

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS
LICENCIATURA EN QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGICA



INFORME DE CONCLUSIÓN DE SERVICIO SOCIAL

“Identificación de *Circovirus* en muestras de heces de perros con Parvovirus.”

Presentador del Servicio Social

Yael Peña Lucas

Matrícula: 2202029652

ASESORES

Dra. Estela Teresita Méndez Olvera

No. Econom. 29747

Tania Reyes Cruz

No. cédula. 9187299

Lugar de realización: Laboratorio de Microbiología Agropecuaria del Departamento de Producción Agrícola y Animal, de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.

Fecha de inicio y término: 15 de enero 2024 a 15 de octubre 2024



Introducción.

El *Protoparvovirus canino* (PVC) constituye una de las principales causas de gastroenteritis hemorrágica en perros. Esta enfermedad afecta principalmente a perros jóvenes a partir de las seis semanas de edad sin distinción de sexo (Dávila, 2021).

El PVC es un virus perteneciente a la familia *Parvoviridae* que comprende dos subfamilias, *Parvovirinae* que infecta a vertebrados y *Densovirinae* que afecta principalmente a insectos. El virión tiene simetría icosaédrica y está formado por dos proteínas no estructurales la NS1 y NS2 y dos proteínas de la cápside VP1 y VP2, siendo ésta, la principal proteína que conforma la cápside. La estructura icosaédrica le confiere una alta resistencia a condiciones ambientales, por lo que es común que este virus esté presente por tiempos prolongados en las superficies principalmente durante los meses cálidos. El genoma del PVC está constituido por una cadena sencilla de ADN de polaridad negativa con un tamaño de 5,200 pares de bases, donde sólo se identifican dos marcos abiertos de lectura (Sun et al., 2019).

Los signos característicos de la infección por PVC son: vómitos, diarrea sanguinolenta, pérdida de apetito, entre otros. Este virus puede afectar el sistema inmunológico, debilitando las defensas del organismo, predisponiendo al perro a infecciones secundarias. Algunos estudios han confirmado la presencia de bacterias entéricas en infecciones por PVC, además de la presencia de otros agentes virales como: coronavirus canino, virus del moquillo canino y circovirus canino (Chen et al., 2019).

En 2019, Sun y colaboradores reportaron la coinfección de PVC y *circovirus*, en su estudio estos investigadores analizaron 406 muestras de heces de perros de ocho ciudades de Guangxi, China, encontrando que 54 de las muestras analizadas presentaron coinfección de *Circovirus* canino tipo 3 y Parvovirus canino tipo 2 (Sun



et al., 2019). Asimismo, en Italia, Zaccaria y colaboradores (2016) realizaron un estudio en el que se detectó la presencia de *circovirus* en carnívoros domésticos y salvajes. En este estudio *circovirus* se presentó mayormente en lobos en comparación con perros domésticos, además de que estuvo mayormente asociado a infecciones por *Parvovirus* canino tipo 2 (Zaccaria et al., 2016).

Por su parte, en Argentina Kotsias y colaboradores en 2019 reportaron la presencia de *Circovirus* canino en tejido de perros con signos de enfermedad entérica, este estudio se llevó a cabo tras encontrarse *Circovirus* canino en perros sanos y después de haber analizado las muestras de los tejidos de 18 perros se encontraron que todos presentaban *Parvovirus* canino, así como *Circovirus*. (Kotsias et al., 2019).

En los últimos cinco años, *Circovirus* se ha detectado en países como: Italia, Alemania, China, Tailandia, Taiwán, Argentina y Brasil (Vargas, 2023) y se cree que podría estar relacionado con otros virus como *parvovirus* canino. A pesar de que a la fecha no se tiene la causa directa de la coinfección, una probable explicación es que la coinfección viral puede favorecer la replicación de ambos virus.

Justificación.

Las enfermedades infecciosas han sido tradicionalmente asociadas a un solo agente etiológico, de acuerdo con lo establecido por los postulados de Koch. Sin embargo, en los últimos años se ha reportado la presencia de múltiples agentes en infecciones, lo cual ha ocasionado que la etiología de las enfermedades sea reevaluada. En el caso de PVC se menciona la presencia de *Circovirus* como un posible agente de coinfección.



Tanto el *Circovirus* como el *Parvovirus canino* son patógenos reconocidos por su capacidad para desencadenar enfermedades graves en perros. La posible coinfección podría intensificar la gravedad de los signos, complicando el curso clínico de las enfermedades.

