

UNIVERSIDADE DE TRÁS-OS-MONTES E ALTO DOURO

Doenças Infeciosas em Cães: uma Abordagem Clínica

Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária

Ana Gomes Pinto Basto

Orientador:

Professora Doutora Ana Cláudia Coelho

Coorientador:

Professor Doutor Nuno Francisco Fonte Santa Alegria



Vila Real, 2018

UNIVERSIDADE DE TRÁS-OS-MONTES E ALTO DOURO

Doenças Infeciosas em Cães: uma Abordagem Clínica

Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária

Ana Gomes Pinto Basto

Orientador: Professora Doutora Ana Cláudia Coelho

Coorientador: Professor Doutor Nuno Francisco Fonte Santa Alegria

Composição do Júri:

Professora Doutora Felisbina Luísa Pereira Guedes Queiroga

Professor Doutor Carlos Alberto Antunes Viegas

Vila Real, 2018

O conteúdo do presente trabalho é da inteira responsabilidade do autor.

Agradecimentos

Quero agradecer ao magnífico Reitor da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro e à própria instituição por nela terem sido vividas muitas emoções e experiências que me ajudaram a crescer e a moldar a minha pessoa.

À minha admirada e querida orientadora Professora Doutora Ana Cláudia Coelho por ser sempre tão pronta e prestável. Um enorme obrigado por todo o apoio e ajuda prestados, pela paciência inabalável e por transmitir, em todos os momentos, a sua capacidade de trabalho e competência.

Ao meu coorientador, o Professor Doutor Nuno Alegria, por ter aceitado prontamente ajudar-me a realizar este trabalho. Sem os seus infinitos conhecimentos na área da virologia, a escrita desta dissertação não teria sido viável. Obrigada pela sua paciência em corrigir o trabalho.

Ao corpo clínico e a todos os funcionários do Hospital Veterinário da Trofa que me acompanharam durante todo o estágio curricular. Obrigada pela oportunidade, confiança, paciência e carinho demonstrados e por todo o conhecimento partilhado.

À estimada Dr^a. Sandra Couto pelas oportunidades que me permitiu. Um enorme obrigada pelo carinho demonstrado, desde o primeiro dia, pela constante partilha de conhecimento e por todos os bons conselhos. À querida Marisa Marques pelos bons momentos partilhados e pelas palavras amigas de confiança e incentivo. Obrigada pela amizade de ambas.

Às minhas companheiras de casa que tornaram os anos passados em Vila Real mais leves e com menos saudades de casa. Obrigada à Catarina e vizinha de quarto, a melhor cozinheira do mundo, por todos os momentos de apoio, de desabafo, de companheirismo. Obrigada pela paciência infinita e por toda a amizade no seu significado mais puro. À Filipa pela sua amizade, por ajudar a enfrentar todos os pianos e por fornecer o ingrediente mais importante destes cinco anos: café. Obrigada por terem sido a minha casa e família em Vila Real, por terem permitido a partilha constante de alegrias e frustrações, pela entajuda sempre presente. Que a cumplicidade que nos uniu se mantenha por longos anos.

Às minhas amigas Chica, Teresa, Bessa, Guidu, Mimoso, Duda, Sara e ao Vitor por fazerem valer o significado da palavra amizade. Obrigada pelos sorrisos, gargalhadas, lágrimas, desabafos, conselhos, telefonemas e viagens partilhados. Obrigada por todos os momentos de diversão, pelo companheirismo e amizade.

Aos meus amigos do acarinhado 8^ºdto, Carlos, Lé e Tiago, pelos momentos de distração hilariantes e por todas as viagens que permitiram conhecer a envolvência de Vila

Real e ganhar um carinho especial pela cidade. Obrigada pela constante demonstração da palavra ‘partilha’ e ‘amizade’.

Às minhas amigas de escola, Sara Luísa e Ana Amorim, à sua longa amizade que apesar de toda a distância imposta entre nós, arranjam sempre tempo para nos juntarmos.

À minha família e amigos, por me apoiarem, durante estes cinco longos anos, com palavras meigas e confiantes.

À minha querida avó Lola, por ser o meu exemplo de bondade e generosidade. Obrigada por todo o apoio e carinho, por nunca ter duvidado das minhas ambições e por me ter dedicado tantas orações e velinhas nas horas de maiores apuros.

Ao César, que tive o prazer de conhecer durante os anos de curso. Um obrigada do tamanho do mundo pela paciência inesgotável, pelo companheirismo e carinho constantes, pelo apoio nas horas de estudo e companhia nas horas de distração. Obrigada por acreditares sempre em mim. Por me arrancares sorrisos sempre que me esqueço de sorrir. Por me chamares à razão quando me desvio do caminho traçado. Por me acompanhares na realização deste sonho, que é nosso, e partilhares comigo alcançar o fim desta primeira etapa.

Às pessoas mais importantes da minha vida: os meus pais e a minha irmã. Um obrigado infinito pela oportunidade que me proporcionaram, sem vocês este sonho não poderia ser realizado. À minha mãe, Mena, por acreditar sempre em mim, mesmo nos momentos de dúvidas maiores. Obrigado pelo amor e apoio incondicionais, pela constante preocupação e por estar sempre presente, independentemente da distância. Ao meu pai, Vitor, por me alimentar os sonhos e não permitir desistências. Obrigado pelo amor e confiança dedicados, por compreender a dificuldade que foi o desafio destes cinco anos. À minha irmã, Marta, por me fazer sentir saudades de casa e de todas as discussões que só os irmãos sabem iniciar e terminar à velocidade de um piscar de olhos, mantendo inalterada a cumplicidade que distingue este grau de parentesco.

À Pintas por ter sido uma fiel companheira, durante dezasseis alegres anos. À Kitkat pela companhia nas horas de estudo e pelo ronronar apaziguador nas horas de maior pressão.

À minha querida Anita pela sua forma de ser única, por todos os ensinamentos, pela sua infinita e inestimável dedicação. Fica a imensa saudade de todos os doces momentos.

E às minhas duas patudinhas, Belle e Branquinha, pela companhia durante todo o processo de escrita deste trabalho, por me proporcionarem importantes momentos de descontração da forma mais engraçada e por me permitirem vislumbrar o melhor da vossa mãe sempre que olho para vocês. Que me acompanhem por muitos e longos anos.

Resumo

Durante o período de 31 de Outubro de 2016 a 31 de Março de 2017 foi realizado um estágio curricular, no Hospital Veterinário da Trofa. Tendo por base os casos clínicos observados, são abordados, no presente trabalho, três temas de doenças infecciosas que afetam a população canina: Coronavirose, Parvovirose e Esgana. Para cada tema foi realizada uma revisão bibliográfica, descrição dos respetivos casos clínicos observados e discussão.

Nos casos relativos à infeção por coronavírus e parvovírus todos os animais tiveram um prognóstico favorável e alta médica. Contudo, no caso da infeção por Esgana, ambos os animais não sobreviveram. Os casos clínicos de doenças infecciosas apresentados nesta dissertação foram tratados e abordados do ponto de vista clínico pelos médicos veterinários, em consonância com o descrito na bibliografia, tendo apresentado uma resposta ao tratamento e um prognóstico expetável a cada uma das situações.

Palavras-Chave: Doenças Infecciosas, Médico Veterinário, Animais de Companhia, Abordagem Clínica, Casos Clínicos.

Abstract

During the period of 31 of October 2016 to 31 of March 2017, a curricular study was carried out, in the Hospital Veterinário da Trofa. In this period, clinical cases of infectious diseases in dogs were observed and related in this dissertation: Coronavirus, Parvovirus and Distemper. For each topic, the state-of-the art was carried out, and the relevant clinical cases were described and discussed.

In cases related to coronavirus and parvovirus infection, all animals have a favorable prognosis and high medical status. However, in the case of Distemper infection, both animals didn't survive. Clinical patients of infectious diseases were informed of problems and approaches from the clinical point of view by the veterinarians, in agreement with the one described in the bibliography, having a response to the treatment and a predictable prognosis for each one of the situations.

Keywords: Infectious Diseases, Veterinary Physician, Pets, Public Health, Clinical Approach, Clinical Cases.

Índice Geral

1. INTRODUÇÃO	1
2. DOENÇAS INFECIOSAS.....	3
2.1. Infecção por Coronavírus	3
2.1.1. Introdução.....	3
2.1.2. Epidemiologia	5
2.1.3. Patogenia	7
2.1.4. Imunidade.....	7
2.1.5. Quadro Clínico e Lesional.....	8
2.1.6. Diagnóstico.....	10
2.1.7. Tratamento	13
2.1.8. Prognóstico.....	13
2.1.9. Prevenção e Controlo	13
2.2. Infecção por Parvovírus.....	16
2.2.1. Introdução.....	16
2.2.2. Epidemiologia	17
2.2.3. Patogenia	20
2.2.4. Imunidade.....	22
2.2.5. Quadro Clínico e Lesional.....	22
2.2.6. Diagnóstico.....	24
2.2.7. Tratamento	28
2.2.8. Prognóstico.....	31
2.2.9. Prevenção e Controlo	32
2.3. Infecção pelo Vírus da Esgana	35
2.3.1. Introdução.....	35
2.3.2. Epidemiologia	37

2.3.3.	Patogenia	39
2.3.4.	Imunidade.....	40
2.3.5.	Quadro Clínico e Lesional.....	41
2.3.6.	Diagnóstico.....	44
2.3.7.	Tratamento	47
2.3.8.	Prognóstico.....	48
2.3.9.	Prevenção e Controlo	49
3.	OBJETIVOS	53
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	55
4.1.	Materiais	55
4.1.1.	Animais em estudo	55
4.1.2.	Recolha de Dados.....	55
4.2.	Métodos	56
4.2.1.	Considerações Gerais	56
4.2.2.	Exames Complementares	57
4.2.2.1.	Hemograma e Leucograma	57
4.2.2.2.	Bioquímica Sérica.....	58
4.2.2.3.	Teste Rápido para despiste de doenças infecciosas (CCoV/CPV).....	59
4.2.2.4.	Hemocomponentes.....	60
5.	CASOS CLÍNICOS	61
5.1.	Infeção por Coronavírus	61
5.1.1.	Caso clínico A	61
5.1.2.	Caso Clínico B	66
5.2.	Infeção por Parvovírus.....	70
5.2.1.	Caso Clínico C	70
5.2.2.	Caso Clínico D	75
5.3.	Infeção pelo Vírus da Esgana	79

5.3.1. Caso Clínico E.....	79
6. DISCUSSÃO	87
6.1. Infecção por Coronavírus	87
6.2. Infecção por Parvovírus.....	89
6.3. Infecção pelo vírus da Esgana	93
7. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS	97
8. BIBLIOGRAFIA.....	98

Índice de Figuras:

Figura 1: Distribuição geográfica das variantes antigénicas do parvovírus canino, na população de cães, em Portugal. Dados recolhidos entre 2012 e 2014.....	19
Figura 2: Aparelho de hemograma BC-2800 Vet, da Mindray®	57
Figura 3: Aparelho para análises de bioquímica sérica DRI-CHEM 4000i.....	58
Figura 4: Teste rápido para despiste de parvovírus e coronavírus	59
Figura 5: Imagem das possibilidades de resultados obtidos pelo teste Uranotest	59
Figura 6: Exemplos de hemocomponentes disponibilizados pelo BSA	60
Figura 7: Imagem do resultado positivo para coronavírus do teste de despiste realizado no caso clínico B, no dia 27 de Março de 2016	68
Figura 8: Imagens referentes ao caso clínico E, obtidas através do Raio-X do animal E1, no dia 3 de Março de 2016	80
Figura 9: Imagens referentes ao caso clínico E, onde se observam os corrimentos nasais dos animais E1 (A) e E2 (B).....	84
Figura 10: Imagens referentes ao caso clínico E	85
Figura 11: Imagem referente ao caso clínico E. Mucosas cianóticas do animal E2, no dia 15 de Março de 2016.....	86

Índice de Tabelas:

Tabela 1: Parâmetros de hemograma e leucograma analisados e respectivos valores de referência para o cão do aparelho BC-2800 Vet	57
Tabela 2: Parâmetros de análises bioquímicas utilizadas e respectivos valores de referência para o cão DRI-CHEM 4000i.....	58
Tabela 3: Informação Referente ao Caso Clínico A	61
Tabela 4: Resultados obtidos no hemograma do caso clínico A, realizado no dia 22/01/2017	62
Tabela 5: Resultados da análise bioquímica do caso clínico A, realizado no dia 22/01/2017	62
Tabela 6: Resultados da análise bioquímica de controlo do caso clínico A, realizado no dia 29/01/2017.....	64
Tabela 7: Resultados obtidos no hemograma de controlo do caso clínico A, realizado no dia 31/01/2017.....	65
Tabela 8: Informação referente ao caso clínico B.....	66
Tabela 9: Resultados obtidos no hemograma do caso clínico B, realizado no dia 27/03/2017	67
Tabela 10: Resultados da análise da bioquímica do caso clínico B, realizado no dia 27/03/2017.....	67
Tabela 11: Resultados obtidos no hemograma de controlo do caso clínico B, realizado no dia 29/03/2017.....	69
Tabela 12: Informação referente ao caso clínico C.....	70
Tabela 13: Resultados obtidos no hemograma do caso clínico C, realizado no dia 25/12/2016	71
Tabela 14: Resultados da análise de bioquímica do caso clínico C, realizada no dia 25/12/2016.....	71
Tabela 15: Resultados obtidos no hemograma de controlo do caso clínico C, realizado no dia 27/12/2016.....	72
Tabela 16: Resultados obtidos no hemograma de controlo do caso clínico C, realizado no dia 28/12/2016.....	73
Tabela 17: Resultados obtidos no hemograma de controlo do caso clínico C, realizado no dia 30/12/2016.....	74

Tabela 18: Resultados obtidos no hemograma de controlo do caso clínico C, realizado no dia 02/01/2017.....	74
Tabela 19: Informação referente ao caso clínico D	75
Tabela 20: Resultados obtidos no hemograma do caso clínico D, realizado no dia 26/12/2016	76
Tabela 21: Resultados da análise bioquímica do caso clínico D, realizado no dia 26/12/2016	77
Tabela 22: Resultados obtidos no hemograma de controlo do caso clínico D, realizado no dia 29/12/2016.....	78
Tabela 23: Informação referente ao caso clínico E.....	79
Tabela 24: Resultados obtidos no hemograma do caso clínico E, referente ao animal E1, realizado no dia 03/03/2017	81
Tabela 25: Resultados da análise de bioquímica do caso clínico E, referente ao animal E1, realizado no dia 03/03/2017	81
Tabela 26: Resultados obtidos no hemograma do caso clínico E, realizado no dia 11/03/2017	82
Tabela 27: Resultados da análise de bioquímica do caso clínico E, realizada no dia 11/03/2017.....	83
Tabela 28: Resultados obtidos no hemograma de controlo do caso clínico E, realizado no dia 15/03/17.....	85
Tabela 29: Resultados da análise bioquímica do caso clínico E, realizada no dia 15/03/2017	86

Lista de Siglas e Abreviaturas:

AINE – Anti-inflamatório Não Esteróide

Alb – Albuminas

ALT – Alanina Aminotransferase

RNA_m – Ácido Ribonucleico mensageiro

B_{tm} – Batimentos por Minuto

BID – Duas vezes por dia (*bis in die*)

BUN – Ureia Sérica (“Blood Urea Nitrogen”)

CDV – Vírus da Esgana (“Canine Distemper Virus”)

