadas no GIII, separado em dois genótipos cujos protótipos são o Jena vírus e o Newbury Agent-2. Os Genogrupo IV são os NoV canino, os NoV de ratos são classificados no GV (DASTJERDI *et al.*, 1999).

A infecção contínua pelo NoV pode ser resultado da dificuldade de eliminação do vírus, pela alta resistência a desinfetantes e pela baixa dose infectante (<10 a 100 vírions) (ATMAR; ESTES, 2006). Infecções virais mistas podem ser muito comuns e, por muitas vezes, responsáveis pelo quadro clínico. Patel *et al.* (2008) relataram que infecções mistas pelos sapovírus, norovírus e astrovírus foram as responsáveis por quadros de gastroenterite aguda na Argentina, Espanha, Finlândia, Holanda, Hungria, Inglaterra, Japão, Paquistão e Rússia.

No Brasil, sapovírus humanos (HuSaVs) foram descritos em crianças com quadro de gastroenterite em Salvador/BA e também em crianças entre 24 e 30 meses de idade, com grave quadro de diarreia aguda, na cidade de Belém/PA. Estes estudos foram realizados com crianças que tinham acesso precário a boas condições sanitárias (ARAGÃO *et al.*, 2010).

Frente a essas circunstâncias, o objetivo deste trabalho é revisar toda literatura atual sobre a epidemiologia e relevância do cão como potencial reservatório para este agente.

2 Desenvolvimento

2.1 Metodologia

No que concerne ao estudo ao Norovírus e do cão como potencial reservatório para este agente zoonótico foram utilizados livros e artigos em periódicos que abordavam o estudo do histórico, classificação do agente, epidemiologia, forma clínica da doença, métodos diagnósticos e relatos de surtos da doença, conforme indicado por profissionais do Ensino Superior, contudo, detendo-se apenas às informações relativas ao objetivo da pesquisa.

Concomitantemente, foi realizada uma busca por artigos, na Biblioteca Virtual de Saúde (BVS), US National Library of Medicine National Institutes of Health (PubMed), Scientific Electronic Library Online (SciELO): Norovírus em humanos; Norovírus em cães; métodos de diagnóstico; surtos de gastroenterites associadas ao norovírus.

Desse modo, foram selecionados artigos em texto completo, publicados em território nacional e internacional, no período de 1929 a 2015, nos idiomas inglês, espanhol e português. As bases de dados pesquisadas foram: Medline; Lilacs e Scielo, consistindo para a amostra final um total de 88 artigos.

2.2 Histórico

A primeira descrição da norovirose se fez como “doença do vômito de inverno” (“*winter vomiting disease*”) por Zahorsky (1929), caracteriza por início súbito de vômito auto limitante e diarreia que predominantemente ocorria durante os meses mais frios. Porém, somente em 1972 foi possível descobrir o agente através de microscopia eletrônica (ME), após voluntários serem submetidos a filtrados fecais coletados de um surto de gastroenterite não bacteriana em Norwalk, Ohio (EUA) em 1968. Kapikian *et al.* (1972) identificaram a etiologia da síndrome como “vírus de Norwalk”, partícula viral pequena com 27 nanômetro (nm) de tamanho, arredondada; foram observados nos filtrados fecais de ambos os grupos, indivíduos infectados naturalmente e experimentalmente, determinado o agente etiológico da gastroenterite não bacteriana.

A descoberta de calicivírus geneticamente semelhantes aos NoV humanos em animais domésticos indica a possibilidade de que algumas espécies de animais possam atuar como reservatório do vírus para seres humanos, assim

como a sua transmissão zoonótica (WOBUS; THACKRAY; VIRGIN, 2006). Martella *et al.* (2008), em estudo com cães filhotes apresentando gastroenterite, detectaram a presença de um novo calicivírus, relatado como “GIV Norovírus”, com características genéticas semelhantes às do Norovírus humano (GIV).

2.3 Classificação do norovírus

O norovírus anteriormente denominado “Vírus Tipo Norwalk”, pertence à família Caliciviridae. Assim como outros três gêneros pertencentes a esta família: Sapovirus, Lagovirus, Versivirus, norovirus e um quinto gênero atualmente adicionado à família Caliciviridae Nebovirus (GREEN *et al.*, 2000).

O gênero norovirus engloba 5 genogrupos distintos: GI Humanos, GII Humanos e Suínos, GIII Bovinos, GIV Humanos e Caninos e GV Roedores. Os genogrupos (GI-GV) de norovirus ainda são divididos em genotipos e suas variantes (sub-genotipos), determinada com base na diversidade das suas sequências genômicas (ZHENG *et al.*, 2006). A definição dos genogrupos utiliza como critério a diversidade de aminoácidos das 3 fases abertas de leitura (ORFs) as regiões de RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) e VP1. Os 5 genogrupos foram definidos com base na proteína VP1 divergente. Os genotipos são definidos com base na sequência de RdRp ou da sequência de proteínas do capsídeo (GREEN *et al.*, 1994; OLIVER *et al.*, 2003).

2.4 Estrutura e organização genômica dos norovírus

Os norovírus humanos e animais não possuem envelope lipídico, apresentam formato esférico com partículas estruturais de superfície indistintas. Estudos do HuNoVs relevam que possui um capsídeo composto de 180 cópias de uma única proteína e sua arquitetura é baseada em uma simetria icosaédrica $T = 3$ com 90 dímeros. Sua superfície apresenta 32 depressões com formato de xícara e arcos proeminentes (PRASAD *et al.*, 1999).

O norovírus possui um genoma RNA de cadeia simples polaridade positiva, poliadenilado com aproximadamente 7,5 kb de extensão abrangendo 3 ORFs 1-3 (DINGLE *et al.*, 1995). ORF1 (aproximadamente 5,5 kb) codifica um polipeptídeo de seis proteínas não estruturais, incluindo RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), que é essencial para a replicação viral (JIANG *et al.*, 1993). A ORF2 codifica a maior proteína do capsídeo, VP1, que consiste em uma concha (S) e duas protrusões (P) P1 a P2. A ORF3 codifica a menor proteína do capsídeo, VP2, que desempenha um papel no aumento da produção da estabilidade de VP1 (BULL *et al.*, 2005).

2.5 Ciclo replicativo - interação entre vírus e célula

A norovirose é uma infecção que ocorre no trato gastrointestinal, especificamente no intestino delgado, mas nenhum estudo identificou o norovírus nos enterócitos

de animais. A replicação do Nov pode não ser restrita ao enterócito. O norovírus murino revelou tropismo inesperado para linhagens hematopoiéticas, em particular macrófagos e células dendríticas (WOBUS *et al.*, 2004). Os norovírus humanos reconhecem carboidratos, anticorpos e antígenos do grupo sanguíneo (HBGAs), como receptores (HUTSON *et al.*, 2002). A região C-terminal (domínio P) da proteína do capsídeo está envolvida nessa ligação (TAN; JIANG, 2005).