La similitud en los signos clínicos de las infecciones por *Circovirus* y PVC complica el diagnóstico, y la coinfección podría conducir a un cuadro clínico más complejo, dificultando la identificación precisa del o los agentes causantes. Investigar esta posible coinfección se convierte en una necesidad imperante para mejorar la capacidad de diagnóstico de estas enfermedades.

La posible coinfección de estos dos agentes podría influir en la respuesta al tratamiento, ya que la presencia de múltiples agentes patógenos podría afectar la eficacia de las terapias utilizadas. Comprender cómo estas infecciones interactúan se vuelve crucial para guiar la elección de tratamientos más efectivos. Esto amplía nuestro conocimiento sobre la diversidad viral y ayuda a estar preparados para posibles amenazas emergentes.

Entender la posible coinfección de *Circovirus* en perros con PVC no solo es esencial para la salud de los animales, sino que también tiene implicaciones para la salud pública. Algunos virus animales pueden tener la capacidad de transmitirse a humanos, y comprender las dinámicas de coinfección ayuda a gestionar mejor los riesgos para la salud tanto en animales como en humanos.

Antecedentes

La parvovirus canina, conocida científicamente como enteritis parvoviral canina es producida por *Parvovirus Canino* (CPV), un patógeno altamente contagioso que afecta a los perros, especialmente a cachorros no vacunados. Su descubrimiento se remonta a la década de 1970, cuando se identificaron los primeros brotes de la



enfermedad. *Parvovirus* canino tipo 2 es uno de los principales agentes causantes de enteritis hemorrágica en crías de perros (Quino et al., 2018). La transmisión es por vía fecal-oral o por fómites que contengan un alto número de partículas virales. *Parvovirus* Canino es miembro de la familia *Parvoviridae*, género *ProtoParvovirus*. Son virus pequeños icosaédricos (25-30 nm), no envueltos. Su genoma consta de alrededor de 5.2 kb con palíndromos terminales, es lineal y contiene dos ORFs (marcos abiertos de lectura). Los viriones poseen dos proteínas no estructurales la NS1 y NS2 y dos proteínas de la cápside VP1 y VP2, siendo VP2 la principal proteína que conforma la cápside (Sun et al., 2019). Su estructura icosaédrica les confiere una alta resistencia a condiciones ambientales por lo que es común que este virus este presente por tiempos prolongados en las superficies, razón por la cual la parvovirus se presenta principalmente en los meses cálidos.

El PVC se puede diseminar a todos los tejidos a través de la circulación sanguínea. La infección por PVC se manifiesta principalmente con síntomas gastrointestinales, como vómitos, diarrea sanguinolenta, pérdida de apetito a su vez el virus puede afectar el sistema inmunológico, debilitando las defensas del organismo y predisponiendo al perro a infecciones secundarias. Las consecuencias de la infección por PVC son la miocarditis, que resulta fatal en cachorros de 2 a 3 semanas de edad, y la enteritis hemorrágica (Pollock, 1982).

El *Circovirus* Canino pertenece a la familia *Circoviridae*. Es un virus que fue descubierto por primera vez en 2011, posee un genoma de ADN monocatenario covalentemente cerrado de más de 2063 pares de bases de tamaño. Se ha detectado en diferentes países y se puede definir como virus de distribución mundial. Este virus infecta tanto perros domésticos, así como silvestres y se relaciona principalmente con la presencia de enteritis hemorrágica. Sin embargo, se ha identificado en muestras fecales de animales aparentemente sanos, donde en la mayoría de los casos se encuentra en coinfección con otros agentes virales como el parvovirus canino tipo 2 (PVC) (Vargas, 2023).



En 2013, Li et al. caracterizaron el genoma completo de *Circovirus* canino del hígado de un perro con gastroenteritis hemorrágica grave, linfadenitis granulomatosa y vasculitis. La infección se ha asociado con cuadros clínicos de gastroenteritis aguda, diarrea hemorrágica, signos de vasculitis, linfadenitis, trombocitopenia, neutropenia y linfopenia, la cual se relaciona con actividad inmunosupresora por daño del tejido linfoide; este último también se ha descrito en la infección por PCV en perros. No existe una asociación directa entre *circovirus* y *parvovirus* en términos de causar una enfermedad conjunta, ya que cada virus tiene su propio conjunto de características, síntomas y patologías específicas asociadas a la especie afectada.