CCoV – Coronavírus Canino

CCoV-1 – Coronavírus Canino tipo 1

CCoV-2 – Coronavírus Canino tipo 2

CHCM – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média

CID – Coagulação Intravascular Disseminada

Cl – Cloro

cp - Comprimido

CPV – Parvovírus Canino

CPV-2 – Parvovírus Canino tipo 2

CPV-2a – Parvovírus Canino subtipo 2a

CPV-2b – Parvovírus Canino subtipo 2b

CPV-2c – Parvovírus Canino subtipo 2c

CRCoV – Coronavírus Respiratório Canino

Crea – Creatinina

E – Glicoproteína E

EDTA – Ácido Etilenodiamino Tetra-acético

ELISA – Teste imunoenzimático (“Enzyme-Linked Immunosorbent Assay”)

FA – Fosfatase Alcalina

FCoV – Coronavírus Felino

FPV – Parvovírus Felino

HCM – Hemoglobina Corpuscular Média

HE – Proteína hemaglutinina-esterase

HVT – Hospital Veterinário da Trofa

IBV – Vírus da Bronquite Infecciosa
ICC – Isolamento em Cultura Celular
IF – Imunofluorescência
IgA – Imunoglobulina A
IgG – Imunoglobulina G
IgM – Imunoglobulina M
IM – Via Intramuscular
IPX – Imunoperoxidase
IV – Via Intravenosa
K – Potássio
M – glicoproteína M
ME – Microscopia Eletrônica
mEq – Miliequivalente
MERS – Síndrome Respiratória do Médio-Oriente
Na – Sódio
OMS – Organização Mundial de Saúde
ORFs – Sequências abertas de leitura (“Open Reading Frames”)
PAD – Pressão Arterial Diastólica
PAM – Pressão Arterial Média
PAS – Pressão Arterial Sistólica
PCR – Reação em Cadeia da Polimerase
PI – Pós-infecção
PO – Via Oral (*per os*)
PT – Proteínas Totais
q48h – a cada 48 horas (*quaque 48 hora*)
QID – Quatro vezes por dia (*quater in die*)
RDW – Coeficiente de distribuição do volume de eritrócitos (“Red-cell Distribution Width”)
Rpm – Respirações por Minuto
PCRrt – Técnica de PCR com recurso à enzima transcriptase reversa
S – Glicoproteína S
S1 – Domínio 1 da glicoproteína S
S2 – Domínio 2 da glicoproteína S
SARS – Síndrome Respiratória Aguda Grave (“Severe Acute Respiratory Syndrome”)

SC – Via Subcutânea

SID – Uma vez por dia (*semel in die*)

SIRS – Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica

spp. – indicativo de várias Espécies

SRD – Sem Raça Definida

TBIL – Bilirrubina Total

TCoV – Coronavírus dos Perús

TID – Três vezes por dia (*ter in die*)

TNF – Factor de Necrose Tumoral

TRC – Tempo de Repleção Capilar

U – Unidades

UV – Ultravioleta

VCM – Volume Corpuscular Médio

VPM – Volume Plaquetário Médio

VR – Valores de Referência

WSAVA – Associação Veterinária Mundial de Pequenos Animais (“World Small Animal Veterinary Association”)

1. INTRODUÇÃO

A elaboração do presente documento foi realizada no âmbito das doenças infecciosas, tendo por base a casuística observada durante o estágio curricular, realizado no Hospital Veterinário da Trofa (HVT), no período de 31 de Outubro de 2016 a 31 de Março de 2017. Esta dissertação de mestrado aborda três temas da área das doenças víricas: Coronavirose, Parvovirose e Esgana em cães. Cada tema inclui a respetiva revisão bibliográfica, a apresentação de dois casos clínicos para cada um e sua discussão.

Atualmente, os animais de companhia desempenham um papel importante na nossa sociedade, estando relacionados com uma melhoria do bem-estar psicológico e fisiológico dos seus tutores (Robertson *et al.*, 2002). Estudos realizados nesta área sugerem que os tutores de animais recorrem com menos frequência a consultas médicas, consomem menos medicamentos e têm níveis mais baixos de pressão arterial e de colesterol, quando comparados com pessoas não tutoras (Beck *et al.*, 1996). Um estudo recente, realizado a partir de dados recolhidos durante doze anos, na Suécia, relacionou a ocorrência de doenças cardiovasculares com facto de se ser tutor de um cão. Os cães podem ser benéficos na redução do risco cardiovascular, fornecendo apoio social e aumentando a atividade física. Ser tutor de um cão tem sido relatado como associado ao alívio do isolamento social e à melhoria da percepção de bem-estar, particularmente em pessoas solteiras e idosas. De acordo com este estudo, ser tutor de um cão pode reduzir o risco de morte associado a problemas cardiovasculares em 36% e o risco de ataques cardíacos em 11%, quando comparado com pessoas que vivem sozinhas e sem animais (Mubanga *et al.*, 2017).

Contudo, apesar dos seus benefícios, os animais de estimação podem representar algum risco para a saúde humana. O risco pode adotar diferentes formas e gravidades, desde arranhões, mordidas e alergias, a uma diversidade de infecções, incluindo doenças parasitárias, bacterianas, fúngicas e virais, que podem ser transmitidas aos seres humanos (Robertson *et al.*, 2002).

Na prática clínica de animais de companhia, as doenças provocadas por agentes infecciosos são uma parte importante da casuística observada. Para que se consiga realizar prática clínica adequada, é necessário relacionar, de forma adequada e ponderada, os sinais clínicos, história e exame físico, de modo a criar uma lista de diagnósticos diferenciais e determinar qual o agente infeccioso provavelmente envolvido. A conclusão sobre um diagnóstico definitivo é, muitas vezes, crucial para o sucesso do tratamento e melhora o prognóstico no

Introdução

animal. Isto torna-se particularmente importante quando estamos perante doenças infecciosas com carácter zoonótico (Lappin, 2014).

Uma grande parte das consultas realizadas na clínica de animais de companhia deve-se a doenças gastroentéricas. As enterites de etiologia vírica são consideradas uma das causas mais comuns de doença, em animais com idade inferior a 6 meses. Os agentes encontrados com maior frequência, como causa de diarreia em cães, são o parvovírus canino, o coronavírus canino, o rotavírus canino e o vírus da esgana (Tams, 2005).

O coronavírus canino caracteriza-se por provocar enterites em cães jovens, facilitando a infeção por outros agentes. Apesar de, na sua maioria, infeções por este vírus estarem associadas a afeções entéricas mais leves (quando comparadas com outros vírus), há estudos que indicam o aparecimento de novas estirpes, de maior virulência, capazes de alcançar outros sistemas, além do trato gastrointestinal (Buonavoglia *et al.*, 2006).

Desde o final da década de 70, a enterite provocada por parvovírus canino ganhou destaque como sendo uma das principais causas de diarreia infecciosa, em cães jovens. A parvovirose canina é uma das doenças infecciosas mais significativas, no cão. É uma doença que assume uma grande importância na prática de Medicina Veterinária, devido à elevada resistência do agente no meio ambiente e elevadas taxas de morbilidade e mortalidade (Otto *et al.*, 2001).

Por fim, o vírus da esgana é também de grande importância na prática veterinária. Trata-se de um agente altamente contagioso, responsável por declínios severos em populações animais sensíveis. Apesar de, a esgana ter como principal hospedeiro a população de cães, a nível mundial, o vírus tem potencial para infetar animais de outras espécies, representando um risco sério para as espécies consideradas ameaçadas (Sequeira *et al.*, 2009).

As três doenças infecciosas referidas têm distribuição mundial, ocorrem com maior frequência em locais, cujo contágio e disseminação, ocorrem com facilidade entre os animais (MacLachlan *et al.*, 2011). Assim, este trabalho tem como interesse principal abordar estes temas de doenças infecciosas através da análise de casos clínicos observados, o seu carácter epidemiológico, os sinais clínicos mais frequentes, os tratamentos e as formas de prevenção e controlo, de modo a diminuir a sua ocorrência na prática clínica.

2. DOENÇAS INFECIOSAS

2.1. Infecção por Coronavírus

2.1.1. Introdução

A Família *Coronaviridae* está inserida na Ordem *Nidovirales*, juntamente com as Famílias *Arteriviridae* e *Roniviridae*. A Família *Coronaviridae* é composta por dois gêneros: *Coronavirus* e *Torovirus*. O primeiro, único de interesse para este trabalho, pode atingir inúmeras espécies de animais (tanto mamíferos como aves) e provocar um conjunto variável de sinais clínicos, incluindo pneumonia, doenças do foro reprodutivo, enterite, hepatite, encefalomielite, nefrite, entre outros. As infecções provocadas pelo coronavírus são, por norma, assintomáticas e podem afetar diferentes espécies de animais: suínos, ruminantes, equinos, coelhos, furões, ratos, pássaros, morcegos, cães e gatos. O género *Torovirus* está descrito como podendo causar doença em diversas espécies de animais, caracterizando-se por provocar infecções pouco graves. Dois torovírus estão descritos com importância em animais domésticos: Vírus de Berne, que afeta equinos, e Vírus Breda, que afeta bovinos (MacLachlan *et al.*, 2011).

Os coronavírus podem ser divididos em três grupos antigénicos distintos. Dentro de cada grupo são classificados consoante os seus hospedeiros naturais, sequência genómica e relações serológicas. Assim, existem dois grandes grupos para os mamíferos, grupo I e II, estando o coronavírus canino inserido no primeiro. E um terceiro grupo, denominado grupo III, que inclui dois coronavírus das aves: o vírus da bronquite infecciosa (IBV) e o coronavírus dos perús (TCoV) (Pratelli *et al.*, 2006; Jeoung *et al.*, 2014).

O Coronavírus Canino (CCoV) está associado a surtos esporádicos de enterites, tendo sido isolado, pela primeira vez, em 1971, na Alemanha, a partir de fezes de cães com esta sintomatologia. Após o seu isolamento, o vírus tem sido frequentemente detectado em animais clinicamente saudáveis ou com apresentação de diarreia e vômitos (Decaro *et al.*, 2008a).

O CCoV caracteriza-se por ser um vírus com invólucro lipídico, de grandes dimensões, sendo o agente que apresenta maior dimensão de entre os vírus que possuem genoma RNA. Os coronavírus possuem genoma RNA de cadeia simples e de polaridade positiva. Desta forma, o seu genoma pode ser diretamente traduzido pelos ribossomas da célula quando a infetam. Assim, a primeira etapa intracelular do seu ciclo replicativo é a

tradução parcial ou total do RNA genômico, resultando na produção de proteínas víricas, entre as quais a enzima responsável pela replicação do genoma viral: enzima polimerase de RNA (Cann, 2012).

A sua imagem ao microscópio eletrônico assemelha-se a uma coroa devido à forma esférica do invólucro e às glicoproteínas que se projetam para o exterior da superfície, denominados peplômeros (Cann, 2012). Os vírus possuidores de invólucro são geralmente mais sensíveis às ações deletérias dos fatores ambientais, tais como: temperatura, pH, radiações, humidade, etc. Assim, o coronavírus é facilmente inativado quando exposto a estes fatores, mas pode ser também inativado através de agentes químicos com capacidade de desnaturar os peplômeros, e solventes ou detergentes lipídicos que tenham ação deletéria sobre o invólucro (Flores, 2007).

A glicoproteína S, na superfície do invólucro, é responsável pela ligação do vírus aos recetores celulares, permitindo a fusão do invólucro com a membrana plasmática e está relacionada com a produção de anticorpos (MacLachlan *et al.*, 2011). A proteína S está dividida em dois domínios: S1 e S2. O primeiro é mais variável e as mutações aqui ocorridas estão associadas a alterações de virulência do vírus. O segundo domínio, pelo contrário, é mais conservado entre as diferentes estirpes (Lai *et al.*, 2001). Por outro lado, a proteína M, também presente no invólucro, é uma proteína de membrana que interage com a nucleocápside, forma o revestimento do núcleo (*core*) e intervém na formação do virião (MacLachlan *et al.*, 2011). A proteína M, tal como a proteína S, está envolvida na resposta imunitária do hospedeiro (Enjuanes *et al.*, 2000; Jeoung *et al.*, 2014). Associado ao invólucro existe ainda a proteína E, uma pequena proteína sobre a qual ainda não há muita informação disponível. Estudos indicam que está associada à formação do virião no final da replicação. Alguns coronavírus, como é exemplo o Coronavírus Bovino, apresentam ainda a proteína hemaglutinina-esterase (HE), responsável pela clivagem do ácido siálico (Flores, 2007). A HE é responsável por induzir a hemaglutinação e hemabsorção e contribui para a introdução e libertação do genoma viral na célula infetada. A sua presença parece influenciar a virulência do agente nos animais (MacLachlan *et al.*, 2011).

Os vírus com genoma RNA de polaridade positiva, como é o caso dos coronavírus, possuem sequências codificantes de proteínas, denominadas ORFs, no mesmo sentido do genoma. Assim, o RNA genômico é usado como RNAm, permitindo que o genoma viral possa ser diretamente traduzido em proteínas pelos ribossomas celulares (Flores, 2007).

Os principais locais de recombinação destes vírus são os genes das glicoproteínas de superfície M e S, que possuem importantes propriedades biológicas e imunológicas (Flores, 2007). A resposta imunitária iniciada pelo sistema imunitário do hospedeiro aquando da infeção é dirigida principalmente para a glicoproteínas S e M (MacLachlan *et al.*, 2011).

Os coronavírus replicam-se no citoplasma de células maduras. Consoante as células infetadas ocorre sintomatologia direcionada para o trato gastrointestinal ou para trato respiratório (Decaro *et al.*, 2008a).

2.1.2. Epidemiologia

O CCoV é um vírus susceptível de afetar todas as raças de cães, animais de ambos os sexos e de qualquer idade, contudo, os animais jovens são mais sensíveis e estão associados a taxas mais elevadas de mortalidade. A doença ocorre com maior frequência em canis ou locais com elevada densidade animal, onde existe maior facilidade de contágio e disseminação (MacLachlan *et al.*, 2011).

Existem evidências serológicas de que o CCoV tem distribuição mundial. Estudos sobre a sua prevalência demonstram que esta é variável. Isto ocorre devido a alguns fatores que podem interferir com os resultados desses estudos, tais como: reduzido número de amostras, uso de diferentes técnicas para deteção de anticorpos, presença de amostras recolhidas a partir de animais vacinados, etc. (Flores, 2007).

A infeção com CCoV foi demonstrada noutros animais além do cão, como os coiotes, as hienas e os lobos. Além dos cães e outros canídeos, os gatos também são passíveis de serem infetados; contudo, não desenvolvem qualquer tipo de sintomatologia (Flores, 2007).

A transmissão do agente é do tipo feco-oral. O vírus pode ser excretado através das fezes dos animais, iniciando-se entre o 6º e 9º dia após a infecção, habitualmente apenas até aos quinze dias (Pratelli, 2006). Contudo, alguns autores sugerem que este período pode ser mais extenso, chegando aos 180 dias (Cann, 2012). Animais clinicamente saudáveis também podem excretar o vírus pelas fezes e a transmissão pode estar ainda associada a fômites contaminados (Flores, 2007).

Existem três tipos de coronavírus canino, capazes de afetar o cão, denominados por 1, 2 e coronavírus respiratório canino (CRCoV). Os CCoV tipo 1 e 2 estão inseridos dentro do grupo I de coronavírus, e a sua evolução está relacionada com o coronavírus felino (FCoV). O

CRCoV está relacionado com processos de ordem respiratória em cães (Buonavoglia *et al.*, 2006; Mitchell *et al.*, 2013).