Estes carboidratos estão amplamente presentes na maioria dos mamíferos, que expressam tais oligossacarídeos em seus tecidos (MARIONNEAU *et al.*, 2001). Os receptores para animais ainda não foram elucidados, mas pode se supor que tais moléculas estão envolvidas. Esta hipótese se apoia nos achados em outros calicivírus. Um exemplo deste é o vírus que causa doença hemorrágica em coelhos, um lagovírus, que se liga aos antígenos da família ABH dos antígenos do grupo sanguíneo (RUVOEN-CLOUET *et al.*, 2000).

Curiosamente, as ostras, muitas vezes utilizadas na alimentação humana, expressam carboidratos estreitamente relacionados com HBGAs nos seus tecidos digestivos, nos quais os norovírus humanos poderiam se ligar, permitindo a infecção quando consumida (GUYADER *et al.*, 2006). In vitro, as partículas virais do tipo HuNoV foram capazes de se ligarem a lavados gastrointestinais de suínos dispersos em placas (TIAN *et al.*, 2007). Além disso, as ligações de HuNoV em tecidos do intestino de suínos foram relatadas in vivo com alguma indicação de replicação (CHEETHAM *et al.*, 2007).

2.6 Epidemiologia das noroviroses no mundo e no Brasil

Estima-se que a cada ano as noroviroses sejam responsáveis por 64.000 episódios de diarreia que requerem hospitalização, de 900.000 visitas de crianças a clínicas em países industrializados e até 200.000 mortes de crianças menores de 5 anos nos países em desenvolvimento (PATEL *et al.*, 2008). No Brasil, a prevalência das noroviroses em comunidades, hospitais ou creches varia entre 9 e 40% (MORILLO; TAVARES-TIMENETSKY, 2011).

Desde a sua descoberta, os Norovírus são associados a surtos de gastroenterites não bacterianas em todo o mundo; entre os casos mais recentes estão infecção por Norovírus e Rotavírus em crianças com menos de cinco anos em um hospital pediátrico, Havana, Cuba (RIBAS *et al.*, 2015).

Segundo Fernández *et al.* (2014), norovírus é a principal causa de diarreia viral em duas regiões da Colômbia, Chocó e Cundinamarca, onde infecções por norovírus foram superiores as de rotavírus. Diarreia em crianças de aldeias Afrodescendentes (Quilombolas), no Norte do Brasil, onde infecções associadas ao norovírus prevalecem em 19% dos casos, também foram descritas por Aragão *et al.* (2013).

No Estado de São Paulo, Brasil, durante o verão de 1995, ocorreu um surto de gastroenterites que acometeu cerca de 3.500 pessoas. Análises pela microscopia eletrônica (ME) de amostras de fezes provenientes desse surto detectaram partículas virais identificadas como Norwalk-like pela

Imunomicroscopia Eletrônica (IME). Essas amostras foram posteriormente analisadas por RT-PCR e sequenciamento e caracterizadas como calicivírus do tipo SMA (Snow Mountain Agent), atualmente denominado NoV, genogrupo GII (TIMENETSKY *et al.*, 1993; CASTILHO *et al.*, 2006). Ainda no Estado de São Paulo, em 2005, ocorreram vários surtos de gastroenterites em crianças e adolescentes, e os NoVs foram detectados em 21,4% das amostras, seguidos pelos rotavírus, com 14,5%, os astrovírus, com 13,2% e os adenovírus, com 2,1% (CASTILHO *et al.*, 2006).

Durante os anos de 2005 a 2008, um estudo de vigilância de NoV foi realizado no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Um total de 1.087 amostras fecais foi analisado e cerca de 35% foram positivas para NoV, com prevalência de 96% do genogrupo GII e 80% de GII.4; Posteriormente foi descrita a necessidade de implantação do diagnóstico para NoV nos laboratórios de vigilância (FERREIRA *et al.*, 2010).

De acordo com Amaral *et al.* (2015), crianças entre 0 a 18 meses de idade hospitalizadas com gastroenterite aguda, o norovírus se mostrou um importante patógeno causador de diarreia, com maior incidência entre os meses de fevereiro e abril de 2010 em Porto Velho - Rondônia.

2.7 Norovírus canino: cepas identificadas e soroprevalência

O primeiro relato de Norovírus canino (CNV) foi descrito em um cão com dois meses de idade com quadro de gastroenterite com quatro dias, na Itália em 2007 por Martella *et al.* (2008). O sequenciamento desse novo norovírus apresentou maior identidade genômica para o GIV.2 Lion Norovírus (90,1% de identidade de aminoácidos), contudo foi designado como membro do Genótipo GIV.2. Posteriormente em estudos epidemiológicos, identificado o CNV em fezes de cães em Portugal (MESQUITA *et al.*, 2010; MESQUITA; NASCIMENTO, 2011), Grécia (NTAFIS *et al.*, 2010), Ásia (SOMA *et al.*, 2015) e nos EUA (AZEVEDO *et al.*, 2012).

A doença induzida pela infecção por CNV é muito difícil de determinar. O CNV causa uma infecção ativa no trato gastrointestinal e um forte indicativo é a detecção em amostras de fezes durante 22 dias de infecção, como relatado por Martella *et al.*, (2008). No entanto, este caso foi co-infectado com parvovírus canino (CPV), um vírus causador de gastroenterite por infecções experimentais.

São relativamente comuns co-infecções entre o parvovírus canino ou coronavírus entérico em cães diagnosticados com norovírus canino (MARTELLA *et al.*, 2009; NTAFIS *et al.*, 2010), sendo difícil associar os sinais clínicos à CNV isoladamente. Ainda assim, o CNV pode ser identificado em associação com gastroenterite na ausência de outros patógenos detectáveis, mais a maioria dos estudos apenas detecta um número limitado de vírus (MARTELLA *et al.*, 2009).

Torna-se importante considerar a possibilidade de infecções subclínicas, já que houve detecção de CNV em fezes de animais saudáveis. Infecções experimentais serão necessárias para confirmar definitivamente o papel da CNV

na gastroenterite em cães (MESQUITA *et al.*, 2010).

O CNV é uma doença caracterizada por epidemiologia de distribuição sazonal relatada por Mesquita e Nascimento (2012), que constataram maior número de casos positivos de CNV no inverno do que em meses de primavera e outono; 36% (33/91) comparada a 25% (21/84) e 7% (6/81) respectivamente (MESQUITA; NASCIMENTO, 2012).