Se han realizado estudios en los cuales se ha observado la presencia de ambos virus, tal es el caso del estudio realizado por Sun et al. (2019) en China y por Zaccaria et al (2016) en Italia.

En Vietnam, se realizó una evaluación de 81 muestras fecales positivas para PVC-2c, estableciendo que el 19,8% de las muestras fueron positivas para *Circovirus* canino en cachorros diarreicos menores de 7 meses de edad (Tuong et al., 2021). En Argentina se han reportado también coinfecciones de *parvovirus* y *circovirus*, en particular en un estudio realizado tras el brote de una enfermedad descrita como altamente contagiosa, de muy rápido inicio y desarrollo, caracterizada por anorexia, vómitos y diarrea hemorrágica con duración de 3 a 7 días. El brote se presentó en perros que habían sido vacunados adecuadamente contra el PVC, el virus del moquillo canino y el virus de la hepatitis infecciosa canina. Tras analizarse muestras de tejidos de 18 perros se encontró que todos presentaban *parvovirus canino*, así como *circovirus*. (Kotsias et al., 2019).

La prevalencia de *circovirus* canino en diferentes países, tanto en muestras de pacientes con signos compatibles como en animales asintomáticos, es variable, se han encontrado presencia de *circovirus* canino en países como Estados Unidos, China, Taiwán, Italia, Turquía, Irán, entre otros.



Al igual que en la infección por PVC la patogénesis de *Circovirus* canino y su participación como agente coinfectante aún no está claramente definida. Las investigaciones actuales sugieren que su papel como patógeno puede ser el de exacerbar condiciones clínicas, como la infección por PVC-2, debilitando el sistema inmunológico y favoreciendo la entrada y diseminación de otros virus y bacterias. Esto se debe a que, en la mayoría de las detecciones realizadas de *Circovirus* canino se ha encontrado que el virus va acompañado de otros agentes infecciosos, como el PVC, con tasas de coinfección altas (Giraldo et al., 2020). Hasta la fecha, pocos informes han confirmado que *Circovirus* canino sea un agente único en perros que padecen gastroenteritis aguda o diarrea hemorrágica (Kotsias et al., 2019).

Objetivos.

General

Determinar la presencia de *Circovirus* en muestras de heces de casos clínicos de PVC para establecer la participación de este agente en el desarrollo de la enfermedad en la ciudad de México.

Específicos.

- Construir un control interno de amplificación para la detección específica de *Circovirus* por medio de la PCR.
- Evaluar las muestras de heces para determinar la presencia de PVC y *Circovirus*.
- Evaluar los resultados obtenidos mediante la determinación de factores de riesgo.



Métodos y diseño experimental

Esta investigación es un estudio de tipo experimental descriptivo transversal retrospectivo donde se analizaron muestras de heces tomadas de pequeñas especies con infecciones con *Protoparvovirus canino*.

Todos los procedimientos experimentales se realizaron en el Laboratorio de Microbiología Agropecuaria perteneciente al Departamento de Producción Agrícola y Animal de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco.

Muestras

Se trabajaron 64 muestras de heces de perros con problemas gastrointestinales, recolectadas en Clínicas Veterinarias en la ciudad de México. Las heces fueron diluidas 1:10 con solución amortiguadora de fosfatos (PBS) pH 6.8 y se centrifugaron a 10,000 rpm durante x 5 min a temperatura ambiente. El sobrenadante se recuperó y fracciono en tubos de 1.5 ml. Los sobrenadantes se conservaron a -20°C hasta su utilización.

Extracción de ADN de muestras de heces de casos de gastroenteritis hemorrágica.

Se utilizó el protocolo de extracción con Sílica-Tiocinato de Guanidina (Protocolo modificado de Clewley, 1993). Las células fueron lisadas con solución de lisis total. El lisado se colocó en microtubos de 1.5mL y se le adicionaron 30 μ L de una suspensión de partículas de sílica. El ADN unido a las partículas de sílica fue lavado con etanol al 70% y acetona. Finalmente, el ADN se recuperó en 20 μ L de



solución TE. El ADN obtenido fue visualizado en geles de agarosa al 1%, teñidos con bromuro de etidio para verificar su calidad y cantidad.

Determinación de la presencia de Parvovirus canino por PCR

Del ADN extraído de las muestras de heces se analizó mediante PCR para evaluar la presencia de PVC, a través de la amplificación de un fragmento del gen VP2 con los iniciadores pPVC-F (5'AGAGTGGTTGTAAATATTATGG3') y pPVC-R (5'GCCTCAAAGAATCGTATGG3').