Normalmente, a infecção por CCoV é restrita ao trato gastrointestinal, caracterizando-se por ser uma infecção autolimitante, que tanto pode ser assintomática, como pode produzir sinais de enterite ligeira (Buonavoglia *et al.*, 2006). Contudo, estudos recentes associaram a infecção de coronavírus a uma doença sistêmica fatal em animais jovens. Os animais infetados demonstraram sinais clínicos graves e no exame *post-mortem* observaram-se lesões graves nos pulmões, fígado, baço e rins (Zicola *et al.*, 2012). O CCoV-2 foi detetado em elevados títulos nos órgãos internos destes animais, levando à associação do tipo 2 a uma variante pantrópica altamente virulenta do CCoV. As diferenças no tropismo e virulência do CCoV-2 foram associadas a mutações ou deleções na proteína S e/ou nas proteínas não estruturais do vírus (Buonavoglia *et al.*, 2006). Esta variante fatal e pantrópica do CCoV foi descrita em Itália, em 2005, em França e na Bélgica, em 2008 e 2009 (Zicola *et al.*, 2012; Decaro *et al.*, 2013). Noutras investigações, onde se recorreu ao uso da técnica de PCR e à sequenciação dos genes das proteínas M e S, do CCoV, concluiu-se que 14,5% dos cachorros estava infetado com o CCoV-1, 8,7% infetados com o CCoV-2 e 76,8% estavam infetados com os dois genótipos simultaneamente (Pratelli *et al.*, 2004a).

O CCoV é caracterizado por estar associado a uma elevada morbidade e baixa mortalidade dos animais afetados (MacLachlan *et al.*, 2011).

Desde os primeiros casos registados em 1971, a coronavirose era considerada uma doença restrita ao trato gastrointestinal. Contudo, estudos posteriores relataram o coronavírus como sendo um agente etiológico de doença com envolvimento do trato respiratório. Após análises filogenéticas, denominou-se este vírus como Coronavírus Respiratório Canino, ou CRCoV (Mitchell *et al.*, 2013). O primeiro isolamento do CRCoV foi conseguido em Inglaterra, numa população de cães errantes que tinham sido recolhidos num centro de abrigo animal. Apesar da reduzida existência de estudos sobre a prevalência desta variante, um estudo retrospectivo, realizado no Japão, demonstrou a presença de anticorpos no soro de cães contra o vírus. Isto sugere que a existência do CRCoV é anterior a 1998, data em que foi realizado o estudo (Decaro *et al.*, 2008a).

2.1.3. Patogenia

Como já referido anteriormente, a infecção do coronavírus ocorre pela via digestiva. Assim, o vírus, após ser ingerido, entra no trato gastrointestinal, resiste ao pH ácido do estômago e aos sais biliares do intestino delgado. No duodeno, replica-se nas células maduras do topo das vilosidades e dissemina-se pela superfície intestinal até ao íleo. Assim, como a maioria dos vírus RNA, os coronavírus realizam o seu ciclo replicativo no citoplasma da célula hospedeira (MacLachlan *et al.*, 2011). A sua disseminação pode atingir os linfonodos mesentéricos, contudo não foi demonstrada replicação com sucesso no cólon (Flores, 2007). No caso de infecção por CCoV-2 pantrópico, este pode atingir as células de outros órgãos, como o fígado, baço, e rins (Decaro *et al.*, 2008a).

Os sinais clínicos podem ser bastante variáveis, ocorrendo, normalmente, uma enterite ligeira a moderada. Os animais mais jovens são mais sensíveis, demonstrando sintomatologia mais agravada, especialmente se ocorrerem infeções secundárias (Pratelli, 2006).

A replicação do vírus ocorre no citoplasma das células do topo das vilosidades, levando à sua destruição, tendo como principal consequência a retenção dos alimentos parcialmente digeridos ou não digeridos no lúmen intestinal. Isto promove a retenção de água no lúmen, o aumento do volume do seu conteúdo e a fermentação excessiva nas porções terminais do intestino delgado e grosso, levando à condição de síndrome da má-absorção primária. A excreção do coronavírus ocorre pelas fezes, e inicia-se um a dois dias após a infecção do hospedeiro (Flores, 2007). O vírus é excretado até quinze dias após a infecção, contudo, este período pode ser alongado até aos 180 dias (Cann, 2012). Além disto, animais clinicamente são também são susceptíveis de excretar o vírus pelas fezes (Flores, 2007).

Os sinais clínicos iniciam-se entre um a quatro dias após a infecção e têm duração de uma a duas semanas quando a infecção é entérica e autolimitante, sem outras complicações (Decaro *et al.*, 2008a).

2.1.4. Imunidade

Geralmente, a infecção por CCoV é restrita ao trato gastrointestinal, não ocorrendo viremia. Desse modo, os títulos de anticorpos produzidos aquando da infecção são baixos. Experimentalmente, a presença de IgM foi encontrada no plasma três dias após inoculação do vírus. Por outro lado, a presença de IgG foi detetada entre o quarto e o sétimo dia após

inoculação. A presença de anticorpos neutralizantes também foi detetada a partir dos dez dias desde a inoculação. E, ainda, as imunoglobulinas A, G e M foram encontradas em reduzidas quantidades no duodeno (Flores, 2007). A produção local (no intestino delgado) de anticorpos, nomeadamente IgAs, restringe a disseminação do vírus, dificultando o seu progresso no trato intestinal (Pratelli, 2006).

A imunidade materna protege os cachorros por um período variável, que vai depender do título de anticorpos que a mãe consegue transmitir pela via colostrar. Embora existam num reduzido número, os estudos indicam que esta imunidade passiva pode ter a duração de quatro ou cinco semanas (Flores, 2007).

A infecção natural e a vacinação com vacinas vivas atenuadas induzem elevados níveis de IgAs no intestino e conferem maior proteção, pois é desencadeada uma resposta imunomediada por IgAs que, associadas à mucosa intestinal, previnem a adesão do CCoV às células das vilosidades intestinais (MacLachlan *et al.*, 2011).

2.1.5. Quadro Clínico e Lesional

A doença entérica provocada pelo CCoV é similiar à que ocorre noutras espécies que são atingidas por agentes deste género, pois em todas ocorre destruição dos enterócitos maduros no topo das vilosidades intestinais. Esta destruição irá ter como principal consequência a má absorção intestinal e subsequente diarreia (MacLachlan *et al.*, 2011). Por norma, a doença generalizada ao nível sistémico não é observada, sendo mais frequente estar restrita ao trato gastrointestinal, levando a sinais clínicos típicos de gastroenterite (Tennant *et al.*, 1991). Os sinais clínicos de diarreia e vômito, em alguns casos, iniciam-se frequentemente entre 18 a 72 horas após infecção (Appel, 1987).

Os cães infetados apresentam, geralmente, diarreia com início súbito, por vezes precedida de vômitos. As fezes adotam uma cor castanha mais clara, odor desagradável e, raramente, contêm sangue. A letargia e perda de apetite são sinais bastante comuns, contudo a hipertermia pode não estar presente em todos os casos. Nos casos mais graves, a diarreia pode tornar-se cada vez mais líquida levando à desidratação e desequilíbrio eletrolítico (Decaro *et al.*, 2008b; Duijvestijn *et al.*, 2016).

A morte pode ocorrer quando os animais são jovens e quando a coronavirose ocorre simultaneamente com outras infeções, tais como: parvovirose, adenovirose, esgana, infeções

bacterianas ou parasitárias (Decaro *et al.*, 2008a). Por outro lado, o stresse apresenta também um importante papel nas infeções por coronavírus, uma vez que afeta o sistema imunitário do hospedeiro agravando as manifestações clínicas (Flores, 2007).

A maioria dos animais afetados recupera naturalmente num período de 15 dias. Contudo, quando estão presentes outros fatores, como infeções bacterianas secundárias, infeções víricas concomitantes, infestações parasitárias, stress, etc., o período de recuperação pode ser mais prolongado (Decaro *et al.*, 2008b).

Visto que a doença entérica apresenta, essencialmente, sintomatologia compatível com enterite, torna-se bastante difícil diferenciar a infeção de coronavírus de outras causas de enterite infecciosa (Evermann *et al.*, 2005). Deste modo, devem ser realizados exames complementares que serão abordados no ponto 2.1.6. do presente trabalho.

Uma vez que, a mortalidade é geralmente baixa nos animais infetados, as necrópsias são pouco frequentes. Ainda assim, quando são realizadas, o intestino encontra-se, macroscopicamente, dilatado com conteúdo líquido de cor amarela ou esverdeada. A mucosa intestinal encontra-se hiperémica e, em alguns casos, hemorrágica. Os linfonodos mesentéricos apresentam-se, frequentemente, edemaciados e aumentados de tamanho. Microscopicamente, a replicação do vírus no interior dos enterócitos resulta em atrofia e fusão das vilosidades intestinais, depressão das criptas, achatamento das células epiteliais e aumento da celularidade na lâmina própria (MacLachlan *et al.*, 2011).

Nos estudos realizados, em 2005, que relatam o aparecimento de uma nova variante do vírus (CCoV-2), pantrópica e mais virulenta, observaram-se sinais clínicos indicativos de uma afeção sistémica, não restrita apenas ao trato gastrointestinal. Esta variante causava sinais clínicos como febre (39,5° – 40,8°C), letargia, perda de apetite, vómitos, diarreia hemorrágica, leucopenia grave e sinais neurológicos de ataxia, concludente em morte dois dias após o início dos sinais clínicos. Neste caso, na necrópsia observam-se graves lesões nos pulmões, fígado, baço e rins (Buonavoglia *et al.*, 2006; Decaro *et al.*, 2013).

Além dos sinais entéricos, podemos ter afeções do trato respiratório provocadas pela variante CRCoV. Os animais acometidos por este agente apresentam sinais semelhantes de traqueobronquite infecciosa, muito semelhantes à sintomatologia da Tosse do Canil (Erles *et al.*, 2003; Mitchell *et al.*, 2013). O vírus já foi isolado com sucesso a partir de tecidos como os linfonos submandibulares, os pulmões e o fígado, em cachorros infetados experimentalmente (Tennant *et al.*, 1991).

2.1.6. Diagnóstico

Na prática clínica muitas vezes o diagnóstico acaba por ser presuntivo, sendo este baseado na sintomatologia clínica apresentada e nos aspetos epidemiológicos da doença. Quando é necessário um diagnóstico definitivo devem realizar-se alguns exames complementares de nível laboratorial. As infeções virais de um dado agente podem apresentar diferentes sinais clínicos, ou podem ocorrer manifestações clínicas semelhantes produzidas por diferentes vírus. Estas implicações fazem dos testes laboratoriais importantes recursos auxiliares no diagnóstico. Além disso, existem ainda casos em que as infeções virais ocorrem sem sinais clínicos perceptíveis ou com sintomatologia inespecífica, tornando os testes laboratoriais um requisito fundamental para um correto diagnóstico (Flores, 2007).

Dado que existem diversas causas para a ocorrência de diarreia em cães, quando há suspeita de infeção por coronavírus deve ser realizada uma investigação a nível laboratorial (MacLachlan *et al.*, 2011). Existem diversos exames complementares passíveis de ser executados. De entre eles, podemos distinguir dois grupos: métodos diretos e métodos indiretos. Os primeiros consistem na deteção do vírus, de antígenos ou de ácidos nucleicos víricos. Os métodos indiretos detetam anticorpos específicos contra o vírus, ou seja, detetam a resposta imunitária do hospedeiro à infeção. De entre todos os exames laboratoriais que podem ser realizados, serão mencionados apenas os de maior importância na prática clínica atual.

O significado dos resultados destes exames varia de acordo com a biologia de cada vírus. Assim, os resultados devem ser sempre interpretados consoante os conhecimentos atuais da biologia e epidemiologia do agente e da resposta imunitária do hospedeiro.

A escolha para o melhor método de diagnóstico deve ser ponderada tendo em consideração a rapidez dos resultados, sensibilidade, especificidade e custo do método.

A técnica de inoculação em cultura celular (ICC) consiste na inoculação de partículas virais em células. Isto irá permitir a sua multiplicação e posterior identificação. Além do uso para estabelecer diagnósticos definitivos, a ICC é um instrumento indispensável para investigações na área da Virologia, pois permite manter o vírus viável para futuras investigações (pesquisa de sequências de genoma, variações, antígenos, etc.) (MacLachlan *et al.*, 2011). Apesar de nunca ter sido muito utilizada como método de diagnóstico clínico, alguns laboratórios utilizam-na para fins de investigação (Flores, 2007). O material a enviar deve ser fragmentos de tecido, fezes ou conteúdo intestinal. O material suspeito é inoculado

em células cultivadas *in vitro*, e a replicação do vírus é evidenciada pela produção do efeito citopático, isto é, pela produção de alterações na morfologia da célula hospedeira. Para a correta escolha do tipo de células a inocular, o material enviado deve ser acompanhado por um histórico clínico completo. A escolha acertada do tipo de células é crítica para o sucesso do procedimento. No caso do CCoV, as células primárias de rim, timo e membrana sinovial canina apresentaram altas taxas de sucesso. No caso do coronavírus o efeito citopático provocado é a formação de sincícios (MacLachlan *et al.*, 2011). A técnica de ICC é uma técnica que apresenta boa sensibilidade. Contudo apresenta algumas desvantagens, tais como: dificuldade em não contaminar as amostras recolhidas, realizar uma correta colheita, conservação e envio do material (MacLachlan *et al.*, 2011). É uma técnica que está dependente da viabilidade do vírus, por isso, é necessário que a amostra seja sujeita a condições de temperatura, humidade, pH, entre outros fatores ambientais, que permitam a manutenção do agente desde a sua recolha até à realização da técnica (Flores, 2007).

Outros métodos de deteção de antígeno são a imunofluorescência (IF), a imunoperoxidase (IPX) e ELISA (MacLachlan *et al.*, 2011).

A técnica de IF apresenta elevada especificidade e sensibilidade. Baseia-se na reação que ocorre entre anticorpos específicos com antígenos presentes na amostra submetida a análise. Estes anticorpos estão ligados covalentemente a um fluorocromo, uma molécula capaz de absorver luz ultravioleta (UV) e de emitir luz visível, neste caso fluorescente. A incubação do material com o anticorpo deve ser realizada após uma fixação com etanol. A presença de luminosidade fluorescente indica a presença de antígenos virais na amostra (Flores, 2007). Apesar da sua alta sensibilidade, a técnica de IF apresenta algumas desvantagens, relacionadas com a necessidade de utilizar material dispendioso (microscópio adequado, conjugados, etc.) (MacLachlan *et al.*, 2011) e algumas células podem emitir fluorescência natural, o que pode levar a resultados falsos positivos e reduzida especificidade (Flores, 2007).

Outra técnica passível de ser utilizada é a Imunohistoquímica ou Imunoperoxidase. É uma técnica bastante semelhante à anterior, contudo ao invés do fluorocromo, os anticorpos são conjugados com uma enzima, sendo geralmente utilizada a peroxidase (MacLachlan *et al.*, 2011). Esta técnica tem a mesma utilização da anterior, contudo apresenta a vantagem de não necessitar de um microscópio com luz UV. Apesar disso, é uma técnica mais demorada que a IF, necessitando de um período superior a 24 horas para ser realizada (MacLachlan *et al.*, 2011).

A técnica de Microscopia Eletrónica (ME) permite a visualização direta do vírus. As características morfológicas (morfologia, diâmetro, estrutura do capsídeo e do invólucro) de alguns dos vírus são suficientemente características para permitir a sua identificação (MacLachlan *et al.*, 2011). Estas características variam muito entre famílias de vírus, mas são pouco variáveis entre vírus pertencentes ao mesmo género, o que permite um diagnóstico definitivo imediato. Esta técnica é particularmente útil para a pesquisa de vírus cuja cultura celular é difícil, sendo também útil para infeções cutâneas e entéricas, como é o caso dos coronavírus (Flores, 2007). O material necessário para se realizar a análise por ME consiste em amostras fecais (fezes ou conteúdo intestinal), amostras de mucosa intestinal ou de tecidos recolhidos na necropsia. Para ser possível a visualização de partículas virais por esta técnica, é necessário existir na amostra uma concentração mínima, superior a um milhão de viriões por mililitro de fluido ou por grama de material. Quando a análise direta é negativa, talvez porque o número de viriões seja inferior, procede-se à ultracentrifugação do material, de modo a concentrar as partículas virais. Um resultado falsamente negativo pode dever-se à insuficiência de viriões na amostra submetida a análise (Flores, 2007). Apesar de ser uma técnica de rápida execução, tem uma baixa sensibilidade, necessita de equipamento bastante dispendioso e implica pessoal altamente especializado e treinado (MacLachlan *et al.*, 2011).

