

Gastroenterite canina - agentes virais nas fezes de cães diarréicos e não diarréicos

(*Canine gastroenteritis - viral agents in feces from diarrheic and non-diarrheic dogs*)

V.S.F. Homem¹, Y.G. Mendes², A.C. Linhares²

¹Faculdade de Ciências Agrárias do Pará
Rua Coronel Melo de Oliveira, 914
05011-040 – São Paulo, SP

²Instituto Evandro Chagas, Belém, Pará

RESUMO

Foram analisadas 33 amostras de fezes de cães com diarréia (n=25) e sem diarréia (n=8), de variadas idades e raças, de ambos os sexos, a fim de se determinar a ocorrência de agentes virais considerados causadores da gastroenterite no cão, suas possíveis associações e a participação no complexo gastroenterite canina, buscando relacionar a etiologia viral com o histórico de vacinação, além do exame clínico dos animais. Utilizou-se microscopia eletrônica nas 33 amostras fecais e o teste ELISA em 71 amostras para detecção de antígeno de rotavírus e adenovírus. Partículas virais foram detectadas em 75,8% (25/33) do total de amostras diarréicas ou não, examinadas à microscopia eletrônica. Em 44% dos espécimes positivos para vírus (11/25), o vírus-like tipo 1 foi o mais detectado nas amostras fecais, seguido pelo parvovírus (24%). A ocorrência de diarréia com sangue esteve associada a 90,9% dos agentes detectados, variando em freqüência de 25% a 100% dos casos.

Palavras-Chaves: Cão, gastroenterite, diarréia.

ABSTRACT

Fecal samples from both diarrheic (n=25) and non-diarrheic (n=8) dogs of both sexes, with varying ages and breeds, were examined by electronic microscopy (EM) in order to determine candidate viral pathogens which would be associated with gastroenteritis, particularly the canine gastroenteritis complex, in an attempt to correlate viral etiology and clinical and vaccination history. In addition to EM, 71 stool samples were tested by ELISA to detect either rotavirus or adenovirus antigens. Viral particles could be visualized by EM in 25 (75.8%) of the 33 samples. Type-I virus-like structures and parvoviruses were frequently detected, accounting for 44% and 36% of the virus-positive preparations. Bloody diarrhea was noted in 90.9% of dogs that were excreting viral particles.

Keywords: Dog, gastroenteritis, diarrhea

INTRODUÇÃO

A gastroenterite viral é uma condição infecto-contagiosa sujeita a determinados fatores de risco de transmissão e de manutenção dos agentes na

população animal e no ambiente. Uma vez presente algum agente viral, o curso clínico da doença e o seguimento da infecção são influenciados pela idade do animal, dose do vírus recebida, rota da infecção, composição da flora microbiana

Recebido para publicação, após modificação, em 26 de agosto de 1999.
E-mail: vhomen@usp.br

intestinal, condições debilitantes e infecções intercorrentes.

Mahl (1994) sugeriu variadas causas de gastroenterite canina e Evermann et al. (1988) acrescentaram a elas algumas viroses do complexo gastroenterite canina, causadas pelos minutovírus, calicivírus (1985), herpesvírus, astrovírus, picornavírus (Pollock & Carmichael, 1979) e enterovírus caninos. Todos eles foram detectados nas fezes diarréicas de cães.

Sabe-se que associações virais podem ocorrer com relativa freqüência em um mesmo processo gastrointérino (Evermann et al., 1988). Acredita-se que as infecções entéricas caninas persistem devido a dois aspectos, representados pelo bloqueio dos anticorpos de origem materna e pelas múltiplas etiologias associadas ao complexo gastroenterite canina. Uma vez determinadas as variadas causas que, agrupadas, formam a etiologia geral do complexo, torna-se fundamental estabelecer uma relação entre o(s) agente(s) etiológico(s) e os possíveis hospedeiros dos vírus de modo geral (Harrenstein et al., 1997; Martinello et al., 1997; Mech et al., 1997) e a manifestação clínica da doença (Mahl, 1994; Chappuis, 1982).