As cepas de norovírus canino, identificadas e caracterizadas são geneticamente heterogêneas. As cepas de CNV em Portugal apresentam menos de 65% de identidade de aminoácidos com os isolados de CNV na Itália e, portanto, pode se propor um novo genogrupo GVI para incluir também as cepas HuNoV (MESQUITA *et al.*, 2010). Nesta diversidade nas cepas de CNV é provável que 32 possam ter surgido da capacidade das cepas de CNV recombinarem com outros norovírus. Verificou-se a evidência de recombinação entre cepas de CNV (MARTELLA *et al.*, 2009).

2.8 Norovírus como potencial agente zoonótico

A semelhança genética encontrada nas identificações de norovírus específicos de animais com norovírus humano salientam a questão quanto ao seu potencial zoonótico. Os norovírus animais inclusos nos mesmos genogrupos que as cepas humanas teoricamente têm maior propensão eminente para infectar seres humanos, tendo como exemplo, as cepas GII humana e suína, e as cepas GIV humana e felina ou canina. Apesar disso, as cepas de norovírus suíno e canino são distintas das humanas, com menos de 86% de identidade de aminoácidos nas suas sequências de proteínas dos capsídeos; sendo assim os norovírus humanos e animais são agrupados em genótipos diferentes. Contudo, averiguou-se que os norovírus sofrem recombinações genicas (PHAN *et al.*, 2007).

Existe ainda a preocupação de que as cepas humanas e animais possam se recombinar gerando novas cepas. As informações de sequenciamento de vários milhares de cepas de norovírus obtidos de seres humanos infectados não encontraram sequências de norovírus suínos; no entanto o ácido ribonucleico (RNA) do GIV canino ou norovírus felino puderam ser detectados em amostras humanas (PALMER; BROWN; MORGAN, 2005).

Estudos sorológicos foram realizados para determinar se os anticorpos para o norovírus animais podem ser identificados nos seres humanos. Na Índia, a soroprevalência de anticorpos nos seres humanos apresenta, 10,7% para o norovírus bovino (MENON *et al.*, 2013) e nos Países Baixos a soroprevalência é ainda maior, 20% para norovírus bovino. Esta proporção aumentou para 28% entre os veterinários holandeses (WIDDOWSON *et al.*, 2005). A produção de anticorpos contra o norovírus bovino sugere que os seres humanos podem se infectar com o vírus, porém se o norovírus bovino pode realmente causar doença em seres humanos ainda não foi constatado. Não há relatos de estudos sorológicos para anticorpos de norovírus suíno no homem.

Segundo Martino *et al.* (2014), em um estudo, amostras

de soro foram coletadas de 533 humanos doentes que se encontravam hospitalizados, as mesmas foram analisadas pelo teste ELISA para a cepa VLP da cepa GIV.1 humano e uma VLP de lion GIV.2. No total das amostras analisadas, 28% foram reativas para às VLP do GIV, com 20% de reação ao GIV.1 e GIV.2 e 0,9% das amostras foram reativas apenas com GIV.2. Mais uma vez, essas características sugerem a hipótese de transmissão zoonótica da doença e aponta para a provável relação entre a evolução dos norovírus humanos e animais.

Supõe-se a hipótese de que a especificidade das espécies de norovírus pode ser atribuída pelos hidratos de carbono presentes na superfície celular ao quais as partículas virais se ligam, os norovírus humanos se ligam a um Grupo de Antígeno histo-sanguíneo (HBGAs) na superfície das células, um processo que desempenha um meio fundamental para entrada do vírus na célula. Os tipos de hidratos de carbono expressos pelas células de diferentes espécies animais pode variar significativamente, determinando desse modo a especificidade da ligação dos norovírus animais podendo proporcionar perspicácia sobre o risco zoonótico. Estudos sobre o fator de ligação celular dos norovírus do GIII identificaram o hidrato de carbono Gal α 1,3 com ligação para o norovírus bovino (ZAKHOUR *et al.*, 2009).

Segundo Martino *et al.* (2014), a enzima que sintetiza o Gal α 1,3 está presente em todas espécies de mamíferos, com exceção notável dos seres humanos. Isto sugere a impossibilidade do norovírus bovino conseguir se ligar às células intestinais humanas, e assim não podendo causar a infecção, o que é contrariado pelos estudos sorológicos descritos acima.

2.9 Infecção animal com norovírus humanos

Estudos revelam que os suínos estão regularmente expostos aos norovírus humanos. Um relatório dos EUA apresenta mais de 50% dos suínos soropositivos para GI e GII HuNoVs (FARKAS *et al.*, 2005). Este resultado pode ser confirmado por um estudo que demonstrou que as cepas virais humanas podem se ligar, replicar e induzir uma resposta imunológica em suínos gnotobióticos (CHEETHAM *et al.*, 2006).

A hipótese de que os suínos possam ser infectados pelo norovírus humano tem sido sustentada pela detecção do RNA do norovírus humano (GII.4) em suínos no Canadá e Taiwan (CHAO *et al.*, 2012). Os produtos cárneos de suínos vendidos no varejo apresentaram resultado positivo para o HuNoVs, o que representa um risco especulativo sobre a transmissão para os consumidores humanos. Um GII.4 HuNoVs também foi detectado em amostras de fezes de bovinos (MATTISON *et al.*, 2007).

Habitualmente a maioria dos seres humanos no mundo ocidental não mantém contato próximo com bovinos e suínos. No entanto, os animais domésticos como o cão (*Canis lupus familiaris*) se tornou um dos animais de estimação mais populares do Reino Unido, aproximadamente 31% das

famílias possuem um cão (MURRAY *et al.*, 2010). Estudos demonstram que a aproximação entre os donos e os cães é evidente, entre 14% a 35% dos cães de estimação dormem nas camas de seu dono; devido essa estreita relação entre os cães e seus donos o risco de transmissão de cães para humanos é significativo (CHOMEL; SUN, 2011).

Atualmente, vários vírus causadores de distúrbios gastroentéricos têm risco de se disseminarem entre seres humanos e cães, incluindo Rotavírus 35 (THEAMBOONLERS *et al.*, 2013), vírus da hepatite E (HEV) e norovírus humano (LEWIS *et al.*, 2008).

O primeiro relato de cães com infecção associada a norovírus humano ocorreu durante um surto de gastroenterite por norovírus em um lar de idosos (HUMPHREY; CRUICKSHANK; CUBITT, 1994). Antes mesmo do desenvolvimento clínico da doença em seres humanos, os cães que habitavam nesse mesmo lar manifestaram sinais em várias ocasiões que antecederam o desenvolvimento da infecção nos seres humanos. Um mês após o incidente os cães foram examinados e realizou-se teste sorológico, que revelou um título moderado ao antígeno HuNoV por imunoscopia eletrônica (PEASEY *et al.*, 2004).