O método ELISA é um teste imunoenzimático que tanto pode ser utilizado para detetar anticorpos como antigénios. É um método que apresenta boa sensibilidade e especificidade, baixo custo e possibilita a sua repetibilidade (MacLachlan *et al.*, 2011). A técnica de ELISA apresenta muitas variações na sua realização. O seu desenvolvimento permitiu a criação de um kit capaz de fornecer o diagnóstico definitivo na clínica, sem necessidade de envio de amostras para laboratório. Este kit permite a deteção de anticorpos contra a proteína M de superfície do vírus a partir do soro do animal suspeito (Pratelli, 2006).

Um dos métodos mais utilizados, atualmente, na pesquisa de coronavírus para definição de um diagnóstico, além da técnica de ELISA, é a PCR. Esta técnica baseia-se na deteção de ácidos nucleicos virais e veio revolucionar os métodos de diagnóstico, uma vez que apresenta um maior grau de sensibilidade e de especificidade que as restantes técnicas. Assim, actualmente, a PCR é tida como um *gold standart* no diagnóstico de coronavirose (Pratelli *et al.*, 1999; Pratelli *et al.*, 2000). Foram desenvolvidos vários métodos de PCR para a deteção de RNA de coronavírus nas fezes dos cães (Pratelli *et al.*, 2002, Decaro *et al.*, 2004a). A técnica de PCR demonstra várias vantagens: elevada sensibilidade e especificidade, rapidez do processo (um ensaio de PCR pode demorar apenas algumas horas), universalidade

(é possível ser aplicado em qualquer tipo de vírus), pode ser realizada em quantidades mínimas de amostra e deteta vírus que não estejam viáveis na amostra. O seu custo tem vindo a reduzir, o que permite uma maior aplicabilidade por parte dos clínicos. A principal restrição na técnica de PCR prende-se ao facto de a amostra poder ser facilmente contaminada, levando a resultados falsos positivos (Flores, 2007).

2.1.7. Tratamento

Quanto ao tratamento da coronavirose, este deve ser direcionado para a resolução da sintomatologia clínica apresentada pelo animal, não existindo um tratamento específico. O clínico deve proceder ao restabelecimento dos desequilíbrios hídrico e eletrolítico e podem também ser administrados antibióticos de modo a combater as infeções bacterianas secundárias (MacLachlan *et al.*, 2011).

2.1.8. Prognóstico

O prognóstico da doença geralmente é bom e os animais recuperam rapidamente, ficando naturalmente imunizados. Contudo, pode tornar-se reservado quando existem infeções concomitantes com outros vírus, especialmente infeções adicionais pelo parvovírus canino, o adenovírus canino ou o vírus da esgana. Infeções parasitárias e situações que causem imunodepressão do hospedeiro também contribuem para um prognóstico mais reservado (Decaro *et al.*, 2008a; Cavalli *et al.*, 2014).

2.1.9. Prevenção e Controlo

A coronavirose é muito contagiosa. Uma vez no ambiente, o controlo da sua propagação é difícil, devendo evitar-se o contacto de cães sãos com cães infetados ou com as fezes destes últimos (Pratelli, 2008).

As condições ambientais onde está inserido o animal também devem ser tidas em conta, uma vez que ambientes com níveis de stresse elevados, locais com densidade animal alta, infeções concomitantes com parasitas ou outros vírus favorecem o desenvolvimento de

doença. O período de desmame dos cachorros também é outro factor que pode predispor a infecção por CCoV (Flores, 2007).

Tal como outros vírus, o CCoV é inativado pela maioria dos agentes germicidas, tais como solventes lipídicos, formalina, fenol, solução de hipoclorito e β -propiolactona. O vírus apresenta estabilidade em ambiente ácido, sobrevivendo a pH extremos de 3,0. Temperaturas elevadas inativam o CCoV, mas pode manter-se estável por longos períodos em ambientes de temperatura amena (20 a 22°C) (Pratelli, 2008).

A maioria das investigações no âmbito da prevenção das infeções por coronavírus recaí sobre as suas proteínas de superfície. A proteína S é a mais estudada, sendo vista como a principal candidata para direccionar as vacinas contra este vírus, visto que é a principal indutora de anticorpos neutralizantes (Gebauer *et al.*, 1991). Por outro lado, apesar da função da proteína M não estar completamente esclarecida, estudos sugeriram que esta proteína está envolvida também na resposta imunitária do hospedeiro (Enjuanes *et al.*, 2000).

A protecção induzida pela vacinação contra a coronavirose é controversa. Ainda que a eficácia e a duração das vacinas inativadas não tenha sido fundamentada, estas vacinas foram autorizadas nos Estados Unidos da América (EUA), embora estudos mais recentes tenham demonstrado que estas vacinas estão associadas a uma baixa eficácia (Pratelli *et al.*, 2003), que se prende com o facto de as vacinas inativadas não induzirem a produção de IgAs na mucosa intestinal (Flores, 2007).

Entretanto, foram desenvolvidas vacinas vivas atenuadas que têm eficácia durante um ano e são mais seguras (Pratelli *et al.*, 2004b). Estas vacinas foram testadas e apresentaram resultados mais promissores que as inativadas. Estudos comparativos entre a administração oronasal e intramuscular destas vacinas sugerem que a inoculação pela via oronasal gera uma reacção imunológica com grande produção de IgAs no intestino, que confere uma protecção completa contra a infecção (Pratelli *et al.*, 2004a). Os animais vacinados pela via oronasal não excretaram vírus nas fezes, enquanto que os cães vacinados pela via IM excretaram o vírus durante um período médio de 10 dias, após administração (Flores, 2007).

Apesar dos avanços positivos nos estudos das vacinas para a infecção por CCoV, muitas das vacinas comercializadas no passado tiveram de ser retiradas do mercado devido ao grande número de reacções adversas que apresentavam (Flores, 2007). Segundo as diretrizes relacionadas com a vacinação canina, emitidas pela Associação Veterinária Mundial de Pequenos Animais (*World Small Animal Veterinary Association – WSAVA*), em 2016, não está recomendado o uso de vacinas contra o coronavírus canino, uma vez que, como foi

referido anteriormente, não há evidências suficientes sobre os benefícios em termos de proteção conferida aos animais vacinados. Por outro lado, a WSAVA coloca ainda em causa a eficácia das vacinas existentes, devido às reacções adversas conferidas por elas e para a ineficácia das vacinas nas infeções de CCoV que provocam doença sistémica grave, provocadas por estirpes de elevada virulência. Desta forma, a vacinação contra a infeção por CCoV não está contemplada no protocolo vacinal, em Portugal, sendo uma vacina não recomendada (WSAVA, 2016).

2.2. Infecção por Parvovírus

2.2.1. Introdução

Apesar da sua complexa organização taxonómica, os diferentes parvovírus relacionam-se entre si e, provavelmente, partilham um ancestral comum. Os parvovírus caracterizam-se por serem bastante resistentes no meio ambiente e por necessitarem de células hospedeiras que estejam em fase mitótica (MacLachlan *et al.*, 2011).

Os parvovírus estão inseridos na família *Parvoviridae* que é constituída por duas subfamílias: *Parvovirinae*, que contém os vírus capazes de infetar os animais vertebrados, e *Densovirinae*, que contém os vírus que afetam os insetos. A organização dos parvovírus é bastante complexa, uma vez que uma espécie animal pode ser hospedeira para várias espécies de parvovírus. Deste modo, a subfamília *Parvovirinae* inclui os seguintes géneros: *Parvovirus*, *Erythrovirus*, *Dependovirus*, *Amdovirus* e *Bocavirus* (Flores, 2007). No presente trabalho, irá ser abordado apenas o género *Parvovirus* que inclui o vírus da panleucopenia felina, o parvovírus canino, o parvovírus suíno, o vírus da enterite da marta, o parvovírus do guaxinim, os parvovírus dos roedores e lagomorfos e os parvovírus das aves (Tattersall *et al.*, 2005).

Os parvovírus são caracterizados por serem vírus DNA muito pequenos, de cadeia linear simples, com capsídeo icosaédrico, cuja aparência ao microscópio eletrónico se assemelha a uma esfera. Não possuem invólucro lipídico e possuem tropismo para células que estão em processo de mitose, especificamente na fase S do ciclo celular. Assim, os parvovírus afetam células em multiplicação como as da medula óssea, células embrionárias e células precursoras do epitélio intestinal (Flores, 2007). A replicação viral ocorre no núcleo destas células, uma vez que os parvovírus necessitam da maquinaria celular da célula hospedeira, já que não codificam a enzima DNA polimerase, necessária para o início da replicação do DNA. Por outro lado, estes vírus necessitam também de um teor apropriado de desoxirribonucleotídeos trifosfatados (dNTPs) algo que só existe em quantidade suficiente em célula que estão a duplicar o seu DNA (MacLachlan *et al.*, 2011).

Os vírus pertencentes à família *Parvoviridae* são extremamente estáveis no meio ambiente, podendo resistir à inativação durante longos períodos de tempo. A sua morfologia simples, desprovida de invólucro, permite resistir a temperaturas habitualmente nocivas para outros microrganismos, como por exemplo a 56°C, sendo capazes de permanecer viáveis mesmo após 60 minutos a esta temperatura (Flores, 2007). Além disso, apresentam

estabilidade a valores extremos de pH, podendo resistir a amplitudes de pH entre 3 a 9. A inativação dos parvovírus pode ser um processo difícil, e para isso devem ser utilizados agentes químicos constituídos à base de formalina, hipoclorito de sódio e agentes oxidantes (MacLachlan *et al.*, 2011). Outra característica deste género é que alguns parvovírus possuem capacidade de aglutinar eritrócitos, nomeadamente os parvovírus capazes de afetar os suínos, cobaias e macacos (Flores, 2007).

Apesar de existirem diversos parvovírus, a maioria possui uma espécie hospedeira específica e tropismos muito restritos. Esta especificidade deve-se ao facto de a polimerase do hospedeiro que replica o genoma viral ter um mecanismo de correção de erros, fazendo com que as mutações não sejam muito frequentes. Contudo, se ocorrerem mutações, estas podem tornar o agente capaz de infetar outras espécies (Decaro *et al.*, 2012).

2.2.2. Epidemiologia

Os vírus pertencentes ao género *Parvovirus* são genética e antigenicamente relacionados. Exemplos destas semelhanças são encontrados entre os vírus da panleucopenia felina (FPV), o parvovírus canino e seus subtipos (CPV-2, CPV-2a, CPV-2b, CPV-2c), entre outros (Steinel *et al.*, 2001).

Actualmente, a doença causada pelo parvovírus em cães pode ser provocada por três subtipos denominados por Parvovírus Canino 2a (CPV-2a), 2b (CPV-2b) e 2c (CPV-2c). O parvovírus tipo 2 foi descrito pela primeira vez em 1978, tendo surgido posteriormente os subtipos 2a, 2b e 2c. A origem do parvovírus canino está estritamente relacionada com o vírus responsável pela panleucopenia felina (Parvovírus Felino), tendo uma similaridade superior a 98% do genoma e apenas seis nucleótidos diferentes (Steinel *et al.*, 2001; Geng *et al.*, 2017). Apesar de existirem semelhanças entre genomas, as modificações adquiridas pelo CPV-2 trouxeram duas grandes consequências: adquiriu uma nova gama de hospedeiros (todos os canídeos) e perdeu a capacidade de replicar em felídeos (Truyen *et al.*, 1994; Cavalli *et al.*, 2014).

Os primeiros estudos epidemiológicos realizados no âmbito do CPV-2 foram relatados na Grécia, em 1974, após terem sido encontrados soros positivos a este vírus. Rapidamente, mais estudos foram publicados: na Holanda, em 1976, na Bélgica, em 1977, e em 1978, foram encontrados anticorpos no Japão, Estados Unidos, Austrália e Nova Zelândia (MacLachlan *et*

al., 2011). Em 1979, três populações diferentes de coiotes, nos Estados Unidos da América, revelaram-se seropositivas para CPV-2. Em 1980, foram relatados anticorpos de CPV-2 em soros de lobos cinzentos (*Canis lupus*), no Alasca (Steinel *et al.*, 2001). Isto permitiu concluir que a nova variante do parvovírus rapidamente se expandiu a todo o mundo. A grande estabilidade apresentada pelo vírus, a facilidade da sua transmissão feco-oral e a sensibilidade da população de cães a nível global explica a ocorrência panzoótica do vírus (MacLachlan *et al.*, 2011; Folitse *et al.*, 2017).

Com o surgimento tão repentino do CPV-2 foram propostas diferentes teorias sobre a aparição do novo vírus. Assim, foi proposto que o surgimento se deveu a mutações simples do FPV, ou a possíveis variações da vacina de vírus vivo modificado de FPV. Truye e colaboradores (1996) propuseram ainda outra possibilidade para o aparecimento do CPV-2. Realizaram a recolha de parvovírus a diferentes espécies de raposa, em diferentes zonas do globo, e analisaram o genoma viral. Este estudo demonstrou que os vírus presentes nos soros variavam muito pouco do FPV original, diferindo em um ou três nucleótidos. Assim, os vírus encontrados nas raposas foram considerados como intermediários entre o FPV e o CPV (Truyen *et al.*, 1996). Tendo em conta a filogenia, as raposas, embora pertencentes à ordem *Carnivora*, estão geneticamente mais relacionadas com os felídeos do que com lobos, coiotes ou cães. Deste modo, assumiu-se que a raposa teve um papel intermediário na adaptação do vírus à nova gama de hospedeiros (Steinel *et al.*, 2001).

Depois do surgimento do CPV-2, em 1979 e 1984, surgiram dois subtipos já referidos, CPV-2a e CPV-2b, que diferem do primeiro apenas em alguns nucleótidos. Os subtipos predominaram a população canina, acabando por levar à extinção do primeiro. Ambos os subtipos perduram e coexistem em diferentes proporções, na população de cães em todo o mundo (Steinel *et al.*, 2001). Apesar de o CPV-2 não infectar felídeos, os seus subtipos podem fazê-lo, sendo que aproximadamente de 5% das infeções por parvovírus nos gatos domésticos são causadas por CPV-2a ou CPV-2b (Truyen *et al.*, 1996).

No ano de 2000, um novo subtipo de CPV-2 foi detetado, em Itália, a partir das amostras fecais de dois cães com sintomatologia de enterite hemorrágica. Foram realizados testes de reatividade de anticorpos clonais e de PCR que deram positivo para CPV-2b. Contudo, após uma análise à sequência de genes, foram encontradas duas variações de aminoácidos. O cruzamento de dados epidemiológicos levou a concluir que esta variação tinha distribuição mundial e elevada frequência, o que levou à necessidade de uma nova denominação para esta variante: CPV-2c (Decaro *et al.*, 2012).

Na maioria dos países europeus, a variante predominante é o CPV-2a. No entanto, na Irlanda, Reino Unido e França a predominância é da variante CPV-2b, e em Espanha é o CPV-2c. Na Ásia e África, as três variantes circulam na população canina, porém o subtipo CPV-2b é o mais prevalente. Nos Estados Unidos, a prevalência divide-se entre CPV-2b e 2c. Na América do Sul, o CPV-2b foi mais predominante no Brasil e o CPV-2c no Uruguai e na Argentina (Miranda *et al.*, 2016).