O parvovírus, dentre os vírus de tropismo digestivo, vem sendo o mais importante agente etiológico das afecções digestivas, responsável por altas taxas de morbidade e mortalidade no interior de coletividades; a alta freqüência está aliada com a grande resistência do vírus no meio externo (Pollock, 1985). Já a coronavirose canina, presente em canis, não conduz a altas taxas de mortalidade, embora esteja mais difundida que a parvovirose. Entretanto, a infecção dupla é favorecida pela superposição dos mecanismos patogênicos de ambos os vírus (Appel, 1988).

Como objetivos deste trabalho, buscou-se registrar a incidência de vírus que infectam o trato gastrointestinal do cão, estabelecer eventuais associações virais e correlacionar a condição geral do animal com os resultados obtidos da amostra de material fecal.

MATERIAL E MÉTODOS

Colheram-se 70 amostras de fezes, de abril a julho de 1996, sendo 29 amostras no Serviço de Clínica Médica do Hospital Veterinário da Faculdade de Ciências Agrárias do Pará, em Belém, PA, e 41

amostras no Serviço de Atendimento de Moléstias Infeciosas do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, em Botucatu, SP. A coleta de fezes de cães diarréicos e não diarréicos foi feita na proporção de 3:1.

Aplicou-se um questionário padrão para obtenção de dados sobre identificação do animal e informações clínicas. Os dados clínicos consistiram na verificação da temperatura, da condição das mucosas e dos linfonodos, do grau de hidratação e estado geral e do levantamento de sintomas e sinais clínicos da doença, por meio do exame de cada animal.

Em 33 amostras foi utilizado o método de microscopia eletrônica (ME) direto (Barth, 1984). Amostras de material fecal em *grids* foram examinadas em um microscópio eletrônico (Flewett et al., 1974) de transmissão¹. Para se estabelecer um diagnóstico foram observados pelo menos cinco *squares* de cada *grid*. Das 33 amostras, 72,7% eram de animais entre 1 e 5 meses de idade, 51,5% deles com raça definida (CRD), predominando a raça Doberman (35,3%). Quanto ao sexo, 60,6% eram machos e 39,4% fêmeas, e 81,8% viviam em casas.

Foram utilizados o teste de ELISA para detecção de抗ígenos de rotavírus - teste de ELISA Dakopatts®² (Flewett et al., 1989) e o teste de ELISA Eiara® para detecção dos抗ígenos de rotavírus e adenovírus da Fundação Oswaldo Cruz³ (Pereira et al., 1985).

A organização dos dados obtidos foi feita pelo programa de computador de epidemiologia e estatística *EpiInfo* versão 6.0, com análise dos dados obtidos na anamnese e exame clínico relacionados aos resultados laboratoriais de microscopia eletrônica e teste ELISA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os cães com até cinco meses de idade foram os mais acometidos pela gastroenterite de etiologia viral, não sendo possível atribuir maior ou menor importância ao aspecto racial, em função do número relativamente reduzido de animais. Dos 33

¹ Reiss, modelo EM 900, 80 KV

² Dakopatts® código n° K 349, Copenhague, Denmark

³ FIOCRUZ, Rio de Janeiro, Brasil

cães cujas amostras fecais foram examinadas pela microscopia eletrônica, a maioria era de diarréicos não vacinados (51,5%, 17/33) em relação aos animais sem diarréia não vacinados (21,2%, 7/33) (Tab. 1).

Ocorreram 75,8% de animais positivos para vírus (Tab. 2), desses, 24% representados por partículas compatíveis com parvovírus (Fig. 1), 4% por partículas de rotavírus (Fig. 3), 4% compatíveis com paramixovírus (Fig. 2) em associação com o parvovírus, 8% por *coronavirus-like* (Fig. 4), 44% por partículas *virus-like* tipo 1 (Fig. 5), 12% compatíveis com a associação do parvovírus com o *virus-like* tipo 1 e 4% por partículas *virus-like* tipo 2 (Fig. 6). Classificaram-se como *virus-like* tipos 1 e 2 as partículas de aspecto morfológico bastante sugestivas de vírus, em função da homogeneidade das estruturas internas e contorno, da aproximação entre os valores de diâmetro, sua repetitividade e predomínio da ocorrência do tipo 1 nos animais diarréicos (28%).