Muitas outras evidências concretas apontam os cães como agentes envolvidos na epidemiologia da HuNoV, dentre elas a detecção de HuNoV em amostras de fezes de cães de estimação (SUMMA; VON BONSDORFF; MAUNULA, 2012).

Summa, von Bonsdorff e Maunula (2012) coletaram amostras fecais de cães cujos proprietários tiveram sinais de gastroenterite aguda durante 1 a 3 dias. Uma proporção destes casos de gastroenterites foi suspeita de ser causada pelo norovírus humano. Foram testadas amostras fecais de cães quanto à presença de GI, GII e GIV HuNoV, e quatro cães foram positivos para o norovírus humano GII. A quantidade de HuNoV detectada nas fezes de três cães possui um nível baixo, o que pode ser atribuído ao vírus somente passar pelo trato gastrointestinal canino, não ocorrendo replicação. Os cães domésticos poderiam teoricamente agir como fômites, se a higiene pessoal não for adequada.

Entretanto, o quarto cão positivo neste mesmo estudo revelou níveis mais altos de norovírus humano nas fezes, e a cepa isolada era idêntica à das fezes do seu proprietário. Fato que sugere uma possível replicação do HuNOV no trato gastrointestinal deste cão.

Também se observou que em dois dos quatro cães positivos para o norovírus humano, sinais clínicos de gastroenterite foram apresentados. Entretanto, não é possível atribuir ao norovírus qualquer destes sinais clínicos, como vômitos e diarreias, pois são sinais inespecíficos que podem ser causados por uma infinidade de agentes em cães (SUMMA; VON BONSDORFF; MAUNULA, 2012).

2.10 Transmissão e sinais clínicos

Em humanos a transmissão do NoV ocorre principalmente

pela via fecal-oral. As fezes com presença das partículas virais podem infectar por contato indireto, ou seja, através da água, materiais e alimentos, ou por contato direto, pessoa-pessoa. Estas maneiras são as principais responsáveis pelos surtos de gastroenterite por NoV. Os alimentos podem ser contaminados durante a sua produção, colheita ou nos locais de preparação quando, no caso, são manipuladas por pessoas infectadas (ATMAR; ESTES, 2006).

A taxa de ataque secundário, ou seja, quando a pessoa se infecta ao entrar em contato com outra infectada, é alta, sendo superior ou igual a 30%. A infecção contínua também é alta, pois o vírus é de difícil eliminação, por ser resistente a desinfetantes (ATMAR; ESTES, 2006). Também pode ocorrer a transmissão por meio das partículas virais presentes em aerossóis em caso de vômitos (GREEN, 2007).

Segundo Atmar e Estes (2006), após a exposição ao NoV, o período de incubação é curto, podendo variar de 24 a 48 horas. O indivíduo infectado apresenta sintomas como diarreia, vômito, dor abdominal, náusea, anorexia e até febre. Porém podem ocorrer infecções assintomáticas em 1/3 dos infectados. A doença possui duração de 12 a 60 horas, considerada curta, mas indivíduos com imunossupressão podem ter diarreias crônicas e excretar o vírus por anos.

Com relação aos sinais clínicos em cães Martella *et al.* (2008) sugerem maiores investigações sobre a real patogenicidade deste novo calicivírus infectante em cães, com tropismo entérico, em especial porque a investigação supracitada foi feita em cães com idade superior a 22 dias, podendo ocorrer replicação viral ativa.

2.11 Diagnóstico

Dentre os métodos de diagnósticos mais utilizados para as norovirose estão, Microscopia Eletrônica, Imunoensaios (IA) e transcrição reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) (LOPMAN; BROWN; KOOPMANS, 2002). O maior problema do diagnóstico imunológico e moleculares é a alta diversidade genética e antigênica dos NoVs, o que está bem descrito para os norovírus humanos (ZHENG *et al.*, 2006).

A diversidade genética e antigênica descrita nos norovírus animais é ainda menor que a descrita em norovírus humano como é visto um número de agrupamentos para cada genogruppo. Isso pode ser explicado pelos métodos de ensaios diagnósticos desenvolvidos capazes de detectar uma grande diversidade de norovírus animais (OLIVER *et al.*, 2006). Além disso, o desenvolvimento dos métodos de diagnósticos mais eficazes tem sido dificultado pela ausência de um meio de cultivo celular para norovírus (WANG *et al.*, 2005).

A microscopia eletrônica tem sido uma ferramenta fundamental para os pesquisadores e levou a descobertas dos primeiros norovírus, mas é um método relativamente insensível porque é necessária uma carga viral elevada (> 10⁶ partículas por gramas de fezes) (ATMAR; ESTES, 2006). Sendo assim, são necessários microscopistas altamente qualificados para

detectar os NoVs a partir de amostras preparadas de forma confiável. Vários métodos também utilizam algumas variantes como a IEM (KAPIKIAN, 2000) ou IEM em fase sólida, e baseiam-se na reação antígeno-anticorpo, visualizada na EM de coloração negativa (DASTJERDI *et al.*, 1999).

A expressão da proteína do capsídeo do norovírus em um sistema baculovírus proporciona grandes quantidades de VLPs, as quais são utilizadas como antígenos em IA. Estes ensaios são altamente sensíveis em comparação com EM, mas sua utilização em laboratórios de diagnósticos é limitada pela sua estreita especificidade (JIANG *et al.*, 2000).

De fato, o método baseia-se na detecção de antígenos do norovírus o que pode ser dificultado pela sua diversidade antigênica. Os ELISAS são úteis devido à sua rapidez e simplicidade para o rastreamento de número elevado de amostras a serem avaliadas. A detecção de anticorpos é mais amplamente reativa que a detecção de antígenos e muitas vezes mais adequada para identificar a infecção heterotípica de NoV (ATMAR; ESTES, 2006).

As cepas do NoV animal podem ser detectadas por RT-PCR com iniciadores concebidos para NoVs humanas. O ensaio permite a detecção de NoVs suíno (SUGIEDA *et al.*, 1998) e bovinos (DASTJERDI *et al.*, 1999; VAN DER POEL *et al.*, 2000), mas é menos sensível do que ensaios utilizando iniciadores animais específicos. Portanto, uma vez comprovada a presença de NoVs em espécies animais, métodos de detecção deve ser adaptado. Por exemplo, iniciadores específicos para RT-PCR e ELISA para a detecção de norovírus suínos e veados cervídeo foram desenvolvidos (VAN DER POEL *et al.*, 2003).