Construcción control interno Circovirus

Para determinar la presencia de Circovirus en el ADN de las muestras de heces se construyó un control interno para lo cual se empleó el plásmido pUC4K que contiene el gene *aph*, el cual confiere resistencia a la Kanamicina y se realizó la extracción de ADN plasmídico mediante el protocolo de lisis alcalina. El ADN obtenido fue utilizado para la elaboración del control interno por medio de la PCR, empleando procedimientos estándares para este fin. El producto amplificado fue visualizado por medio de electroforesis en geles de agarosa al 1.5% teñidos con bromuro de etidio.

Reacción en cadena de la polimerasa para Circovirus

A todas las muestras de ADN proveniente de las heces de perro se les realizó la PCR de forma individual. En un tubo de 200 μ L se colocó 10 μ L de mastermix, 1 μ L de control interno a una concentración de 1 ng/ μ L, 1 μ L de iniciadores, y 7 μ L de agua para obtener un volumen final de 20 μ L. Asimismo, para cada muestra de ADN de forma individual en un tubo de 200 μ L se colocaron 10 μ L de mastermix, 1 μ L de ADN de cada muestra, 1 μ L de iniciadores y 7 μ L de agua. La concentración de cada uno de los iniciadores empleados en esta prueba fue de 2.5 mM. Las condiciones para la PCR fueron: una desnaturalización inicial a 95°C por 1 min,

una alineación a 50°C por 1 min, y una extensión a 72°C por 1 min y una extensión final a 72°C por 2 min.



Resultados

Se analizaron un total de 64 muestras de heces de perros con sospecha de gastroenteritis hemorrágica. El proceso consistió en la extracción de ADN seguida de PCR para la identificación de parvovirus canino y circovirus.

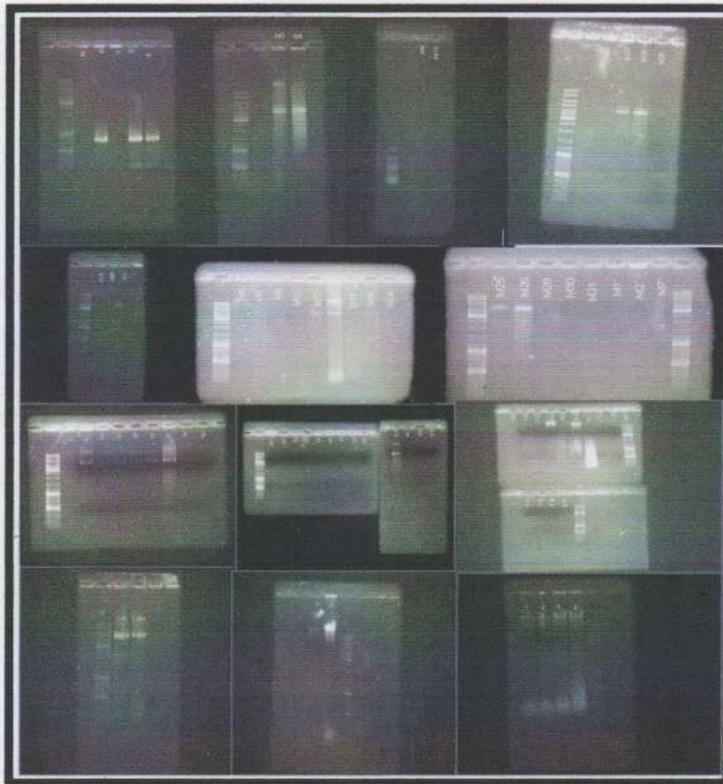


Figura 1. extracción de ADN visualizado en gel de agarosa al 1 % con bromuro de etidio

En la **Figura 1**, se muestran los geles de agarosa correspondientes a la extracción de ADN de las 64 muestras. Los resultados de la PCR para la detección de

parvovirus canino, representados en la **Figura 2**, indican que 49 de las 64 muestras (76,56%) fueron positivas para este virus.