Os agentes virais mais comuns nos dois primeiros dias de manifestação da diarréia (Tab. 3) foram o parvovírus (25%) e o *virus-like* tipo 1 (18,7%). Existe, aparentemente, uma excreção prolongada das partículas de *virus-like*, pois três dos sete animais (42,3%) que apresentaram tais partículas

excretaram-nas até o sexto dia de diarréia, quando foram colhidas as amostras fecais.

Todos os cães positivos para parvovírus não tinham sido vacinados ou estavam sob esquema de vacinação incompleto ou desatualizado contra a parvovirose. O parvovírus, mesmo com vacinas disponíveis no mercado, ainda é o vírus de maior destaque no quadro da etiologia da gastroenterite viral no cão e o mais patogênico quanto à sintomatologia clínica que desencadeia nos animais. Constatou-se que a grande maioria dos cães não estava com o esquema de vacinação completo atualizado (93,9%). Ainda nos dias de hoje procura-se estudar o papel das vacinas e a proteção imunológica contra as afecções virais que afetam o trato gastrointestinal do cão, tanto contra a parvovirose (Harrenstein et al., 1997; Larson & Schultz, 1997; McCaw et al., 1997; Yule et al., 1997) como contra a cinomose (Ek-Kommonen et al., 1997). É importante citar que apenas 36,4% do total de animais estavam em dia com o esquema de vermiculação, segundo os proprietários (Tab. 2), o que é insuficiente na prevenção de parasitos gastrointestinais. Pode-se considerar tal tendência como um reflexo do que ocorre na população de cães, o que chega inclusive a promover maior predisposição dos animais a serem acometidos por viroses entéricas (Evermann et al., 1988; Mahl, 1994).

Tabela 1. Ocorrência de gastroenterite viral em cães segundo a idade, o estado vacinal e a presença de diarréia.

Idade (Meses)	Vacinados						Não vacinados			
	VP		VCHL		VCHLPCR					
	C	S	C	S	C	S				
1 - 3	2*				2*		8	5		
4 - 5	2*		1*				4			
> 6					1*	1	5	2		

C = com diarréia; S = sem diarréia; *esquema de vacinação incompleto;

VP = vacina contra parvovirose; VCHL = vacina contra cinomose, hepatite canina e leptospirose; VCHLPCR = vacina contra cinomose, hepatite canina, leptospirose, parvovirose, coronavírus e raiva.

Tabela 2. Identificação dos agentes causadores de gastroenterite canina pela microscopia eletrônica em cães com e sem diarréia

Agente	Vacinação atualizada	Com diarréia		Sem diarréia	
		Não vacinado ou vacinação desatualizada	Vacinação atualizada	Não vacinado ou vacinação desatualizada	Vacinação atualizada
Parvovírus		6*			
Rotavírus		1*			
Paramixovírus + Parvovírus		1*			
<i>Coronavirus-like</i>		2*			
<i>Parvovírus + Type 1 Virus-like</i>		2			
<i>Type 1 Virus-like</i>	2	5*			
<i>Type 2 Virus-like</i>		1*			4*
Fagos		2			
Bactéria		1	1*		2
Negativo		2			