O gene da polimerase é altamente conservado entre os NoVs e numerosos pares de primers foram publicados nesta região (VAN DER POEL *et al.*, 2003; WANG *et al.*, 2006). No entanto, a análise de mais de uma região é importante para a detecção de cepas recombinantes. Através de sequenciamento de DNA amplificado a partir do RNA viral e de ampliações, pode ser obtida informação sobre filogenia viral e podem ser detectados vírus recombinantes. A RT-PCR foi desenvolvida após sequenciamento completo de diferentes genomas de NoV humanos (JIANG *et al.*, 1993).

A diversidade genética entre os NoVs torna impossível o desenvolvimento de um par de iniciadores universal capaz de detectar todas as cepas NoVs, mas alguns iniciadores foram desenvolvidos para detectar a maioria das cepas circulantes. É, portanto, necessária uma atualização constante dos iniciadores. A sensibilidade da RT-PCR pode ser muito menor do que o esperado devido à presença de inibidores da RT-PCR na amostra (GUYADER *et al.*, 2006).

A utilização de um controle interno é fortemente recomendada para validar resultados negativos e alguns foram descritos para a detecção de NoV animal em suínos (WANG *et al.*, 2006) e bovinos (SMILEY *et al.*, 2003). A RT-PCR continua a ser o “padrão-ouro” para o diagnóstico de NoV porque é o método de rotina mais sensível utilizado. Está

sendo progressivamente substituído por RT-PCR em tempo real, que é mais sensível e mais rápido.

Vários métodos, tais como SYBRGreen e TaqMan, já foram elaborados para o diagnóstico utilizando o NoV humano. Estes podem também ser utilizados para a detecção de NoVs animais, e alguns foram publicados recentemente para os NoVs suínos e bovinos (CHEETHAM *et al.*, 2006).

A RT-PCR em tempo real utilizando uma sonda TaqMan dá a vantagem da confirmação num único ensaio e a oportunidade de quantificação de um padrão é utilizado. Esta última aplicação é de grande interesse, uma vez que a maioria dos NoVs não pode ser facilmente cultivada no meio celular de rotina para quantificação de ensaio de placa. Como não há harmonização para comparar os métodos (como um ensaio de referência), os parâmetros de validação relatados na literatura não são comparáveis. Contudo, uma conclusão a partir dos ensaios publicados é que a RT-PCR é mais sensível do que EM e ELISA, principalmente usado para identificar infecções em animais e humanas NoV. (RICHARDS *et al.*, 2003).

2.12 Prevenção e controle

A prevenção de surtos de norovírus tem sido extremamente desafiadora porque surtos começam com uma única exposição a alimentos ou água contaminados, e podem rapidamente se espalhar pelo contato direto entre pessoas (WIDDOWSON *et al.*, 2004).

O monitoramento e a investigação de surtos exigem uma combinação na identificação dos primeiros casos, de casos secundários em que o modo de transmissão pode ser diferente em ambos os casos. Controlar e eximir um surto geralmente demanda esforços, pois necessita da limpeza total do ambiente em navios, hospitais ou locais fechados, e mesmo assim, as epidemias diminuíram somente quando a quantidade viral se esgotou (WIDDOWSON *et al.*, 2004).

O conhecimento da sequência viral específica da epidemia pode ligá-las a uma exposição comum, como ostras cruas ou alimentos contaminados, e ocasionalmente identificar o vírus presente no alimento. O sequenciamento de uma região genômica de uma cepa tem sido útil na ligação de cepas a um único surto, monitorando a sua evolução à medida que o surto de alastra e detectando cepas individuais associadas a uma transmissão prolongada (XERRY *et al.*, 2008).

Ensaio que foram utilizados em focos específicos para detectar norovírus diretamente nos alimentos e água contaminados estão sendo adaptados para o rastreio dos mesmos (ATMAR *et al.*, 1995; DANIELS; BERGMIRE-SWEAT; SCHWAB, 2000). Os esforços atuais para controle de surtos são relativamente eficazes na melhor das hipóteses, visam limitar a exposição de alimentos que foram contaminados na fonte de contaminação ambiental, como no caso de framboesas e ostras, ou através de contaminação por manipuladores de alimentos (BAERT *et al.*, 2009).

Recomenda-se que os manipuladores de alimentos sejam proibidos de permanecer no trabalho e que uma rígida

higiene pessoal entre os manipuladores seja aplicada, porém ambas as medidas tiveram sucesso limitado. Um estudo japonês demonstrou altas taxas de infecção por norovírus em manipuladores de alimentos assintomáticos e disseminação prolongada de vírus após infecção, mas a importância da disseminação de baixo nível para ocorrer transmissão não foi documentada (OZAWA *et al.*, 2007).

A prevenção da propagação secundária do vírus através do contato direto entre pessoas e superfícies inanimadas contaminadas é fundamental para impedir a contaminação, como aquelas que ocorrem em salas de hospitais e a bordo de navios de cruzeiro. Estimular a higiene pessoal, usar precauções contra gastroenterites e desinfetar as superfícies ambientais diminui os riscos. Um estudo recente em que o norovírus de rato foi utilizado como modelo mostrou que os desinfetantes para as mãos contendo álcool podem reduzir a contaminação (OZAWA *et al.*, 2007).

Um recente ensaio clínico demonstrou a redução e ou ausência da infecção por norovírus nas salas de aula onde se usaram métodos de assepsia das mãos à base de álcool, e limpeza de superfícies com toalhas de amônia quaternária, em comparação com as salas em que seguiram práticas usuais de lavagem e limpeza das mãos (SANDORA; SHIH; GOLDMANN, 2008).

2.13 Vacinas

A alta prevalência de infecções por norovírus em crianças e idosos onde poucas intervenções foram feitas para a prevenção dos surtos levaram alguns pesquisadores a considerar um papel da vacina no controle das doenças. Os grupos alvos para receber esta vacina incluem lactantes, como parte do seu calendário de rotina para vacinação infantil, idosos, manipuladores de alimentos, militares, viajantes, profissionais de saúde e atendentes de creches (PERIWAL *et al.*, 2003).

As norovirose são infecções universais entre crianças e, possivelmente, a segunda causa mais comum de diarreia aguda nos países em desenvolvimento, onde as vacinas podem desempenhar um papel fundamental nos programas que visam reduzir a mortalidade infantil e controlar as doenças diarreicas. Uma revisão sistemática recente da literatura demonstrou que 15% das internações de crianças por diarreia na Índia e 31% no Peru estavam associadas a infecções por norovírus, 21 % poderiam contribuir grandemente para a estimativa de 1,6 milhões de mortes entre crianças por diarreia anualmente (PATEL *et al.*, 2008).