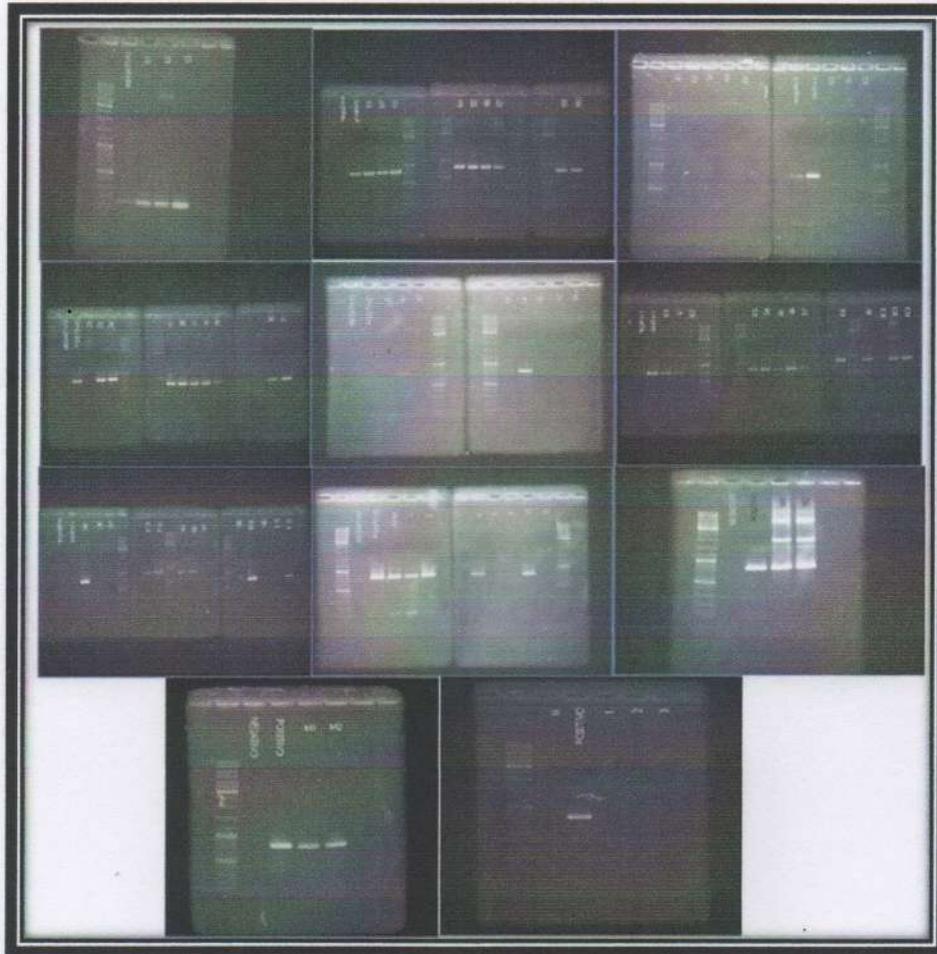


Figura 2. PCR para identificación de parvovirus canino visualizado por gel de agarosa al 1.5 % con bromuro de etidio

Posteriormente, se realizó la PCR para la identificación de *circovirus*, cuyos resultados se presentan en la **Figura 3**. De las 64 muestras, 5 (7,81%) resultaron positivas para *circovirus*. Cabe destacar que todas las muestras positivas a *circovirus* también dieron positivas para *parvovirus* canino, lo que sugiere una posible coinfección.