* não vermiculado ou vermiculação desatualizada

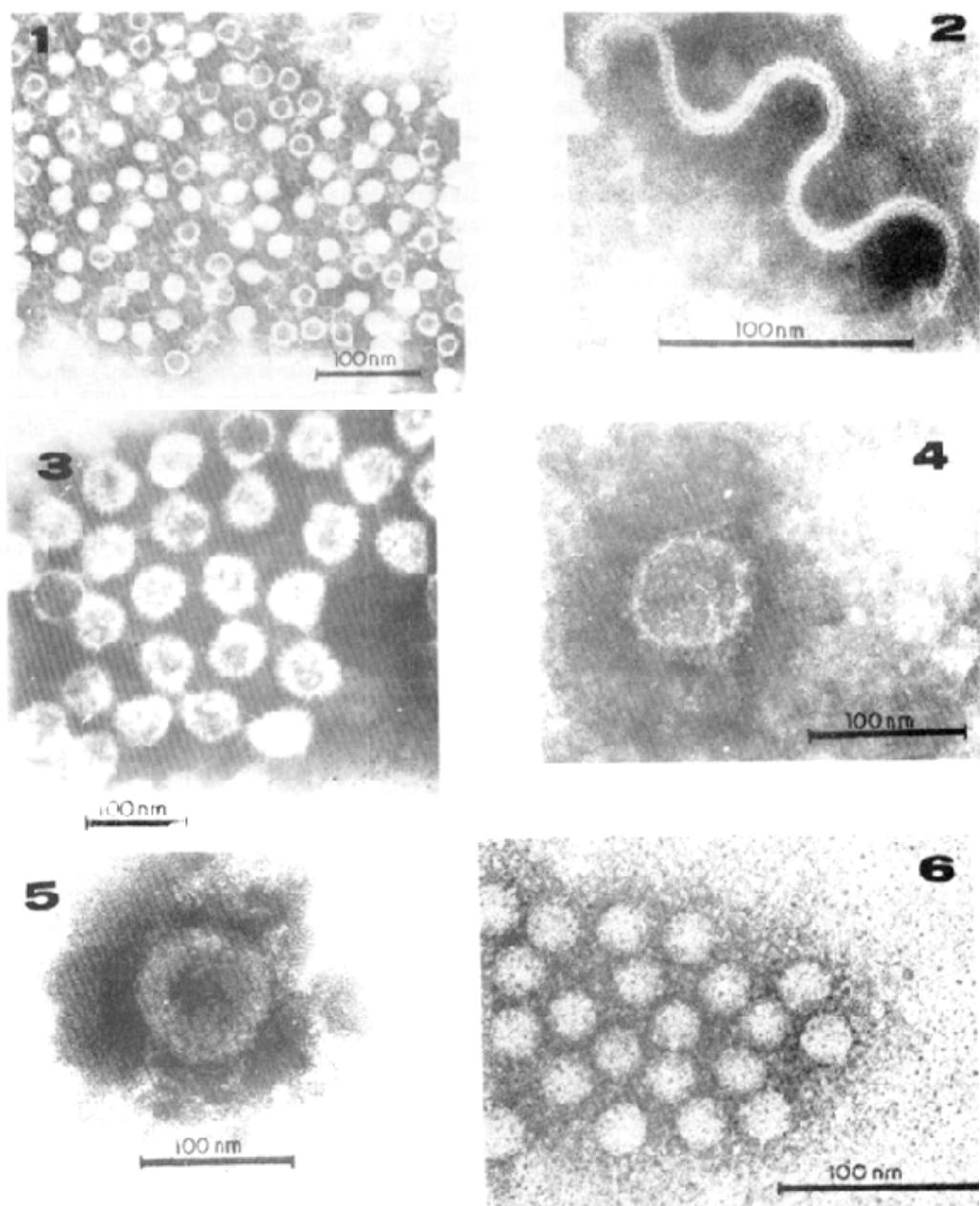


Figura 1. Partículas de parvovírus; Figura 2. Partículas de paramixovírus; Figura 3. Partículas de rotavírus; Figura 4. Partículas *coronavirus-like*; Figura 5. Partículas *virus-like* tipo 1; Figura 6. Partículas *virus-like* tipo 2

Tabela 3. Agentes detectados pela microscopia eletrônica segundo o dia da coleta de material fecal no período de diarréia.

Agente	Dias após o aparecimento da diarréia (dias)					
	1°	2°	3°	4°	5°	6°
Parvovírus	1	3	1			1
Rotavírus		1				
Paramixovírus + Parvovírus		1				
<i>Coronavirus-like</i>			1			1
<i>Parvovirus + Type 1 Virus-like</i>	1	1				
<i>Type 1 Virus-like</i>	1	2		1		3
<i>Type 2 Virus-like</i>				1		
Fagos	1	1				
Bactéria		1				
Negativo	1	1				

Outros agentes possivelmente integrantes do quadro etiológico do complexo gastroenterite canina, como os bacterianos, fúngicos e parasitários, não foram determinados neste estudo, tendo sido especificamente tomada como ponto de pesquisa a etiologia viral da gastroenterite no cão. Portanto, os poucos dados referentes a outros agentes ou foram detectados na microscopia eletrônica ou provenientes da anamnese, tendo sido considerados complementares aos dados relacionados aos vírus.