Estudos pré-clínicos demonstram que partículas semelhantes a vírus administradas em ratinhos como vacinas parentéricas, orais ou intranasais são altamente imunogênicas (GUERRERO *et al.*, 2001).

Entre voluntários, as partículas recombinantes semelhantes a vírus expressas em plantas transgênicas e as partículas semelhantes a vírus expressas em baculovírus, administradas por via oral foram consideradas seguras e imunogênicas. No

entanto, permanecem muitos desafios ao desenvolvimento de vacinas para norovírus, incluindo uma compreensão incompleta sobre a proteção imunológica, a falta de boa imunidade em longo prazo e a proteção heterotípica contra cepas antigenicamente distintas (TACKET *et al.*, 2003).

A existência de múltiplas propriedades genéticas e tipos antigênicos de vírus também são considerados um problema. A recente predominância de algumas cepas em comum sugere que candidatos à vacina podem necessitar de poucos antígenos. No entanto, dada evolução contínua do vírus, pode ser necessário um processo anual de seleção de cepas, semelhante ao vírus da gripe. Estudos que testam vacinas baseadas em partículas semelhantes ao norovírus estão apenas começando e os conhecimentos obtidos nesses estudos podem determinar a viabilidade final dessa abordagem (BALL *et al.*, 1999; TACKET *et al.*, 2003).

2.14 Tratamento

O tratamento primordial da gastroenterite por norovírus, assim como em outras doenças diarreicas é baseado na reidratação oral com líquidos e eletrólitos, se o paciente estiver alerta e capaz de ingerir, ou com fluidos intravenosos, se o vômito e a desidratação forem graves. Embora ainda não se tenha desenvolvido agentes antivirais, são conhecidas estruturas cristalográficas de raio-x da polimerase viral e as proteases, tal como o sítio de ligação dos antígenos do grupo sanguíneo em partículas, e estas proporcionam alvos potenciais para o desenvolvimento de fármacos. Os interferons e a ribavirina inibem eficazmente a replicação do norovírus em células, porém seu valor terapêutico precisa ser avaliado. A administração de imunoglobulina hiperimune humana por via parenteral ou oral tem sido sugerida, mas esta terapia nunca foi estudada em ensaio clínico (CHANG; GEORGE, 2007).

3 Conclusão

Ainda são poucos os relatos sobre a presença do norovírus em cães, que podem apresentar um potencial de transferência zoonótica, porém devido à sua maior proximidade com os seres humanos na atualidade considera-se importante novos estudos para avaliar o papel do cão como reservatório do norovírus, em especial no Brasil, pela inexistência de relatos até o presente momento.

Referências

- AMARAL, M.S.C. et al. The prevalence of norovirus, astrovirus and adenovirus infections among hospitalised children with acute gastroenteritis in Porto Velho, state of Rondônia, western Brazilian Amazon. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.110, n.2, p.215-221, 2015. doi: 10.1590/0074-02760140381
- ARAGÃO, G.C. et al. Norovirus diversity in diarrheic children from an african-descendant settlement in Belém, Belém, Brasil. *Public Library Scie. One*, v.8, n.2, e56608, 2013.
- ARAGÃO, G.C. et al. Molecular characterization of norovirus, sapovirus and astrovirus in children with acute gastroenteritis from Belém, Pará, Brazil. *Rev. Pan-Amaz. Saúde*, v.1, n.1, p.149-158, 2010.
- ATMAR, R.L. et al. Detection of norwalk virus and hepatitis a virus in shellfish tissues with the PCR. *Appl. Environ. Microbiol.*, v.61, n.8, p.3014-3018, 1995.
- ATMAR, R.L.; ESTES, M.K. The epidemiologic and clinical importance of norovirus infection. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, v.35, p.275-290, 2006.
- AZEVEDO, M. et al. Detection of norovirus in dogs in Arkansas. *Am. Soc. Virol. Conference*, p.23-30, 2012.
- BAERT, L. et al. Reported foodborne outbreaks due to noroviruses in Belgium: the link between food and patient investigations in an international context. *Epidemiol. Infect.*, v.137, n.3, p.316-325, 2009.
- BALL, J.M. et al. Recombinant Norwalk virus-like particles given orally to volunteers: phase I study. *Gastroenterology*, v.117, n.1, p.40-48, 1999.
- BULL, R.A. et al. Norovirus Recombination in ORF1/ORF2 Overlap. *Emerg. Infect. Dis.*, v.11, n.7, p.1079-1085, 2005
- CASTILHO, J.G. et al. Genetic diversity of norovirus among children with gastroenteritis in Sao Paulo State, Brazil. *J. Clin. Microbiol.*, v.44, n.11, p.3947-3953, 2006.
- CHANG, K.O.; GEORGE, D.W. Interferons and ribavirin effectively inhibit norwalk virus replication in replicon-bearing cells. *J. Virol.*, p.12111-12118, 2007.
- CHAO, D.Y. et al. Detection of multiple genotypes of calicivirus infection in asymptomatic swine in Taiwan. *Zoonoses Public Health*, v.59, n.6, p.434-444, 2012.
- CHEETHAM, S. et al. Binding patterns of human norovirus-like particles to buccal and intestinal tissues of gnotobiotic pigs in relation to A/H histo-blood group antigen expression. *J. Virol.*, p.3535-3544, 2007.
- CHEETHAM, S. et al. Pathogenesis of a genogroup II human norovirus in gnotobiotic pigs. *J. Virol.*, p.10372-10381, 2006.
- CHIBA, S. et al. Sapporo virus: history and recent findings. *J. Infect. Dis.*, v.181, p.303-308, 2000.
- CHOMEL, B.B.; SUN, B. Zoonoses in the Bedroom. *Emerg. Infect. Dis.*, v.17, n.2, p.167-172, 2011.
- COSTANTINI, V.G.L. et al. Diagnostic accuracy and analytical sensitivity of IDEIA norovirus assay for routine screening of human norovirus. *J. Clin. Microbiol.*, p.2770-2778, 2010.
- DANIELS, N.A.; BERGMIRE-SWEAT, D.A.; SCHWAB, K.J. A foodborne outbreak of gastroenteritis associated with norwalk-like viruses. *J. Infect. Dis.*, p.1467-1470, 2000.
- DASTJERDI, A.M. et al. The bovine newbury agent-2 is genetically more closely related to human SRSVs Than to animal caliciviruses. *Virology*, v.254, n.1, p.1-5, 1999.
- DINGLE, K.E. et al. Human enteric Caliciviridae: the complete genome sequence and expression of virus-like particles from a genetic group II small round structured virus. *J. General Virol.*, v.76, n.9, p.2349-2355, 1995.
- DONALDSON, E.F. et al. Norovirus pathogenesis: mechanisms of persistence and immune evasion in human populations. *Immunol. Rev.*, v.225, n.1, p.190-211, 2008.
- DUIZER, E. et al. Laboratory efforts to cultivate Noroviruses. *J. General Virol.*, v.85, p.79-87, 2004.
- FANKHAUSER, R.L. et al. Molecular epidemiology of "Norwalk-like viruses" in outbreaks of gastroenteritis in the United States. *J. Infect. Dis.*, v.178, p.1571-1578, 1998.