Um estudo decorrido entre 2012 e 2014, em Portugal, indica que as três variantes circulam por todo o país, contudo, a mais frequentemente encontrada é a CPV-2c, seguida da CPV-2b. A variante CPV-2a foi encontrada com reduzida frequência. Este estudo sugere que o subtipo 2c é o mais adaptado e a sua incidência tende a aumentar, no país, inclusive nos arquipélagos das ilhas dos Açores e Madeira. Na figura 1 pode observar-se a distribuição das variantes de CPV em todo o território nacional (Miranda *et al.*, 2016).

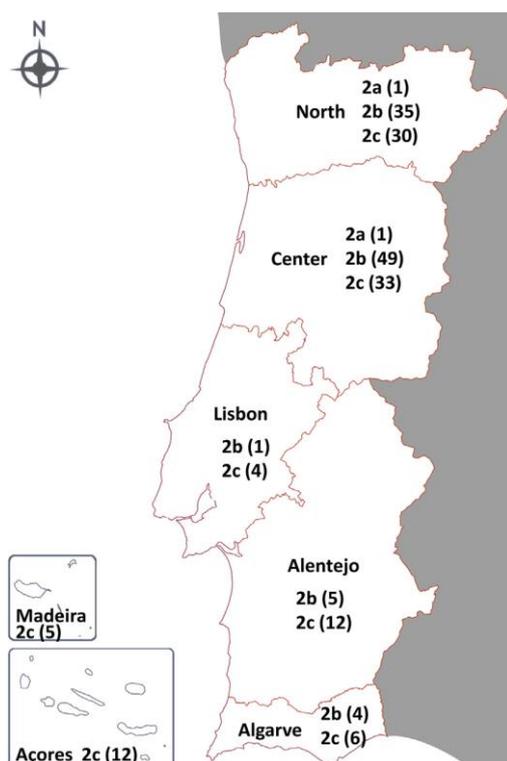


Figura 1: Distribuição geográfica das variantes antigénicas do parvovírus canino, na população de cães, em Portugal. Dados recolhidos entre 2012 e 2014 (adaptado de Miranda *et al.*, 2016).

2.2.3. Patogenia

Este agente, como já referido, tem tropismo para células em mitose para efetuar a sua replicação. O CPV reconhece como locais alvo para a sua replicação as células epiteliais das criptas intestinais e os órgãos linfóides. Contudo, pode alcançar todos os tecidos (Elia *et al.*, 2007; Poonam *et al.*, 2017).

A patogenia da parvovirose no cão é semelhante à da panleucopenia felina (MacLachlan *et al.*, 2011). O parvovírus penetra no hospedeiro através da via oronasal e alcança os tecidos linfóides associados ao trato gastrointestinal, mais frequentemente os linfonodos da orofaringe, mesentéricos e timo. De seguida, dissemina-se pelos leucócitos, induzindo uma linfopenia aguda, e entra na corrente sanguínea, provocando viremia. Através da corrente sanguínea, alcança rapidamente células em divisão. Os tecidos mais comumente afetados são o epitélio intestinal do jejuno e íleo, tecido linfopoiético e medula óssea (Flores, 2007).

Quando a infecção ocorre em neonatos, até duas semanas após o nascimento, o vírus pode infetar as células do miocárdio, uma vez que o músculo cardíaco tem uma rápida proliferação celular na primeira semana de vida do animal. Neste caso, a infecção tem como consequência a necrose do miocárdio e inflamação, levando a edema pulmonar e/ou congestão hepática devido a insuficiência cardíaca (MacLachlan *et al.*, 2011). Esta forma clínica de miocardite leva, frequentemente, à morte súbita dos cachorros, porém, caso sobrevivam desenvolvem insuficiência cardíaca às 6 ou 8 semanas de idade. A perda de fibras miocárdicas ou o desenvolvimento de fibrose no músculo cardíaco, juntamente com inflamação, podem levar ao desenvolvimento de insuficiência cardíaca crónica, semanas ou meses mais tarde. Este quadro de miocardite provocado por parvovírus é uma manifestação considerada bastante rara, já que a maioria da população canina está vacinada contra este vírus e os cachorros recebem anticorpos maternos por via placentária e pelo colostro. Por outro lado, os subtipos 2a, 2b e 2c não parecem ter um tropismo tão acentuado para o coração (Decaro *et al.*, 2012).

A forma clínica mais comum associada ao parvovírus canino ocorre em animais jovens com idade compreendida entre as 6 semanas e os 6 meses de idade e é apresentada como um quadro agudo de enterite hemorrágica (MacLachlan *et al.*, 2011; Poonam *et al.*, 2017). A gravidade da sintomatologia está diretamente relacionada com a quantidade de anticorpos maternos presentes no soro do cachorro aquando a infecção (Decaro *et al.*, 2012).

Animais com imunidade parcial podem apresentar infecção subclínica ou sintomatologia mais leve (MacLachlan *et al.*, 2011). Quando o vírus alcança a corrente sanguínea, rapidamente atinge o epitélio intestinal, nomeadamente as células em divisão presentes nas criptas das vilosidades do jejuno e íleo. O epitélio intestinal é infetado diretamente a partir da corrente sanguínea. O vírus replica-se nas células epiteliais de rápida divisão, localizadas no fundo das criptas intestinais. Estas células são responsáveis pela reposição do epitélio intestinal e, com a sua lesão, as células diferenciadas do topo das vilosidades não são substituídas. Deste modo, a consequência imediata é o achatamento das vilosidades, com colapso, necrose epitelial e exposição da lâmina própria da mucosa (MacLachlan *et al.*, 2011). A perda do epitélio intestinal leva ao aparecimento de diarreia, frequentemente hemorrágica, e síndrome de má absorção intestinal (Decaro *et al.*, 2012; Poonam *et al.*, 2017).

Microscopicamente, as lesões mais características consistem em necrose do epitélio das criptas intestinais, atrofia ou colapso das vilosidades e, por vezes, ruptura da lâmina própria. As glândulas intestinais, localizadas no fundo das vilosidades, apresentam-se dilatadas, contendo bastantes células necrosadas, alternando com células com evidência de regeneração (Prittie, 2004).

O período de incubação pode variar entre 2 a 14 dias, sendo que na maioria dos casos os sinais clínicos iniciam-se 4 a 7 dias após a infecção (Flores, 2007; Poonam *et al.*, 2017).

A excreção do vírus, através das fezes, pode iniciar-se ao 3º dia pós-infecção, mesmo antes do aparecimento dos sinais clínicos. Enquanto a doença se encontra numa fase ativa, o vírus é excretado em elevadas quantidades, atingindo o seu pico uma semana após o início da infecção. A quantidade de vírus excretado diminui abruptamente uma semana após a infecção, data que coincide com o aparecimento de anticorpos neutralizantes em quantidade suficiente para conter o vírus (Vieira, 2011).

Além de fezes contendo o vírus, a transmissão pode ocorrer através de objetos contaminados. Geralmente, os animais que recuperam da doença não excretam o vírus e, por isso, não transmitem a doença. Contudo, animais que apresentem infecção subclínica disseminam o agente, agindo como importantes fontes de contágio (McCaw *et al.*, 2006).

Como referido anteriormente, os animais mais comumente afetados são jovens. Cachorros recentemente desmamados apresentam maior risco de enterite, uma vez que os enterócitos destes animais exibem um maior índice mitótico devido à mudança da microbiota intestinal, consequente da alteração da dieta. A doença pode ter sintomatologia mais ou

menos grave, e ser mais ou menos rápida, dependendo do estado de comprometimento da barreira intestinal por outras infecções concomitantes e/ou endoparasitismo (Prittie, 2004).

2.2.4. Imunidade

A resposta imunitária contra o CPV pode ser induzida de modo ativo, através de vacinas, ou de modo passivo através da administração direta de anticorpos ou pela transferência de anticorpos maternos no pós-parto (Greene *et al.*, 2006). Quando não é possível detetar anticorpos num animal, após a sua vacinação, deve ser assumido que este pode não estar imunizado, devendo ser revacinado (Schultz, 2006).

A transferência de anticorpos maternos da mãe para o cachorro é um exemplo de imunidade passiva. Os anticorpos são transmitidos através da placenta, durante a gestação, e em grande quantidade através do colostro, no pós-parto, por absorção intestinal, durante os primeiros dois dias de vida. Após a sua absorção, os títulos de anticorpos maternos podem manter-se altos, no cachorro, até às 12 semanas de idade, ou até mais tarde (Martella *et al.*, 2005). Em caso de neonatos privados de colostro, pode ser ponderada a administração passiva de soro imunizado ou imunoglobulinas (Greene *et al.*, 2006).

A imunidade ativa é conseguida através de protocolos vacinais e tem um papel fundamental na profilaxia da doença. A imunização ativa apresenta a vantagem de ser mais forte e duradoura quando comparada com a passiva (Greene *et al.*, 2006).

2.2.5. Quadro Clínico e Lesional

O parvovírus pode originar diferentes quadros clínicos, dependendo da idade do animal e das células infetadas. Assim, podemos observar sintomatologia associada ao sistema cardíaco, trato digestivo ou sistema neurológico (MacLachlan *et al.*, 2011).

O quadro clínico cardíaco, apesar de bastante raro, ocorre quando o cachorro é infetado *in utero* ou durante as duas primeiras semanas de vida. Os sinais clínicos ocorrem, normalmente em animais com idades entre 6 e 8 semanas, sob a forma de insuficiência cardíaca aguda. Em animais sobreviventes, a perda de fibras miocárdicas e a fibrose do tecido cardíaco leva ao desenvolvimento de insuficiência cardíaca crónica, com conseqüente morte dos animais. Quando são enviados para necrópsia, as lesões relacionadas com este quadro

indicam necrose multifocal do miocárdio, reação inflamatória e presença de corpos de inclusão víricos no interior dos miócitos (Robinson *et al.*, 1979).

O quadro neurológico devido a infecção por parvovírus também está descrito, sendo caracterizado por leucoencefalomalácia. Neste caso, as lesões *post mortem* são de necrose de liquefação da substância branca do sistema nervoso central (SNC), secundária à hipóxia e isquemia por miocardite (Prittie, 2004). Ao nível da medula óssea, a infecção provoca necrose tanto das linhas mielóides, como das eritróides (McCaw *et al.*, 2006). Contudo, quando são realizadas análises sanguíneas direcionadas para a linha eritrocitária, não são observadas alterações significativas na contagem de eritrócitos de sangue periférico, devido à sua semi-vida bastante longa (21 dias, em cães) (Vieira, 2011).

O quadro intestinal é o mais frequentemente encontrado nas infecções por parvovírus, estando associado por vezes a uma gravidade extrema. A forma entérica ocorre mais comumente em animais não vacinados, com idade compreendida entre as 6 semanas e os 6 meses. Contudo, a doença pode ocorrer em animais de qualquer idade, com maior ou menor intensidade dos sinais clínicos (MacLachlan *et al.*, 2011; Folitse *et al.*, 2017). A forma entérica é caracterizada pelo seu surgimento brusco com sinais de prostração, anorexia, vômitos incoercivos e frequentes, sialorreia, picos de hipertermia e diarreia 24 a 48 horas após o início dos sinais clínicos, muitas vezes hemorrágica. Ao exame físico os animais podem evidenciar dor abdominal intensa, secundária ao quadro de enterite aguda ou a uma intussuscepção intestinal. Consequente à diarreia, os animais doentes podem apresentar maior ou menor grau de desidratação, que leva a hipovolemia e, em casos mais graves, ao choque (Prittie, 2004; Folitse *et al.*, 2017; Poonam *et al.*, 2017).

A leucopenia é bastante frequente, com leucócitos em número inferior a 2000 a 3000 por mililitro de sangue (Decaro *et al.*, 2012). Em casos mais graves, pode ocorrer panleucopenia secundária à necrose do tecido linfóide e à destruição das células mieloproliferativas na medula óssea (Prittie, 2004). As alterações de contagem nas linhas leucocitárias são perceptíveis apenas a partir do 3º ou 5º dia pós-infecção. A neutropenia pode ocorrer em casos mais graves, com desvio à esquerda e neutrófilos tóxicos, seis dias após a infecção. Em animais em convalescência é frequente observar-se leucocitose e hiperplasia da medula óssea, demonstrativos da recuperação do animal (McCaw *et al.*, 2006).

A anemia pode ocorrer como consequência das perdas de sangue pelas fezes; a hipoproteinemia, devido à perda de proteínas plasmáticas pelo intestino, nomeadamente de albuminas; pode ocorrer elevação dos valores de ureia e creatinina por azotemia pré-renal;

hipocalemia secundária às perdas gastrointestinais e à ingestão inadequada de alimento; e hipoglicemia associada à desnutrição grave ou infecções bacterianas subjacentes (Kalli *et al.*, 2010).

A destruição do epitélio intestinal expõe vasos sanguíneos que facilmente representam uma porta de entrada de bactérias para a corrente sanguínea. A bacteriemia, agravada pela imunodepressão, deteriora ainda mais a condição do animal. Este quadro entérico, associado a todas as complicações descritas, apresenta uma elevada taxa de mortalidade de cerca de 70%, nos animais jovens (Decaro *et al.*, 2012). As lesões no epitélio intestinal aumentam o risco de translocação de bactérias e subsequente septicemia. Quando se realizam exames microbiológicos, após necrópsia dos animais vitimados, o isolamento de *Escherichia coli* a partir do pulmão e fígado é muito frequente, sendo também frequentemente isolados outros agentes como: *Salmonella* spp., *Clostridium* spp., *Campylobacter* spp. São ainda frequentes os achados patológicos compatíveis com SARS (Síndrome Respiratório Agudo Grave) e SIRS (Síndrome de Resposta Inflamatória Sistêmica) (Prittie, 2004). Contudo, a bacteriemia não é essencial para o desenvolvimento destas síndromes. A resposta inflamatória pode ser desencadeada pela produção de citocinas pró-inflamatórias, como é exemplo o fator de necrose tumoral (TNF), um potente mediador da resposta inflamatória sistêmica (Vieira, 2011). A libertação de citocinas promove a vasodilatação periférica, aumento da permeabilidade capilar, depressão da função cardíaca e ativação da cascata de coagulação (Prittie, 2004). Em caso de SIRS, endotoxemia ou septicemia podem ser observados sinais de choque e alterações de coagulação, nomeadamente petéquias e mucosas congestionadas (Humm *et al.*, 2009).

2.2.6. Diagnóstico

O diagnóstico clínico é muitas vezes realizado de modo presuntivo, tendo por base a história do animal, sinais clínicos e análises laboratoriais, por exemplo, o hemograma. O aparecimento súbito de diarreia hemorrágica e fétida em cães jovens é sugestivo de parvovirose, não sendo, contudo, um sinal patognomónico da doença (MacLachlan *et al.*, 2011).

Para se alcançar o diagnóstico definitivo de parvovirose, torna-se necessário recorrer a exames específicos que permitam a identificação do vírus (MacLachlan *et al.*, 2011). Apesar

de ser importante alcançar um diagnóstico definitivo, o tratamento deve ser iniciado o quanto antes de modo a melhorar o prognóstico do animal. Quando há suspeita de uma infecção vírica, o animal deve ser isolado, de forma a evitar-se o contágio a outros animais (Vieira, 2011).