A Tab. 4 relaciona todos os agentes virais detectados com o conjunto de sintomas clássicos atribuídos à gastroenterite viral canina, indicando quais desses sintomas predominaram para cada agente viral. Tomando-se a diarréia como o

primeiro sintoma de referência, tem-se o caráter sanguinolento associando-se a 90,9% dos agentes detectados, variando em freqüência de 25% a 100% dos casos. Sintomas como hiporexia/anorexia, sensibilidade abdominal e apatia estiveram associados a 100% dos agentes, numa variação de freqüência de 45% a 100% dos casos. A ocorrência de vômitos variou de 36% a 100% dos casos, salvo para amostras com fagos. O grau de desidratação variou de 5% a 10%. Quanto à hipertermia, somente 45% dos animais positivos para *virus-like* tipo 1 indicaram temperatura acima de 39,5°C, dentro do grupo de animais positivos para vírus. A temperatura retal mínima observada foi de 37,8 e a máxima de 40,5°C, sendo a maioria entre 38,5 e 39,5°C.

Tabela 4. Freqüência de sinais clínicos de gastroenterite segundo o agente infeccioso.

Sintoma	Parvovírus (n=6)	Rotavírus (n=1)	Paramixo- vírus+ Parvovírus (n=1)	Coronavi- Rus-like (n=2)	Parvovírus+ Type 1 Vírus- like(n=3)	Type 1 Vírus-like (n=11)	Type 2 Vírus-like (n=1)	Fagos (n=2)	Bactéria (n=4)	Negativo (n=2)
Diarréia:										
Sanguinolenta	33%	100%		100%	33%	27%		50%	25%	50%
Semilíquida	16%					27%		50%		50%
Aquosa	33%									
Escura	16%		100%		33%					
Vômito	100%	100%	100%	100%	66%	36%		50%		
Anorexia	100%	100%	100%	100%	66%	81%	100%		75%	
Desidratação										
5%	66%		100%	100%		18%	100%		50%	50%
7%	33%	100%						50%		
10%		100%				45%				
Dor abdominal	100%	100%	100%	100%		45%	100%		50%	50%
Apatia	100%	100%	100%	100%		81%	100%		50%	
Hipertermia (>39,5°C)						45%			50%	50%

Em relação às partículas classificadas neste estudo como *virus-like*, tem-se a citar sua freqüência em 11 amostras. O seu aspecto morfológico é indicativo de partícula viral e há o fato de estar

presente em 28% dos animais diarréicos (n=7) e em 50% dos não diarréicos (n=4), além de apresentar-se associado com parvovírus em três casos (12%). Chama a atenção o fato de 100% das amostras

positivas para *virus-like* tipo 1 e sua associação com parvovírus serem provenientes de animais do Estado do Pará (n=11), e nenhuma do Estado de São Paulo, embora tenham sido avaliadas somente seis amostras provenientes de São Paulo. Confirmado tratar-se de vírus, supõe-se não ser dotado de caráter enteropatogênico. Ressalte-se, ainda, que a hipertermia ocorreu sobretudo em 45% dos cães positivos para tal agente, o que não ocorreu nos casos dos demais vírus. Quando a amostra (código de número 23) foi inoculada em cultura celular LLCMK2 para se detectar algum efeito citopatogênico, houve leve alteração suspeita na primeira inoculação, mas não se observou qualquer resultado significativo na segunda passagem em cultivo celular (mesmas células). Falta determinar a família e o gênero virais e, em última análise, saber se não se trata de um vírus canino ainda não descrito, tendo como base o atual conhecimento da etiologia viral da gastroenterite, abrindo-se, então, espaço para estudos ulteriores, inclusive para determinar sua possível importância regional.

Quanto às partículas *virus-like* tipo 2, o aspecto morfológico, seu tamanho e contorno são bastante sugestivos de tratar-se, eventualmente, de um *calicivirus-like*. Uma série de estudos complementares deve ser efetuada a fim de se confirmar tal hipótese. Em caso positivo, seria muito próximo ao calicivírus relatado nos felinos, podendo-se realizar, por exemplo, uma prova de imunomicroscopia eletrônica com anti-soro específico para o calicivírus (Evermann et al., 1985).