- FARKAS, T. et al. Seroprevalence of noroviruses in swine. *J. Clin. Microbiol.*, v.43, p.657–661, 2005.
- FERNÁNDEZ, K.P. et al. Norovirus, the principal cause of viral diarrhea in two regions of Colombia. *Univ. Sci.*, v.20, n.1, p.107–115, 2014.
- FERREIRA, M.S.R. et al. Surveillance of norovirus infections in the state of Rio de Janeiro, Brazil 2005–2008. *J. Med. Virol.*, n.8, p.1442–1448, 2010.
- GREEN, K.Y. Caliciviridae: the noroviruses. In: KNIPE, D.M., HOWLEY, P.M. Fields virology. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2007. p. 949–979.
- GREEN, K.Y. et al. Taxonomy of the Caliciviruses. *J. Infect. Dis.*, v.181, n.2, p.322–330, 2000.
- Green, S.M. et al. Human enteric Caliciviridae: a new prevalent small round-structured virus group defined by RNA-dependent RNA polymerase and capsid diversity. *J. Gen. Virol.*, v.75, n.8, p.1883–1888, 1994.
- GUERRERO, R.A., et al. Recombinant norwalk virus-like particles administered intranasally to mice induce systemic and mucosal (fecal and vaginal) immune responses. *J. Virol.*, v.75, n.20, p.9713–9722, 2001.
- GUYADER, F.S.L. et al. Norwalk virus: specific binding to oyster digestive tissues. *Emerg. Infect. Dis.*, v.12, n.6, p.931–936, 2006.
- HUMPHREY, T.; CRUICKSHANK, J.; CUBITT, W. An outbreak of calicivirus associated gastroenteritis in an elderly persons home. A possible zoonosis. *J. Hyg.*, v.92, n.1, p.293–299, 1994.
- HUTSON, A.M. et al. Norwalk virus infection and disease is associated with ABO Histo-Blood Group Type. *J. Infect. Dis.*, v.185, n.9, p.1335–1337, 2002.
- JIANG, X. et al. Sequence and genomic organization of norwalk virus. *Virology*, v.195, n.1, p.51–61, 1993.
- JIANG, X. et al. Diagnosis of human caliciviruses by use of enzyme immunoassays. *J. Infect. Dis.*, n.2, p.349–359, 2000.
- KAPIKIAN, A.Z. The discovery of the 27□nm norwalk virus: an historic perspective. *J. Infect. Dis.*, v.181, n.2, p.295–302, 2000.
- KAPIKIAN, A.Z. et al. Visualization by immune electron microscopy of a 27-nm particle associated with acute infectious nonbacterial gastroenteritis. *J. Virol.*, v.10, n.5, p.1075–1081, 1972.
- LEWIS, H.C. et al. Hepatitis e in england and wales. *Emerg. Infect. Dis.*, v.14, n.1, p.165–167, 2008.
- LOPMAN, B.A.; BROWN, D.W.; KOOPMANS, M. Human caliciviruses in Europe. *J. Clin. Virol.*, v.24, n.3, p.137–160, 2002.
- MARIONNEAU, S. et al. ABH and Lewis histo-blood group antigens, a model for the meaning of oligosaccharide diversity in the face of a changing world. *Biochimie*, v.83, n.7, p.565–573, 2001.
- MARTELLA, V. et al. Genetic heterogeneity and recombination in canine noroviruses. *J. Virol.*, v.83, n.21, p.11391–11396, 2009.
- MARTELLA, V. et al. Detection and molecular characterization of a canine norovirus. *Emerg. Infect. Dis.*, v.14, n.8, p.1306–1308, 2008.
- MARTINO, B. et al. Seroprevalence of norovirus genogroup iv antibodies among humans, Italy, 2010–2011. *Emerg. Infect. Dis.*, v.20, n.11, p.1828–1832, 2014
- MATTISON, K. et al. Human noroviruses in swine and cattle. *Emerg. Infect. Dis.*, v.13, n.8, p.1184–1188, 2007.
- MENON, V.K. et al. Exposure to Human and Bovine Noroviruses in a Birth Cohort in Southern India from 2002 to 2006. *J. Clin. Microbiol.*, v.51, n.7, p.2391–2395, 2013.
- MESQUITA, J.R. et al. Novel norovirus in dogs with diarrhea. *Emerg. Infect. Dis.*, v.16, n.6, p.980–982, 2010.
- MESQUITA, J.R.; NASCIMENTO, M.S.J. Gastroenteritis outbreak associated with faecal shedding of canine norovirus in a portuguese kennel following introduction of imported dogs from Russia. *Transboundary Emerg. Dis.*, v.59, n.5, p.456–459, 2011.
- MESQUITA, J.; NASCIMENTO, M. S. Molecular epidemiology of canine norovirus in dogs from Portugal, 2007–2011. *BMC Vet. Res.*, v.8, n.1, p.107, 2012.
- MONICA, B. et al. Human caliciviruses in symptomatic and asymptomatic infections in children in Vellore, South India. *J. Med. Virol.*, v.79, n.5, p.544–551, 2007.
- MORILLO, S.G.; TAVARES-TIMENETSKY, M.C.S. Norovirus: uma visão geral. *Rev. Assoc. Méd. Bras.*, v.57, n.4, p.462–467, 2011.
- MURRAY, J.K. et al. Number and ownership profiles of cats and dogs in the UK. *Vet. Record*, v.166, n.6, p.163–168, 2010.
- NTAFIS, V. et al. Outbreak of canine norovirus infection in young dogs. *J. Clin. Microbiol.*, v.48, n.7, p.2605–2608, 2010.
- OLIVER, S.L. et al. Molecular characterization of bovine enteric caliciviruses: a distinct third genogroup of noroviruses (norwalk-like viruses) unlikely to be of risk to humans. *J. Virol.*, v.77, n.4, p.2789–2798, 2003.
- OLIVER, S.L. et al. Genomic characterization of the unclassified bovine enteric virus Newbury agent-1 (Newbury1) endorses a new genus in the family Caliciviridae. *Virol.*, v.350, n.1, p.240–250, 2006.
- OZAWA, K. et al. Norovirus infections in symptomatic and asymptomatic food handlers in Japan. *J. Clin. Microbiol.*, v.45, n.12, p.3996–4005, 2007.
- PALMER, S.; BROWN, D.; MORGAN, D. Early qualitative risk assessment of the emerging zoonotic potential of animal diseases. *BMJ*, v. 331, n.7527, p.1256–1260, 2005.
- PATEL, M.M. et al. Systematic literature review of role of noroviruses in sporadic gastroenteritis. *Emerg. Infect. Dis.*, v.14, n.8, p.1224–1231, 2008.
- PEASEY, A.E. et al. Seroepidemiology and Risk factors for sporadic norovirus/Mexico Strain. *J. Infect. Dis.*, n.11, p.2027–2036, 2004.
- PERIWAL, S.B. et al. A modified cholera holotoxin CT-E29H enhances systemic and mucosal immune responses to recombinant Norwalk virus-virus like particle vaccine. *Vaccine*, v.21, n.5/6, p.376–385, 2003.
- PHAN, T.G. et al. Genetic heterogeneity, evolution, and recombination in noroviruses. *J. Med. Virol.*, v.79, n.9, p.1388–1400, 2007.
- PRASAD, B.V. et al. X-ray crystallographic structure of the norwalk virus capsid. *Science*, v.286, n.5438, p.287–290, 1999.
- RIBAS, M.D.E.L. et al. Norovirus and Rotavirus infection in children aged less than five years in a paediatric hospital, Havana, Cuba. *Braz. J. Infect. Dis.*, v.19, n.2, p.222–223, 2015.
- RICHARDS, A.F. et al. Evaluation of a commercial ELISA for detecting Norwalk-like virus antigen in faeces. *J. Clin. Virol.*, n.1, p.109–115, 2003.
- RUVOEN-CLOUET, N. et al. Binding of rabbit hemorrhagic disease virus to antigens of the ABH histo-blood group family. *J. Virol.*, v.74, p.11950–11954, 2000.