As análises sanguíneas podem ajudar a concluir sobre um diagnóstico definitivo. Na infecção por parvovírus, é bastante frequente existir uma leucopenia devido à lise dos precursores dos leucócitos na medula óssea (Humm *et al.*, 2009). Contudo, apesar de ser um dado característico da infecção, está presente em metade dos animais infetados que dão entrada em clínicas ou hospitais veterinários (Prittie, 2004). Quando é possível fazer leucogramas seriados, durante o internamento do animal, observa-se uma descida progressiva, que se inicia entre o 3º e 5º dia pós-infecção, podendo atingir valores na ordem dos 2000/ μ l e 500/ μ l ou inferiores. Normalmente, o grau de leucopenia é proporcional à gravidade dos sinais, sendo que uma leucocitose é representativa do início da melhoria do estado do animal (McCaw *et al.*, 2006). A anemia é outro dado frequentemente encontrado e deve-se essencialmente às perdas de sangue que ocorrem a nível gastrointestinal, em caso de diarreia hemorrágica (Vieira, 2011). A trombocitopenia é observada quando a infecção cursa com Coagulação Intravascular Disseminada (CID), sendo concomitante com alterações nos fatores de coagulação (aumento do tempo de coagulação, aumento do tempo de protrombina e aumento do tempo de tromboplastina parcial ativada). Apesar das alterações no hemograma serem observadas na maioria dos animais com infecção com CPV, é possível observar-se um hemograma normal em animais com doença (McCaw *et al.*, 2006).

As alterações nos valores de bioquímica sérica são variáveis e inespecíficas, não tendo por isso uma grande importância no diagnóstico, contudo, pode ser observado hipoproteinemia, hiperbilirrubinemia, aumento da concentração sérica de enzimas hepáticas, hipocalemia, hipoglicemia e azotemia pré-renal (Vieira, 2011).

Os exames imagiológicos devem ser sempre realizados quando um animal apresenta quadro gastrointestinal. A radiologia ou ecografia servem para descartar possíveis causas de vômito ou diarreia. No caso de infecção por parvovírus, os resultados são inespecíficos, podendo ser encontrados sinais de ílio paralítico, ansas intestinais dilatadas e imagens compatíveis com intussuscepção (Humm *et al.*, 2009).

Tal como já referido, o diagnóstico clínico é muitas vezes presuntivo. Os testes laboratoriais permitem um diagnóstico definitivo através da identificação do vírus, a partir de amostras de fezes de cães infetados. Diversos testes têm sido desenvolvidos no âmbito do diagnóstico de infecção por parvovírus canino. De entre eles podemos distinguir a detecção de

CPV por isolamento do vírus, microscopia electrónica (ME), método de ELISA, imunocromatografia, testes de hemaglutinação (HA) e técnicas de PCR (MacLachlan *et al.*, 2011; Geng *et al.*, 2017).

A ICC, como já referido neste trabalho, é uma técnica que utiliza culturas celulares onde o vírus é capaz de se propagar. Esta técnica é demorada, precisando, em média, de cinco a dez dias de incubação de cultura celular para ser possível a posterior deteção do antigénio (Desario *et al.*, 2005). A ICC é uma técnica pouco utilizada na prática clínica, uma vez que é demorada e apresenta baixa sensibilidade, possivelmente devido à presença de anticorpos no lúmen intestinal que se ligam às partículas virais, impedindo que estas se liguem aos receptores celulares e infetem as células de cultura (Vieira, 2011).

A técnica de ME, também já descrita anteriormente, perdeu a sua utilidade diagnóstica, uma vez que é uma técnica demorada, laboriosa, que necessita de equipamento sofisticado e de técnicos com formação superior. Assim, torna-se bastante dispendiosa, sendo utilizada com mais frequência apenas para fins académicos ou de investigação (Vieira, 2011).

A técnica da hemaglutinação (HA) pode ter interesse no diagnóstico de parvovirose. Alguns vírus possuem capacidade de se ligarem a moléculas da membrana plasmática de eritrócitos, em certas espécies de animais, provocando a sua aglutinação. A hemaglutinação resulta da ligação de glicoproteínas de superfície dos vírus a recetores de superfície dos eritrócitos. Estes vírus recebem a denominação de hemaglutinantes (MacLachlan *et al.*, 2011). Assim, a HA é aplicável apenas em casos cujo agente viral apresente esta propriedade biológica. Por outro lado, a Inibição da Hemaglutinação (HI) é uma técnica sorológica que pesquisa anticorpos capazes de inibir a hemaglutinação, podendo ser utilizada tanto para a identificação do agente como para o diagnóstico sorológico (Flores, 2007). Esta técnica baseia-se na capacidade de anticorpos se ligarem às glicoproteínas de superfície do vírus, inibindo a sua atividade hemaglutinante (Flores, 2007). No caso do CPV, quando em condições ideais de pH e de temperatura (pH 6,5 e 4°C) há aglutinação de eritrócitos de várias espécies de animais (Vieira, 2011). A técnica deve ser realizada a partir de amostras fecais recentes. O uso de eritrócitos de suíno demonstrou uma especificidade e sensibilidade superior quando comparado com eritrócitos de outras espécies, nomeadamente, primatas não humanos (Desario *et al.*, 2005). A partir do 3º ou 4º dia após a infeção, a titulação de HA sobe nas fezes frescas de cães infetados, contudo, a partir do 9º dia pós-infeção já não é detetável qualquer actividade hemaglutinante (Vieira, 2011). Ambas as técnicas permitem uma obtenção de resultados rápida, em cerca de quatro horas. São técnicas simples, de baixo custo,

com boa sensibilidade e especificidade (MacLachlan *et al.*, 2011). Apesar das suas vantagens, estas técnicas de diagnóstico podem ter pouca validade, por reduzida sensibilidade, uma vez que há estirpes de CPV com atividade hemaglutinante reduzida ou ausente (Desario *et al.*, 2005).

Apesar dos métodos descritos, as técnicas de diagnóstico mais frequentemente utilizadas são o teste de ELISA e a imunocromatografia. Estes testes apresentam as vantagens de poderem ser realizados nas instalações médico-veterinárias e serem de rápida e simples execução. São testes que não distinguem qual o subtipo de CPV presente na amostra fecal, apenas detetam a presença das partículas virais (Vieira, 2011). Estes testes apresentam-se sob a forma de kits e necessitam que a amostra contenha uma quantidade mínima de antigénio de modo a permitir a formação de uma banda colorida visível (Desario *et al.*, 2005; Folitse *et al.*, 2017). A banda formada será mais evidente quanto maior for a quantidade de antigénio presente na amostra fecal, o que poderá tornar a interpretação dos resultados subjetiva nos casos de menor quantidade de antigénio. Apesar disto, este método tem maior especificidade e sensibilidade que a hemaglutinação (Lacheretz *et al.*, 2003). Dado que, o maior momento de excreção do vírus é entre o 4º e 7º dia pós-infecção, a altura ideal para a realização deste teste é nestes mesmos dias (Vieira, 2011). A interpretação dos resultados do teste deve ter em conta ainda a possibilidade de ocorrerem reações falso positivas e falso negativas. As primeiras poderão ocorrer em animais que tenham sido vacinados com vacinas vivas atenuadas, nos 10 dias anteriores à realização do teste. Os falsos negativos poderão ocorrer quando a infeção está numa fase inicial, onde há ausência ou uma diminuta excreção fecal, ou quando as partículas virais estão ligadas a anticorpos neutralizantes (Prittie, 2004).

A identificação do subtipo de parvovírus não é fundamental quando nos referimos à prática clínica, visto que o manejo clínico e farmacológico será muito semelhante. Contudo, quando se pretendem realizar estudos epidemiológicos, para a compreensão da virulência dos diferentes subtipos ou sobre o impacto da vacinação numa dada população, torna-se necessário diferenciar as diferentes estirpes (Touihri *et al.*, 2009). Esta diferenciação é realizada apenas em laboratórios especializados utilizando técnicas mais dispendiosas e que requerem operadores formados nesta área (Desario *et al.*, 2005). Assim, nestes casos, utilizam-se técnicas como a amplificação do DNA genómico através da PCR convencional e PCRrt (Vieira, 2011).

2.2.7. Tratamento

O tratamento para a gastroenterite provocada pelo parvovírus é essencialmente sintomático, não existindo um tratamento específico. Deste modo, o tratamento instituído é semelhante ao que seria realizado em qualquer doente com sintomatologia de gastroenterite grave, tenham sido ou não efetuados exames complementares de diagnóstico. O tratamento deve ter início antes do retorno dos resultados, quando são realizados exames complementares (Caddy *et al.*, 2010).

A reposição dos fluídos corporais e dos desequilíbrios eletrolíticos e a prevenção de infeções bacterianas secundárias são o primeiro passo no tratamento do doente (Poonam *et al.*, 2017). Assim, inicia-se a fluidoterapia com uma solução eletrolítica equilibrada e isotónica com concentração de eletrólitos semelhante ao plasma sanguíneo, como Lactato de Ringer ou solução salina de NaCl a 0,9%. Uma vez que, a desidratação é corrigida, deve ser calculada uma estimativa de perdas contínuas de acordo com a frequência e volume de diarreia e vômitos. Esse volume deve então ser substituído por requisitos diários normais (Caddy *et al.*, 2010).

Como visto anteriormente, a hipoglicemia e a hipocalemia são alterações comuns e devem ser corrigidos através da adição de dextrose e de potássio à fluidoterapia. Em casos mais graves, quando há perda exacerbada de proteína por via entérica e os níveis de albuminas e de proteínas totais descem para valores inferiores a 1,5 g/dL e 3,5 g/dL, respetivamente. Torna-se necessário a administração de colóides, de modo a manter a pressão osmótica intravascular. A monitorização da albumina é particularmente importante, dado que estas mantêm aproximadamente 80% da pressão osmótica e a sua perda rapidamente resulta em choque hipovolémico. Além desta importante função, as albuminas facilitam a função plaquetária normal e a coagulabilidade, estão relacionadas com o transporte de uma grande variedade de moléculas e ainda com a eliminação de radicais livres durante os processos inflamatórios (Mazzaferro *et al.*, 2002). Um estudo retrospectivo, realizado em Londres, entre 2007 e 2009, demonstrou uma correlação significativa entre níveis séricos baixos de albuminas e a morte por infeção de CPV-2. Este estudo veio sublinhar a importância na monitorização diária dos níveis de albumina sérica, dos pacientes com parvovirose (Caddy *et al.*, 2010).

Os colóides sintéticos mais utilizados são os dextrans e o amido de hidroxietilo, que podem ser administrados em bolos de 10 a 20 mL/Kg, ao longo de 20 a 60 minutos (Goggs *et*

al., 2008). O plasma é um colóide natural, que também pode ser utilizado para o fornecimento de proteínas séricas e reposição da hipovolemia. A dose de plasma recomendada é de 5 a 10 mL/Kg, a cada 12 horas, por via endovenosa. O fornecimento de plasma com o objectivo de aumentar as albuminas séricas não é aconselhável, uma vez que um litro de plasma contém apenas 25 gramas de albumina. A administração do plasma, com este objetivo, teria de ser feita em volumes de transfusão superiores aos recomendados, podendo ter como consequências a sobreidratação do animal e/ou edema (Caddy *et al.*, 2010). Apesar de não ter sido estudado especificamente em casos de parvovirose, foi comprovado que o uso de solução de albumina humana é capaz de aumentar os níveis séricos de albumina em cães criticamente doentes (Trow *et al.*, 2008).

Nos casos em que o animal apresenta anemia, devido a perdas sanguíneas pelas fezes ou a parasitismo intenso, pode ser necessário realizar uma transfusão sanguínea de sangue total, preferencialmente de um animal com anticorpos contra parvovírus. Em caso de endoparasitismo, o animal deve ser corretamente desparasitado (Caddy *et al.*, 2010).

Para a prevenção de infecções bacterianas secundárias devem ser administrados antibióticos de largo espectro. Frequentemente, utilizam-se associações de antibióticos, nomeadamente entre aminoglicosídeos, como a gentamicina, e antibióticos β -lactâmicos, como a ampicilina (Poonam *et al.*, 2017). A escolha dos fármacos deve ser ponderada. Frequentemente, os animais com infecção por parvovírus apresentam-se desidratados; logo, tendo em conta a nefrotoxicidade dos fármacos aminoglicosídeos, utiliza-se como alternativa a enrofloxacina. Em animais jovens, ainda em crescimento, pode optar-se por um fármaco do grupo das cefalosporinas, de modo a evitar as alterações provocadas ao nível das cartilagens e articulações pela enrofloxacina. O metronidazol é também uma boa opção para cobrir os agentes anaeróbios. Na prática clínica, é frequentemente utilizada a amoxiciclina e ácido clavulânico, uma vez que se trata de uma associação de fármacos com grande espectro de ação, que pode ser administrada, numa fase inicial, pela via endovenosa para efeito mais rápido, e mais tarde continuado pela via subcutânea, após estabilização do paciente (Caddy *et al.*, 2010).

Na grande maioria dos pacientes, o vômito cessa ou diminui quando são colocados em jejum, tanto de água como de comida. Contudo, por vezes torna-se necessário recorrer a fármacos com ação antiemética, como o citrato de maropitant, a metoclopramida ou a clorpromazina para cessar o vômito. Em caso de ineficácia destes fármacos, pode ser usado um antagonista dos receptores da serotonina, a ondasetrona. Devido ao vômito e às suas

consequências na mucosa gástrica, ou ainda às complicações associadas ao choque ou à sepsis, é comum o desenvolvimento de úlceras gástricas. A terapia utilizada no sentido de prevenir ou tratar as úlceras gástricas deve utilizar fármacos protetores da mucosa, como o sucralfato, e inibidores do ácido gástrico. A secreção do ácido gástrico é suprimida pelo uso de antagonistas dos receptores H₂, como a ranitidina e a cimetidina (Caddy *et al.*, 2010).

O quadro gastroentérico provocado por parvovírus está, na maioria das vezes, associado a dor abdominal. Deste modo, iniciar terapia direcionada para a dor é fundamental para a recuperação do animal. Os fármacos mais utilizados são os opióides, dos quais é exemplo a buprenorfina. Por outro lado, a administração de corticoesteróides, como é exemplo a dexametasona, pode também ser benéfica, pois melhora a perfusão tecidual, promove a estabilização das membranas celulares e reduz a absorção de endotoxinas (Caddy *et al.*, 2010).

Outro parâmetro fundamental do tratamento é o suporte nutricional do animal. Os danos provocados pelo vírus na barreira intestinal têm de ser reparados, de modo a possibilitar a recuperação do animal. O crescimento e a integridade da mucosa intestinal são suportados pela presença de nutrientes no lúmen intestinal. Os ensaios clínicos revelaram que o fornecimento precoce de alimentação entérica está associado a um melhor prognóstico e melhor recuperação do animal, quando comparado com casos em que os animais apenas receberam alimento 12 horas após cessar o vômito (Mohr *et al.*, 2003). Assim, o mais recomendado é iniciar a alimentação entérica o mais cedo possível. A dieta administrada deverá ter um reduzido teor em gordura, devendo ser composta por níveis adequados de hidratos de carbono altamente digeríveis. Por outro lado, deve conter glutamina, um aminoácido que contribui diretamente para a restituição da barreira mucosa, além de fortalecer o sistema imunitário. Quando o animal recusa o alimento, deve forçar-se a alimentação através de seringas, sondas nasoesofágicas, sondas nasogástricas, entre outras (Caddy *et al.*, 2010).

Em 2002, um ensaio clínico realizado por Martin e colaboradores, comparou o tratamento entre dois grupos de cães previamente infetados com CPV. O primeiro grupo foi designado como placebo e foi-lhe administrado diariamente solução salina, ao segundo grupo foi administrado interferão felino recombinante, tipo ómega, durante três dias consecutivos. Todos os animais pertencentes ao primeiro grupo morreram, enquanto que no grupo tratado com interferão ómega a maioria sobreviveu. Este estudo demonstra que o tratamento com interferão ómega pode ter importância terapêutica na parvovirose canina (Martin *et al.*, 2002).