AGRADECIMENTOS

Ao Manoel do Carmo Soares, Joana D'Arc Mascarenhas, José Antônio, Cereja, Antônio de Moura, Antônio Miranda e Antônia dos Santos Alves, do Instituto Evandro Chagas; à Hatune Tanaka, da Faculdade de Medicina da UNESP/Botucatu; à Kunie Coelho e Jonas, do Instituto Adolfo Lutz; ao Edson Durigon, do Instituto de Ciências Biomédicas/USP, a todos pela ajuda e apoio indispensáveis. Ao pessoal do Hospital Veterinário da FMVZ/UNESP, em Botucatu, pela colheita das amostras. Ao Gilmar, do Hospital Veterinário da FCAP; às Clínicas

Veterinárias São Francisco e Clinvetam em Belém, pela atenção e suporte.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APPEL, M.J.G. Does canine coronavirus augment the effects of a subsequent parvovirus infection? *Vet. Med.*, v.83, p.360-366, 1988.
- BARTH, O.M. Estudos sobre a contrasteção negativa de suspensões virais. *Rev. Bras. Biol.*, v.44, p.70-80, 1984.
- CHAPPUIS, G. Étiopathogénie des affections digestives d'origine virale chez le chien. *Réc. Méd. Vét.*, v.158, p.107-113, 1982.
- EK-KOMMONEN, C., SIHVONEN, L., PEKKANEN, K. et al. Outbreak of canine distemper in vaccinated dogs in Finland. *Vet. Rec.*, v.141, p.380-383, 1997.
- EVERMANN, J.F., Mc KEIRMAN, A.J., EUGSTER, A.K. et al. Update on canine coronavirus infections and interactions with other enteric pathogens of the dog. *Compan. Anim. Pract. (Canine Pract.)*, v.19, p.6-122, 1988.
- EVERMANN, J.F., Mc KEIRMAN, A.J., SMITH, A.W. et al. Isolation and identification of caliciviruses from dogs with enteric infections. *Am. J. Vet. Res.*, v.46, p.218-220, 1985.
- FLEWETT, T.H., BRYDEN, A.S., DAVIES, H. Diagnostic electron microscopy of faeces. I. The viral flora of faeces as seen by electron microscopy. *J. Clin. Pathol.*, v.27, p. 603-614, 1974.
- FLEWETT, T.H., ANAS, C.F., AVENDANO, L.F. et al. Comparative evaluation of the WHO and DAKOPATTS enzyme-linked immunoassay kits for the rotavirus detection. *Bull. World Health Org.*, v.67, p.369-374, 1989.
- HARRENSTEIN, L.A., MUNSON, L., RAMSAY, E.C. et al. Antibody responses of red wolves to canine distemper virus and canine parvovirus vaccination. *J. Wildl. Dis.*, v.33, p.600-605, 1997.
- LARSON, L.J., SCHULTZ, R.D. Comparison of selected canine vaccine for their ability to induce protective immunity against canine parvovirus infection. *Am. J. Vet. Res.*, v.58, p.360-3, 1997.
- MCAW, D.L., TATE, D., DUBOVI, E.J. et al. Early protection of puppies against canine parvovirus: a comparison of two vaccines. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, v.33, p.244-50, 1997.
- MAHL, P. As gastroenterites do cão. *Cães Gatos*, v.9, p.24, 1994.
- MARTINELLO, F., GALUPPO, F., OSTANELLO, F. et al. Detection of canine parvovirus in wolves from Italy. *J. Wildl. Dis.*, v.33, p.628-631, 1997.
- MECH, L.D., KURTZ, H.J., GOYAL, S. Death of a wild wolf from canine parvoviral enteritis. *J. Wildl. Dis.*, v.33, p.321-322, 1997.
- PEREIRA, H.G., AZEREDO, R.S., LEITE, J.P. et al. A combined enzyme immunoassay for rotavirus and adenovirus (EIARA). *J. Virol. Methodol.*, v.10, p.21-28, 1985.
- POLLOCK, R.V.H. Os parvovírus. *Cães Gatos*, v.1, p.34-41, 1985.
- POLLOCK, R.V.H., CARMICHAEL, L.E. Canine viral enteritis: recent developments. *Mod. Vet. Pract.*, v.60, p.375-380, 1979.
- YULE, T.D., ROTH, M.B., DREIER, K. et al. Canine parvovirus vaccine elicits protection from the inflammatory and clinical consequences of the disease. *Vaccine*, v.15, p.720-9, 1997.