- SANDORA, T.J.; SHIH, M.-C.; GOLDMANN, D.A. Reducing absenteeism from gastrointestinal and respiratory illness in elementary school students: a randomized, controlled trial of an infection-control intervention. *Pediatrics*, v.121, n.6, p.1555-1562, 2008.
- SMILEY, J.R. et al. Reverse transcription-pcr assays for detection of Bovine Enteric Caliciviruses (BEC) and Analysis of the Genetic Relationships among BEC and Human Caliciviruses. *J. Clin. Microbiol.*, n.7, p.3089-3099, 2003.
- SOMA, T. et al. Detection of Norovirus and Sapovirus from diarrheic dogs and cats in Japan. *Microbiol. Immunol.*, v.59, n.3, p.123-128, 2015.
- SUGIEDA, M. et al. Detection of Norwalk-like virus genes in the caecum contents of pigs. *Arch. Virol.*, v.143, n.6, p.1215-1221, 1998.
- SUMMA, M.; VON BONSDORFF, C.; MAUNULA, L. Pet dogs: a transmission route for human noroviruses? *J. Clin. Virol.*, v.53, n.3, p.244-247, 2012.
- TACKET, C.O. et al. Humoral, mucosal, and cellular immune responses to oral Norwalk virus-like particles in volunteers. *Clin. Immunol.*, v.108, n.3, p.241-247, 2003.
- TAN, M.; JIANG, X. The p domain of norovirus capsid protein forms a subviral particle that binds to histo-blood group antigen receptors. *J. Virol.*, v.79, n.22, p.14017-14030, 2005.
- THEAMBOONLERS, A. et al. Complete genome analysis of a rare human G3P[9] rotavirus posing as an AU-1 like strain. *Springerplus*, v. 2, n. 1, p. 569-573, 2013.
- TIAN, P. et al. Binding of recombinant norovirus like particle to histo-blood group antigen on cells in the lumen of pig duodenum. *Res. Vet. Sci.*, v.83, n.3, p.410-418, 2007.
- TIMENETSKY, M.C.S.T. et al. Rotavírus, adenovírus, astrovírus, calicivírus, com e sem diarreia aguda, no período de 1987 a 1988, na Grande São Paulo. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v.35, n.3, p.275-280, 1993.
- VAN DER POEL, W.H. et al. Epidemiology of Norwalk-like virus infections in cattle in the Netherlands. *Vet. Microbiol.*, v.92, n.4, p.297-309, 2003.
- VAN DER POEL, W.H. et al. Norwalk-like calicivirus genes in farm animals. *Emerg. Infect. Dis.*, v.6, n.1, p.36-41, 2000.
- WANG, Q. H. et al. Development of a new microwell hybridization assay and an internal control RNA for the detection of porcine noroviruses and sapoviruses by reverse transcription-PCR. *J. Virol. Methods*, v.132, n.1/2, p.135-145, 2006.
- WANG, Q.H. et al. Genetic diversity and recombination of porcine sapoviruses. *J. Clin. Microbiol.*, v.43, p.5672-5963, 2005.
- IDDOWSON, M.A. et al. Outbreaks of acute gastroenteritis on cruise ships and on land: identification of a predominant circulating strain of norovirus-united states, 2002. *J. Infec. Dis.*, v.190, n.1, p.27-36, 2004.
- WIDDOWSON, M.-A. et al. Detection of serum antibodies to bovine norovirus in veterinarians and the general population in the Netherlands. *J. Med. Virol.*, v.76, n.1, p.119-128, 2005.
- WOBUS, C.E. et al. Replication of norovirus in cell culture reveals a tropism for dendritic cells and macrophages. *Plos Biol.*, v.2, n.12, p.432-433, 2004.
- WOBUS, C.E.; THACKRAY, L.B.; VIRGIN, H.W. Murine Norovirus: a Model System to Study Norovirus Biology and Pathogenesis. *J. Virol.*, v.80, n.11, p.5104-5112, 2006.
- XERRY, J. et al. Transmission events within outbreaks of gastroenteritis determined through analysis of nucleotide sequences of the P2 domain of genogroup II noroviruses. *J. Clin. Microbiol.*, v.46, n.3, p.947-953, 2008.
- ZAHORSKY, J. Hyperemesis hemisor the winter vomiting disease. *Arch. Pediatr. Adolescent Med.*, v.46, p.391-395, 1929.
- ZAKHOUR, M. et al. The α Gal epitope of the histo-blood group antigen family is a ligand for bovine norovirus newbury2 expected to prevent cross-species transmission. *Plos Pathogens*, v.5, n.7, e1000504, 2009.
- ZHENG, D-P. et al. Norovirus classification and proposed strain nomenclature. *Virology*, v.346, n.2, p.312-323, 2006.