2.2.8. Prognóstico

O prognóstico prende-se com alguns fatores, de entre eles, um dos mais importantes é a taxa de sobrevivência associada à doença. No caso da parvovirose em cães, os diferentes estudos apontam para valores de taxas de sobrevivência muito divergentes. Em Portugal, no período de 2006 a 2009, foi realizado um estudo, que abrangiu 104 casos de cães com sintomatologia gastrointestinal provocada por CPV. Este estudo revelou uma taxa de mortalidade associada à doença de 22% (Vieira, 2011). Outros dados indicam ainda que quando existe terapia imediata e tratamento de suporte, a taxa de sobrevivência dos animais infetados sobe para valores entre 85 e 96%. Num estudo comparativo de taxas de sobrevivência entre clínicas veterinárias e hospitais de cuidados intensivos, observou-se que os casos tratados em hospitais tinham maiores taxas de sobrevivência e um tempo de hospitalização mais longo (3 dias em clínicas e 6 dias em hospitais) (Otto *et al.*, 2001).

A idade dos animais e a gravidade dos sinais clínicos são também fatores que influenciam o prognóstico. Os animais mais jovens estão associados a piores prognósticos, sendo mais comum ocorrer infecção em animais com menos de um ano de idade. Contudo, aparentemente o subtipo 2c é capaz de infetar animais com mais de um ano de idade, mesmo vacinados (Decaro *et al.*, 2008c).

Os animais que apresentem alterações na barreira gastrointestinal, causadas, por exemplo, por endoparasitismo ou infeções concomitantes, têm pior prognóstico. A presença de infecção simultânea de coronavírus e parvovírus leva a uma exacerbação dos sinais clínicos e acresce a gravidade da doença, uma vez que provoca maiores lesões nas vilosidades intestinais e, conseqüentemente, aumenta o índice mitótico das células das criptas (Decaro *et al.*, 2006; Cavalli *et al.*, 2014). Em 2011, um estudo realizado em Portugal, demonstrou que 41% dos animais com sintomatologia gastrointestinal apresentavam infecção dupla com CCoV e CPV e que os animais infetados com ambos os agentes tinham uma taxa de mortalidade superior, quando comparados com animais com infecção única de CPV (Vieira, 2011).

Por outro lado, quando se compara a taxa de sobrevivência e a gravidade de doença causada pelos diferentes subtipos de parvovírus (CPV-2a, CPV-2b e CPV-2c), os resultados são contraditórios. Alguns autores defendem que os subtipos CPV-2a e CPV-2b são menos virulentos que o CPV-2c (Buonavoglia *et al.*, 2001), enquanto que outros defendem que o subtipo CPV-2c causa sinais clínicos de menor gravidade e taxas de mortalidade mais baixas

(Decaro *et al.*, 2005). Apesar disto, Vieira e colaboradores (2008) não encontraram diferenças significativas de virulência dos diferentes subtipos, nem qualquer associação entre os subtipos, raça ou idade. Outros dados que podem ser usados como indicadores de prognóstico são as alterações hematológicas. Uma monocitopenia isolada é indicativa de um mau prognóstico numa apresentação inicial, enquanto que valores de leucócitos, linfócitos, monócitos e eosinófilos superiores a 4500/ μ l, 1000/ μ l, 150/ μ l e 100/ μ l, respetivamente, são indicativos de um bom prognóstico. Como os vários estudos apresentam conclusões contraditórias sobre a relação entre a gravidade da leucopenia e o prognóstico, considera-se que o modo mais fiável de o estabelecer é observar a variação dos valores de leucócitos ao longo do tempo (Kalli *et al.*, 2010). Já no que respeita aos parâmetros das análises de bioquímica sérica, até agora não foram associadas quaisquer alterações ao prognóstico (Vieira, 2011).

2.2.9. Prevenção e Controlo

Dado que os surtos de enterite provocados por CPV são de difícil controlo, os animais que apresentem infeção devem ser colocados imediatamente num local isolado, de modo a dificultar a transmissão do agente. Trata-se de um vírus bastante resistente, capaz de permanecer ativo à temperatura ambiente durante seis meses, e que é facilmente transportado e disseminado. Os centros de recolha de animais, canis e abrigos devem pôr em prática boas práticas de higienização das instalações e do pessoal, de modo a contrariar a disseminação do agente (Prittie, 2004; Day *et al.*, 2007).

A grande maioria dos desinfetantes não inativa eficazmente o vírus da parvovirose. No entanto, soluções como hipoclorito de sódio e formalina podem inativar o vírus e, como tal, devem ser utilizadas para o efeito. A exposição a raios solares também inativa este agente (Vieira, 2011).

Pensa-se que a propagação da doença está associada à persistência do agente no ambiente e não à existência de animais portadores crónicos, visto que casos de portadores crónicos são raros e excretam reduzidas quantidades de viriões (McCaw *et al.*, 2006). Dadas as dificuldades inerentes à inativação do agente no ambiente associadas ao enorme potencial biótico que este possui, as medidas preventivas, como, por exemplo, a vacinação, devem ser reforçadas (Prittie, 2004).

A alta prevalência de infecção por CPV em cães com idade inferior a 6 meses pode ser devido à interferência de anticorpos maternos, protocolo de vacinação impróprio, diminuído título de anticorpos maternos e reduzida eficácia do sistema imunológico de cachorros (Umar *et al.*, 2015).

Atualmente está recomendado o uso de vacinas vivas atenuadas, face à ineficácia apresentada pelas vacinas inativadas. A proteção conferida pelas vacinas vivas atenuadas é superior, desenvolve-se mais rapidamente, a duração do período de proteção é maior (superior a 20 meses), têm menor capacidade em ultrapassar a possível interferência dos anticorpos maternos e previnem a eliminação do vírus (as vacinas inativadas evitam a doença, mas não previnem a infecção subclínica e a excreção do vírus no ambiente). As vacinas inativadas podem ser úteis em certas situações, como por exemplo, quando se pretende vacinar uma cadela gestante, ou um animal imunodeprimido (Vieira, 2011).

A vacina mais utilizada provém da estirpe original de CPV-2 e mostrou ser adequada para proteção dos animais, após 2 a 3 administrações, às 6, 9 e 12 semanas de idade, de modo a ultrapassar a imunidade materna. Estudos demonstraram ainda que a vacinação com uma estirpe confere imunidade cruzada contra as outras e não afeta a duração da imunização (Schultz *et al.*, 2010). Apesar desta imunidade, alguns investigadores sugerem que os novos subtipos de CPV podem diminuir a eficácia das vacinas, especialmente contra a variante CPV-2c. Num estudo realizado por Larson e Schultz (2008), utilizaram-se dois tipos de vacina, CPV-2 original e CPV-2b, tendo sido demonstrado que ambos conferiram imunidade protetora contra as variantes CPV-2b e CPV-2c. Este estudo sugere que as mutações genotípicas ocorridas no parvovírus canino não têm como consequência mudanças significativas nas propriedades antigénicas do vírus. Assim, as vacinas atuais conferem imunidade contra as variantes CPV-2a, CPV-2b e CPV-2c, não havendo, no entanto, garantias que futuras mutações não provoquem alterações antigénicas significativas (Larson *et al.*, 2008).

Os animais que tenham sido infetados por parvovírus canino apresentam imunidade protetora para toda a vida do animal (Schultz *et al.*, 2010).

As recomendações atuais sobre a vacinação contra CPV sugerem que a administração da última dose de vacina viva atenuada deve ser realizada às catorze semanas de idade ou mais tarde, seguida de revacinação após um ano e reforços posteriores com intervalos não inferiores a três anos (Schultz, 2006). A vacinação, tal como outros atos médicos, deve ser

ponderada, uma vez que não é um procedimento inócuo. Assim, devem ser avaliadas as necessidades específicas de cada paciente (Vieira, 2011).

Apesar do seu benefício, os protocolos de vacinação estão sujeitos a falhas. Estas podem ser devido a três principais motivos: o título de anticorpos maternos presentes no animal no momento da vacinação pode ser suficiente para bloquear a ação da vacina. De modo a evitar esta situação, a última dose vacinal deve ser realizada depois das catorze semanas de idade, altura em que os anticorpos maternos já não estão presentes em níveis capazes de inativar a vacina. Outro motivo será a vacina não ser imunogénica, por vários motivos, de entre eles, falhas na produção industrial, falhas na certificação da temperatura de armazenamento (quebra da rede de frio) e/ou falhas na administração. Por fim, o animal poderá não produzir uma resposta imune ou produzir uma resposta fraca, devido ao sistema imune falhar no reconhecimento dos antigénios da vacina (Day *et al.*, 2007; Day, 2017).

2.3. Infecção pelo Vírus da Esgana

2.3.1. Introdução

O vírus da esgana, pertence à família *Paramyxoviridae*, que está incluída na ordem *Mononegavirales*, juntamente com as famílias *Rhabdoviridae*, *Filoviridae* e *Bornaviridae*. Na família *Paramyxoviridae* estão incluídas duas subfamílias: *Paramyxovirinae* e *Pneumovirinae*. Sendo que a primeira contém seis gêneros, de entre os quais o gênero *Morbillivirus*, ao qual pertence o vírus da esgana (MacLachlan *et al.*, 2011).

As famílias da ordem *Mononegavirales* diferenciam-se pelo tamanho do genoma, estrutura da nucleocápside, local de replicação e transcrição do genoma, modo e extensão do processamento do RNA mensageiro (RNAm), tamanho e morfologia do virião, tropismo para certos tecidos, espectro de hospedeiros e potencial patogênico nestes (MacLachlan *et al.*, 2011).

Os paramixovírus possuem uma arquitetura bastante complexa. São vírus com genoma RNA linear de cadeia simples e polaridade negativa, possuem invólucro lipoproteico, um nucleocapsídeo e uma proteína matriz (McCaw *et al.*, 2006). As partículas víricas presentes no invólucro lipídico podem ser pleomórficas, variando a sua forma entre filamentosa a esférica. O invólucro que envolve a partícula viral possui duas glicoproteínas de superfície que se projetam para o exterior: a glicoproteína F e a glicoproteína HN (*Respirovirus*, *Avulavirus*, *Rubulavirus*), G (*Henipavirus*, *Pneumovirus*, *Metapneumovirus*) ou H (*Morbillivirus*). A glicoproteína H é responsável pela adsorção do vírus à superfície da célula hospedeira, enquanto a glicoproteína F é responsável pela fusão do invólucro com a membrana da célula hospedeira, que permitirá a penetração do nucleocapsídeo na célula. A glicoproteína F é sintetizada como um precursor inativo, F0, que é ativado por clivagem proteolítica, originando dois péptidos: F1 e F2. A clivagem de F0 é essencial para a infetividade e está diretamente relacionado com a virulência. Estudos indicam que estirpes onde a clivagem de F0 ocorre com mais eficiência tendem a ser mais virulentas (MacLachlan *et al.*, 2011; Flores, 2007).

O nucleocapsídeo possui simetria helicoidal e é formado por quatro constituintes: RNA e proteínas N (nucleocápside), L (do inglês “Large”) e P (fosfoproteína). A proteína N (ou NP) encontra-se intimamente associada ao genoma viral, constituindo a ribonucleoproteína juntamente com o RNA. Esta proteína é responsável pela proteção do genoma contra a digestão pelas nucleases e está envolvida nos processos de morfogênese de

novas partículas virais, nomeadamente os processos de transcrição e replicação. A proteína L é a menos abundante e representa a subunidade catalítica da enzima RNA polimerase. A proteína P é um componente essencial do complexo replicase. Ambas as proteínas são necessárias para a atividade da polimerização do RNA, uma vez que a proteína L apenas exerce a sua atividade quando forma um complexo com a proteína P (Flores, 2007; MacLachlan *et al.*, 2011).

A proteína M constitui a matriz e é a proteína presente em maior quantidade nos viriões, preenchendo o espaço existente entre o nucleocapsídeo e o invólucro. Esta proteína está associada à formação dos viriões maduros, fornecendo a ligação estrutural entre as glicoproteínas do invólucro e a ribonucleoproteína (Flores, 2007).

Os vírus pertencentes à família *Paramixoviridae* utilizam todos a mesma estratégia de replicação. Os viriões ligam-se a recetores celulares específicos e penetram na célula por fusão do invólucro viral com a membrana plasmática da célula hospedeira. Frequentemente, há infeção lítica das células e, por vezes, também ocorre formação de sincícios, isto é, a formação de células gigantes multinucleadas, consequentes do agrupamento de várias células infetadas, o que pode levar à necrose tecidual. A replicação do vírus ocorre inteiramente ao nível do citoplasma celular, com a formação de inclusões citoplasmáticas acidófilas. Contudo os vírus pertencentes ao género *Morbillivirus* também produzem inclusões intranucleares acidófilas. O recetor celular dos morbilivírus está presente em linfócitos, macrófagos e células dendríticas e é equivalente ao CD150 humano, o que explica o tropismo destes vírus para as células do tipo imunitário (MacLachlan *et al.*, 2011).

Após infetar a célula, inicia-se a transcrição dos genes virais. Esta transcrição ocorre de forma individual, isto é, cada gene possui sinais para a iniciação e finalização da transcrição. Assim, cada gene transcrito resulta num RNAm individual (MacLachlan *et al.*, 2011).

A importância a nível veterinário do vírus da esgana está relacionada com os sinais clínicos que provoca nos canídeos domésticos e selvagens, contudo também pode infetar mamíferos das famílias *Felidae*, *Mustelidae*, *Procyonidae* e *Viverridae*. O vírus da esgana está relacionado antígenicamente com o vírus responsável pelo sarampo no ser humano, com o vírus da peste nos pequenos ruminantes e com o vírus da peste bovina (MacLachlan *et al.*, 2011).

2.3.2. Epidemiologia

Apesar de a esgana ter como hospedeiro principal as populações caninas de todo o mundo, o vírus tem potencial para infectar uma ampla gama de hospedeiros e pode ser mantido e transmitido entre animais de espécies diferentes (Sequeira *et al.*, 2009; Jin *et al.*, 2017). A infecção pode ocorrer em espécies carnívoras além do cão, incluindo todos os membros da família *Canidae* (raposa, coiote, lobo, etc.), *Mustelidae* (furão, doninha, texugo, marta, lontra, etc.) e alguns membros da família *Procyonidae* (guaxinim, panda vermelho, quincaju, etc.), *Hyaenidae* (hiena), *Ursidae* (urso) e *Viverridae* (civeta) (Kapil *et al.*, 2011; Jin *et al.*, 2017). O chacal-de-dorso-negro (*Canis mesomelas*) é descrito como um potencial dispersor da doença a grandes distâncias, uma vez que se trata de um canídeo social e predador oportunista, o que o torna particularmente adequado para a disseminação de doenças como a raiva e a esgana, no território africano (Sequeira *et al.*, 2009). Até à década de 1990, pensava-se que o CDV não era patogénico para felinos, contudo vários surtos ocorridos em grandes felinos em cativeiro comprovaram o contrário. Estes surtos tornaram-se preocupantes, no sentido em que poderiam tornar-se uma possível ameaça para os projetos de conservação de espécies felinas. Em 1994, o surto do Serengeti, na Tanzânia, dizimou 30% da população de leões e afetou várias outras espécies de carnívoros do Parque Nacional do Serengeti (Viana *et al.*, 2015). As análises moleculares do agente nos animais afetados por este surto demonstraram um agrupamento genético dentro das áreas geográficas e não dentro das espécies hospedeiras. Isto sugeriu que uma única estirpe de vírus estava a causar mortalidade numa variedade de espécies e que o vírus circulava livremente entre cães domésticos e populações de carnívoros selvagens (Cleaveland *et al.*, 2000; Zhang *et al.*, 2017). Outros relatos surgidos nos Estados Unidos indicam que o agente atingiu outros grandes felinos residentes em jardins zoológicos: leões, leopardos e tigres (Sequeira *et al.*, 2009). Estudos recentes avaliaram ainda a exposição deste vírus a pandas gigantes selvagens e, tendo concluído que esta espécie também é passível de ser infectada e traduzir doença. A possibilidade de infecção cruzada entre espécies, pelo vírus da esgana, coloca em ameaça a população selvagem de pandas gigantes (Jin *et al.*, 2017).