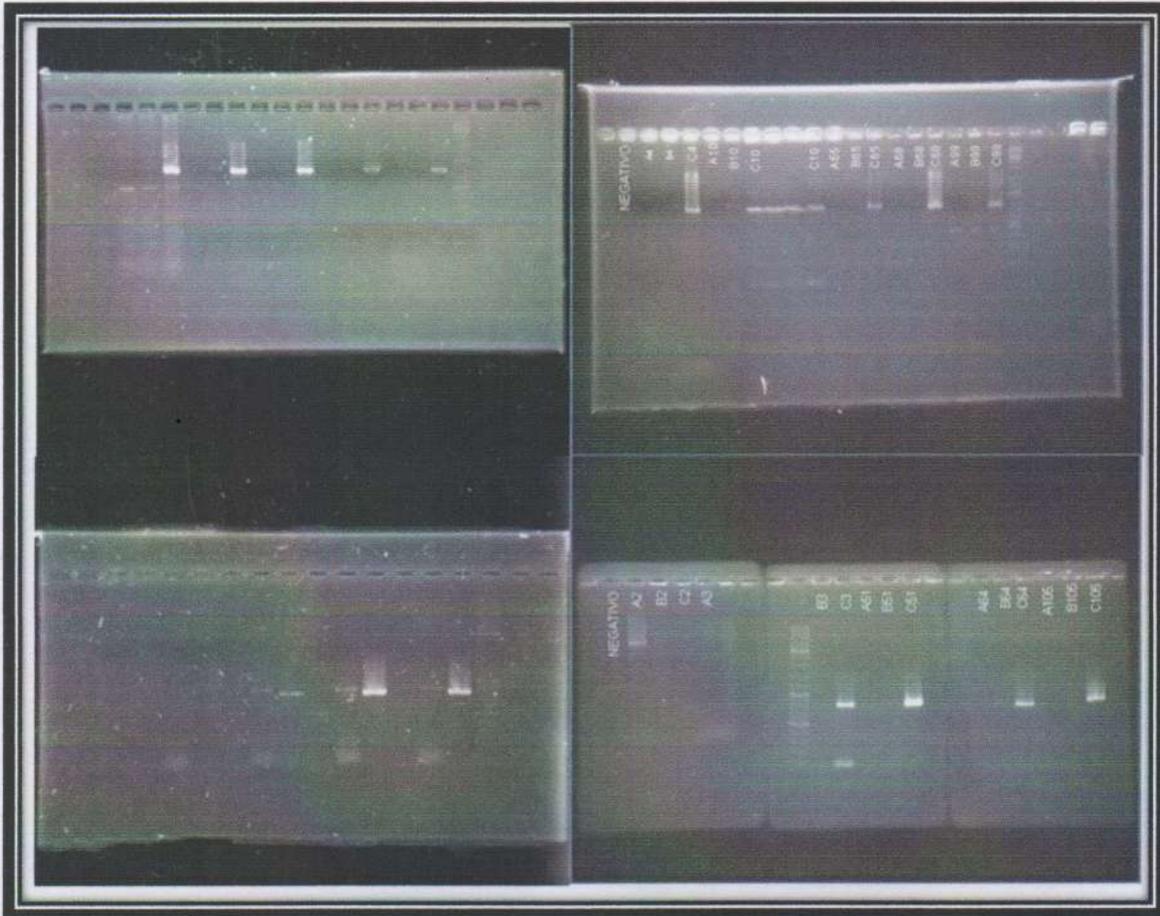


Figura 3. Identificación de circovirus por PCR visualizado en gel de agarosa al 1.5% con bromuro de etidio

En la **Tabla 1**, se resumen los resultados obtenidos en cada una de las PCR realizadas, tanto para parvovirus como para *circovirus*, especificando las muestras positivas y negativas para cada virus.

Identificación	Nombre	PVC	<i>circovirus</i>
1	Rooney	positivo	negativo
2	Dory	positivo	negativo
3	Lansao	positivo	negativo
4	Seis	positivo	negativo
5	Nina Abigail	negativo	negativo
6	Canseco	negativo	negativo

7	Vodka	positivo	negativo
8	Osito	negativo	negativo
9	Canseco	negativo	negativo
10	Romina	positivo	negativo
12	Antonella	negativo	negativo
13	Estrella	positivo	negativo
14	Antonella-2	positivo	negativo
15	Vodka-2	negativo	negativo
17	Woky	negativo	negativo
18	Canseco	negativo	negativo
21	Benito	negativo	negativo
23	Milka	positivo	negativo
24	Rooney	positivo	negativo
25	Lucky	positivo	negativo
26	Rony	positivo	negativo
27	Yanuk	positivo	negativo
28	Sin nombre	positivo	negativo
29	Sin nombre	positivo	negativo
30	Rooney	positivo	negativo
31	Camila	positivo	negativo
51	Tayson	positivo	negativo
52	Blacky	positivo	negativo
53	Lea	positivo	negativo
54	Marco	positivo	negativo
55	Beky	positivo	negativo
56	Sin nombre	positivo	negativo
57	Sin nombre	positivo	negativo
58	Sin nombre	positivo	negativo
60	Hans	positivo	negativo
61	Messi	positivo	negativo

62	Sin nombre	negativo	negativo
63	Rommy	positivo	negativo
64	Ashkill	positivo	negativo
65	Camil	positivo	negativo
66	Pepito	positivo	negativo
67	Sin nombre	positivo	negativo
68	Sin nombre	positivo	negativo
99	Cleopatra	positivo	positivo
100	Burby	negativo	negativo
101	Pocholate	positivo	negativo
102	coco	positivo	negativo
103	Sin nombre	positivo	positivo
105	Sin nombre	positivo	negativo
106	Sin nombre	negativo	negativo
107	Sin nombre	negativo	negativo
108	Sin nombre	positivo	negativo
109	Sin nombre	positivo	negativo
110	Sin nombre	negativo	negativo
111	Sin nombre	positivo	negativo
112	Sin nombre	positivo	negativo
113	Sin nombre	positivo	negativo
114	Sin nombre	positivo	negativo
115	Sin nombre	positivo	positivo
116	Sin nombre	positivo	negativo
117	Sin nombre	negativo	negativo
MVZ1	Sin nombre	positivo	positivo
negro	negro	positivo	positivo

Tabla 1. Resultados de PCR para determinación de parvovirus y Circovirus



Discusión.

La coinfección entre *parvovirus* (PVC) y *circovirus* es un hallazgo relevante en esta investigación con base en los resultados obtenidos. De las 64 muestras de heces analizadas, 49 (76,56%) resultaron positivas a *parvovirus*, lo que concuerda con la prevalencia previamente reportada en estudios de otras regiones. Por ejemplo, en un estudio realizado en China por Sun et al. (2019), se analizó la coinfección de PVC y *circovirus* en 406 muestras, donde se encontró que un 13.3% de las muestras eran positivas para ambos virus, lo que sugiere que la coinfección no es un fenómeno aislado, sino una entidad común que ocurre en diversas regiones geográficas. En este estudio, de las 64 muestras iniciales, 49 muestras (76.56%) fueron positivas a PVC, 5 muestras (7,81%) resultaron positivas para *circovirus*, de las cuales todas ellas fueron positivas a PVC, lo que sugiere un patrón consistente de coinfección similar a lo encontrado en China (Sun et al., 2019).

Este hallazgo es coherente con otros estudios que indican la asociación entre PVC y *circovirus*. En Italia, Zaccaria et al. (2016) encontraron que *circovirus* afectaba más a lobos que a perros domésticos, pero también encontraron coinfecciones con PVC en varias muestras. En el contexto de esto, aunque no se evalúan especies silvestres, la presencia de *circovirus* en perros domésticos sugiere que este virus puede estar extendido en diferentes poblaciones caninas, tanto salvajes como domésticas.

La prevalencia de *circovirus* en las muestras de este estudio (7,81%) es comparativamente baja en relación con estudios de otros países. Por ejemplo, en Vietnam, Tuong et al. (2021) reportaron una prevalencia del 19.8% de *circovirus* en cachorros diarreicos menores de siete meses de edad. Esta diferencia en la prevalencia podría deberse a factores epidemiológicos o diferencias en la metodología utilizada para la detección del virus. Sin embargo, estos datos son indicativos de la capacidad de *circovirus* para coinfectar junto con PVC y contribuir a cuadros clínicos graves, como lo mencionan Kotsias et al. (2019), quienes



encontraron que perros vacunados adecuadamente aún podían coinfectarse con ambos virus y desarrollar diarrea hemorrágica severa.

El hallazgo de cinco muestras positivas para *circovirus* en esta investigación es consistente con la evidencia de que este virus rara vez se encuentra como único patógeno responsable de cuadros clínicos graves. La mayoría de los estudios que han detectado *circovirus* en perros han señalado que este virus se encuentra comúnmente asociado a otros agentes patógenos, lo que parece indicar que su papel principal es el de un agente coinfectante que exagera la gravedad de las infecciones, debilitando el sistema inmunológico de los animales (Giraldo et al., 2020). Esto refuerza la hipótesis de que *circovirus* actúa como un cofactor en la coinfección con PVC, favoreciendo la diseminación viral y potencialmente aumentando la letalidad en perros jóvenes y debilitados.

Un aspecto importante de la coinfección es su impacto en el diagnóstico y tratamiento. La similitud de los signos clínicos entre PVC y *circovirus*, como vómitos y diarrea hemorrágica, puede dificultar la identificación precisa del agente causal, lo que a su vez podría retrasar el inicio de tratamientos específicos. Este hecho resalta la importancia de utilizar técnicas moleculares como la PCR para identificar de manera precisa ambos patógenos, tal como se realizó en este estudio y en otros informes previos (Kotsias et al., 2019; Sun et al., 2019).

Los resultados de este estudio confirman la presencia de *circovirus* en perros con gastroenteritis hemorrágica, todos coinfectados con *parvovirus canino*. Estos hallazgos son consistentes con estudios previos que indican que el *circovirus* rara vez actúa solo como agente etiológico, y que su coinfección con PVC puede exagerar los signos clínicos y complicar el tratamiento de los perros infectados. La investigación futura debe centrarse en comprender mejor los mecanismos por los cuales ambos virus interactúan y cómo afectan el sistema inmunológico canino para desarrollar estrategias de diagnóstico y tratamiento más eficaces.

Conclusión.

El presente trabajo permitió la identificación de *circovirus* en un conjunto de muestras previamente diagnosticadas como positivas a *parvovirus canino*. De las 64 muestras procesadas, 49 resultaron positivas para *parvovirus* y, a su vez, se logró detectar *circovirus* en cinco de estas muestras mediante PCR punto final. Estos hallazgos sugieren que, en algunos casos de gastroenteritis hemorrágica canina, puede coexistir la infección por ambos virus, lo que podría contribuir a la gravedad del cuadro clínico. La detección de *circovirus* en muestras de heces positivas a *parvovirus canino* resalta la importancia de realizar un diagnóstico más completo en casos de gastroenteritis, considerando la posibilidad de infecciones causadas por más de un agente infeccioso. Esta investigación aporta datos relevantes para entender la coinfección viral en perros y refuerza la necesidad de estudios futuros que exploren el impacto clínico y epidemiológico de estas coinfecciones en la salud animal.

Bibliografía.

1. Chen, N., Huang, Y., Ye, M., Li, S., Xiao, Y., Cui, B., & Zhu, J. (2019). Co-infection status of Classical Swine fever virus (CSFV), Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) and Porcine circoviruses (PCV2 and PCV3) in eight regions of China from 2016 to 2018. *Infection, Genetics and Evolution*, 68, 127-135. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2018.12.011>
2. Clewley, J. (1993). PCR detection of parvovirus B19. *Diagnostic Molecular Microbiology: principles and applications*. Washington, DC: Am Soc for Microb, 1993:367-373.
3. Dávila, P. G. A. (2021). Parvovirus canino tipo 2. Artículo de revisión bibliográfica (Canine parvovirus Type 2. Bibliographic Review Article).



4. Kotsias, F., Bucafusco, D., Nuñez, D. A., Borisovsky, L. A. L., Rodríguez, M. R., & Bratanich, A. (2019). Genomic characterization of canine circovirus associated with fatal disease in dogs in South America. *PLOS ONE*, 14(6), e0218735. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218735>
5. Li L, McGraw S, Zhu K, Leutenegger CM, Marks SL, Kubiski S, et al.. Circovirus in tissues of dogs with vasculitis and hemorrhage. *Emerg Infect Dis.* (2013) 19:534–41. doi: 10.3201/eid1904.121390
6. Polloçk, R. (1982). Experimental canine parvovirus infection in dogs. *Cornell Vet.* 72(2):103–119.
7. Quino Q, Raquel, Rímac B, Rocío, Luna E, Luis, Maturrano H, Lenin, & Rosadio A, Raúl. (2018). Detección de parvovirus canino tipo 2 (CPV-2) mediante PCR en perros de Lima Metropolitana. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29(3), 972-979. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i3.14771>
8. Sun, W., Wang, W., Xin, J., Cao, L., Zhuang, X., Cong, Z., Zhu, Y., Zhang, H., Qin, Y., Du, Q., Han, Z., Lu, H., Zheng, M., & Jin, N. (2019). An epidemiological investigation of porcine circovirus 3 infection in dogs in the Guangxi province from 2015 to 2017, China. *Virus Research*, 270, 197663. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2019.197663>
9. Tuong NM, Piewbang C, Rungsipipat A, Techangamsuwan S. Detection and molecular characterization of two canine circovirus genotypes co-circulating in Vietnam. *Vet Q.* (2021) 41:232–41. doi: 10.1080/01652176.2021.1967511
10. Vargas, L. (2023,). Circovirus canino: ¿un virus de enteritis emergente o endémico no diagnosticado? Axon Comunicacion. Expertos en soluciones integrales.
11. Zaccaria, G., Malatesta, D., Scipioni, G., Di Felice, E., Campolo, M., Casaccia, C., Savini, G., Di Sabatino, D., & Lorusso, A. (2016). Circovirus in domestic and wild carnivores: an important opportunistic agent? *Virology*, 490, 69-74. <https://doi.org/10.1016/j.virol.2016.01.007>