As técnicas moleculares são úteis para estudar a epidemiologia da doença e investigar a dinâmica existente na circulação das várias estirpes nas populações susceptíveis. Estudos comparativos de estirpes do agente revelaram que o gene H alberga as maiores variações genéticas e conseqüentemente uma maior variação antigénica. A diversidade genética

associada ao gene H torna possível agrupar as estirpes de CDV em seis grandes linhagens genéticas: América-1, América-2, Ásia-1, Ásia-2, Europeu e Ártico, que são distribuídos de forma variada de acordo com os padrões geográficos, mas independentemente da espécie de origem (Martella *et al.*, 2008; Jin *et al.*, 2017).

A esgana é uma doença febril aguda e contagiosa, que afeta a população de canídeos no seu geral, sem predisposição para raça ou sexo (Martella *et al.*, 2008). Esta doença apresenta uma taxa de mortalidade de aproximadamente 50% para os cães domésticos (Ek-Kommonen *et al.*, 2003).

Os primeiros relatos associados a sintomatologia compatível com esta doença surgiram por volta do ano de 1760, em Espanha, e são descritos episódios de grandes epidemias por toda a Europa durante o século XVIII (Martella *et al.*, 2008). Em 1950, foi desenvolvida uma vacina para prevenção da doença em cães, contudo o seu uso limitado permite que o CDV permaneça prevalente em muitas populações. O CDV também exibe um alto grau de diversidade genética que rivaliza e excede o do vírus do sarampo (Pomeroy *et al.*, 2008). A introdução de vacinas atenuadas, na década de 1950, ajudou a controlar a doença. Porém, a sua incidência ocorre em todo o mundo e parece ter aumentado nas últimas décadas, inclusive há relatos de animais vacinados afetados (Decaro *et al.*, 2004b).

O conhecimento das características demográficas das populações de cães nas áreas urbanas e rurais é fundamental para a compreensão da epidemiologia das doenças infecciosas, e ainda para a tomada de decisões para o planeamento e implementação de esquemas de controlo dessas doenças (Kapil *et al.*, 2011).

Estudos revelaram flutuações temporais na prevalência da doença, com aumento da frequência da infeção durante a estação fria. Existem ainda evidências de diferente sensibilidade dos animais, de acordo com a sua idade. Animais mais jovens, com idade compreendida entre os 3 e os 6 meses são mais suscetíveis do que animais mais velhos. Isto pode ser justificado tendo em conta o declínio da imunidade materna que torna os animais mais jovens mais vulneráveis, e a imunização vacinal nos animais adultos ser mais eficaz e duradoura (Martella *et al.*, 2008).

2.3.3. Patogenia

A entrada do vírus no hospedeiro dá-se por via oral ou nasal através de aerossol. A primeira replicação ocorre dentro de macrófagos presentes nos tecidos do trato respiratório superior, infetando, de seguida, as amígdalas e linfonodos regionais. Tal como referido anteriormente, o vírus da esgana infeta células que expressam o equivalente ao CD150 humano, que está presente em timócitos, linfócitos ativados, macrófagos e células dendríticas. O tropismo do vírus para este tipo de células explica os efeitos imunossupressores causados pela infecção, que refletem a destruição do sistema imunitário (MacLachlan *et al.*, 2011).

Após a replicação nos gânglios linfáticos regionais, o vírus entra na corrente sanguínea, onde circula no interior de linfócitos B e T infetados. Isto corresponde à viremia primária que ocorre no animal e que coincide com os primeiros sinais clínicos de febre (MacLachlan *et al.*, 2011). A viremia primária ocorre aproximadamente até uma semana após a infecção. A progressão da infecção depende da resposta imunitária do animal, sendo que a maioria dos animais desenvolve uma resposta imunitária eficaz, sem ocorrer manifestação de doença (Flores, 2007). Os anticorpos IgM anti-CDV ocorrem nas duas primeiras semanas pós-infecção (Beineke *et al.*, 2009). A partir do sangue, o agente consegue atingir outros tecidos linfóides. Se atingir o tecido linfóide associado ao intestino, infeta os macrófagos aqui presentes e as células de kupfer no fígado. Nestes locais ocorre uma segunda replicação da qual surge uma viremia secundária, quando os viriões entram em circulação. A viremia secundária coincide com novo pico de febre (MacLachlan *et al.*, 2011).

A infecção de células no pulmão, bexiga e pele ocorre relativamente no fim da infecção. A infecção do sistema nervoso central (SNC) também tem um carácter tardio e ocorre em animais que não desenvolvem respostas imunitárias adequadas e/ou suficientemente rápidas (Martella *et al.*, 2008). O vírus pode alcançar o sistema nervoso por diversas vias, tais como através da barreira hematoencefálica, do líquido cefalorraquidiano e/ou do canal ependimário dos ventrículos. A grande variedade de sinais neurológicos consequentes da infecção por este vírus deve-se às lesões multifocais que ocorrem no SNC. Análises anatomopatológicas indicam que o vírus provoca lesões com maior frequência na substância branca do cerebelo, em redor do quarto ventrículo, na medula óssea e na via óptica (Flores, 2007). A imunossupressão e a leucoencefalite desmielinizante são as principais sequelas da infecção (Martella *et al.*, 2008).

No decorrer da infecção, os sinais clínicos iniciais podem desaparecer, mas o vírus persiste por períodos prolongados na úvea, neurónios, urotélio e nalgumas áreas da pele (almofadas plantares), podendo observar-se hiperqueratose em alguns animais. A localização no SNC pode resultar em desmielinização, necrose neuronal, gliose e meningoencefalomielite. Podem ser ainda encontradas inclusões acidófilas nos núcleos ou no citoplasma de células como astrócitos ou células epiteliais com localização no pulmão, estômago, pélvis renal e bexiga (Martella *et al.*, 2008).

A falta de uma resposta imunitária humoral efetiva leva a um curso clínico agudo, muitas vezes fatal (a maioria dos cães morre 2 a 4 semanas após a infecção). Contudo, quando estamos perante uma resposta imunitária humoral específica significativa aos 10-14 dias após a infecção, podemos observar recuperação do animal. Isto depende significativamente da especificidade das imunoglobulinas em reconhecerem as proteínas do invólucro viral, especialmente os anticorpos específicos para a proteína H (Beineke *et al.*, 2009).

2.3.4. Imunidade

A sobrevivência dos animais infetados pelo vírus da esgana depende, fundamentalmente, do desenvolvimento de uma resposta imunitária celular efetiva. A resposta imunitária humoral também é importante, uma vez que cães que apresentem uma titulação de anticorpos mediana parecem estar protegidos contra a doença. Contudo, títulos baixos não são eficientes na proteção dos animais e interferem com a imunização vacinal (Flores, 2007).

O gene H desempenha o papel determinante na entrada do vírus na célula hospedeira, uma vez que medeia a ligação do vírus à superfície celular e é responsável pela ligação viral e pelo tropismo celular. A proteína H demonstrou induzir respostas imunitárias humorais e celulares específicas contra CDV em murganhos (Wang *et al.*, 2014).

A imunidade materna entra em declínio a partir das 4-6 semanas de idade dos cachorros, tornando-os mais sensíveis à infecção. De modo a contornar isto, deve dar-se início à realização do protocolo vacinal, já que antes disso a imunidade materna pode comprometer o sucesso da vacinação. A medição de anticorpos séricos é o método de eleição para avaliar a proteção do animal contra uma futura infecção, sendo a concentração de anticorpos proporcional à proteção existente (WSAVA, 2016).

Após a infecção, os anticorpos surgem cerca de 10 dias após a infecção, permanecendo na memória imunitária para o resto da vida do animal, em caso de sobrevivência. Já as IgMs, habitualmente podem persistir por cerca de 3 meses, como o teste de ELISA demonstra (Greene *et al.*, 2006).

2.3.5. Quadro Clínico e Lesional

O vírus da esgana é excretado para o exterior maioritariamente pela via oro-nasal, através de secreções, no entanto, qualquer excreção ou secreção pode conter o vírus. O CDV atinge os cães, principalmente por inalação de partículas virais presentes em aerossóis (MacLachlan *et al.*, 2011).

A apresentação clínica da esgana é muito variável, tanto na duração, como na gravidade dos sinais. O período de incubação pode variar de 1 a 4 semanas e depende de alguns fatores, como: estirpe infetante, idade do animal no momento da infecção e estado imunitário do hospedeiro. A manifestação da doença varia desde a quase ausência de sinais clínicos até à doença grave, com aproximadamente 50% de mortalidade (Beineke *et al.*, 2009). A apresentação dos sinais clínicos também pode variar, podendo os animais infetados manifestar simultaneamente ou sequencialmente os seguintes quadros: respiratório, gastrointestinal, dermatológico, oftalmológico e neurológico (Wang *et al.*, 2017).

A viremia primária ocorre 3 a 6 dias após a infecção. A viremia secundária ocorre entre os seis a nove dias após a viremia primária e está associada à infecção de células epiteliais da maioria dos órgãos. Nesta fase, o resultado e a intensidade dos sinais clínicos variam em função da virulência da estirpe infetante, da idade do animal e da sua imunidade (Beineke *et al.*, 2009).

Os sinais mais comuns ocorrem a partir do décimo dia pós-infecção e são muitas vezes exacerbados por infecções bacterianas secundárias. Os sinais mais comuns são a perda de apetite, diminuição do estado de alerta, amigdalite, descargas nasais e oculares serosas a muco-purulentas, tosse, estertores pulmonares, dispneia, pneumonia, diarreia, vômitos e pústulas na derme. Os animais que sobrevivem ou aqueles que têm infecções subclínicas podem desenvolver hipoplasia do esmalte dentário e hiperqueratose nas almofadas plantares e nariz (Martella *et al.*, 2008). A hiperqueratose geralmente ocorre associada ao aparecimento de sinais neurológicos. Alguns autores sugerem que o CDV pode persistir no epitélio das

almofadas plantares e no pêlo, durante, pelo menos, 60 dias após a infecção (Koutinas *et al.*, 2004).

Se o animal conseguir desenvolver uma resposta imunitária adequada, há a recuperação total, caso seja desenvolvida uma resposta imunitária fraca, o vírus pode atingir outros tecidos epiteliais e o SNC. A partir dos 20 dias após a infecção, podem ser observados sinais neurológicos, tais como: andar em círculo, inclinação da cabeça, nistagmus, paresia dos membros posteriores que pode evoluir para paralisia completa, convulsões e demência. A contração nervosa involuntária ou contração de músculos e convulsões precedidas de movimentos de mastigação da boca são considerados típicos de infecção por CDV. Os sinais neurológicos também podem ser observados entre 40 e 50 dias após a infecção como consequência da desmielinização crônica induzida pelo vírus (Martella *et al.*, 2008). Podem ainda ocorrer sinais de hipersalivação, mioclonias e diminuição dos reflexos pupilares. Em casos mais agravados podem-se observar sinais de epilepsia, delírio, vocalizações, estupor e coma (Flores, 2007).

O vírus persiste no SNC e a doença evolui de forma descontínua, mas progressivamente. Alguns cães podem recuperar, mas os movimentos compulsivos tendem a persistir (Martella *et al.*, 2008).

O vírus da esgana tem afinidade para os tecidos mielinizados do cérebro e da medula espinhal. Ao contrário de outras infecções, na esgana os neurónios não são primariamente afetados, sendo a distribuição e a natureza das lesões a principal diferença para outros tipos de encefalite. O grau de comprometimento do SNC é dependente da estirpe viral infetante e da sua virulência, da idade do animal infetado e respetiva imunocompetência. Por um lado, animais jovens ou com imunidade diminuída apresentam com mais frequência necrose neuronal. Por outro, cães adultos e imunocompetentes apresentam, geralmente, desmielinização. Estão descritas quatro formas de encefalite causadas por CDV: encefalite em cães jovens, de caráter grave e agudo, com manifestação simultânea de sinais clínicos sistêmicos e neurológicos; encefalite em cães adultos, do tipo crônica, na qual os distúrbios neurológicos podem estar desacompanhados de transtornos sistêmicos; encefalite do cão velho e encefalite recidivante crônica, de ocorrência esporádica (Gebara *et al.*, 2004a).

A encefalite dos cães jovens é a forma mais comum de infecção e caracteriza-se por apresentar sinais neurológicos agudos, geralmente, ou precedidos ou em ocorrência simultânea de manifestações clínicas sistêmicas. As alterações inflamatórias são mínimas, uma vez que o vírus provoca imunossupressão e a principal lesão observada é a

desmielinização (Greene *et al.*, 2006). A encefalite dos cães adultos e a encefalite do cão velho estão descritas com menos frequência e a sintomatologia na maioria das vezes está ausente. Na encefalite do cão adulto há ocorrência de inflamação associada à desmielinização, necrose laminar cortical e malácia da substância branca. A encefalite do cão velho está associada a uma variante da infecção crônica, relacionada com tentativas de eliminação do vírus pelo organismo (Silva *et al.*, 2007).

O tipo de lesão no SNC é influenciado pela estirpe viral infetante. Algumas estirpes apresentam tropismo mais acentuado para neurónios, causando necrose laminar cortical, enquanto outras têm tropismo por astrócitos e oligodendrócitos, provocando desmielinização. Apesar de existir uma prevalência de um certo tipo de lesões para uma certa idade, deve ser tido em consideração que animais mais jovens podem desenvolver lesões características de animais mais velhos, e vice-versa (Silva *et al.*, 2007).

À análise *post mortem* os pulmões estão tipicamente edematosos. Microscopicamente, são visíveis sinais de pneumonia broncointersticial com necrose do revestimento do epitélio das vias aéreas e espessamento das paredes alveolares. Outra lesão frequente é a broncopneumonia bacteriana, devido a infecções secundárias, consequentes da imunodepressão e necrose celular mediada pelo vírus (MacLachlan *et al.*, 2011). Os corpos de inclusão eosinofílica intracitoplasmática estão presentes no epitélio das células da pele, brônquios, trato intestinal, trato urinário, ducto biliar, glândulas salivares e adrenais, SNC, linfonodos e baço (Martella *et al.*, 2008). A desmielinização é a principal lesão encontrada no tecido encefálico de cães infetados. Na infecção aguda, a desmielinização primária não está relacionada com a inflamação. Em formas crônicas da doença, pensa-se que as lesões de desmielinização ocorrem devido a uma reação inflamatória induzida por uma resposta imunitária específica ao CDV e por persistência do agente nos tecidos (Vandeveldt *et al.*, 2005).

A infecção de cadelas gestantes pode levar à transmissão transplacentária do vírus, resultando em abortos, nados-mortos ou nascimento de cachorros fracos e imunossuprimidos (Flores, 2007). Os cachorros com esgana podem desenvolver sinais de pneumonia, enterite, conjuntivite, rinite e traqueíte. A infecção em neonatos também pode resultar em falhas no desenvolvimento do esmalte dos dentes definitivos e em osteosclerose metafisária nos ossos longos (Martella *et al.*, 2008).

Além das infecções bacterianas secundárias comumente observadas em animais infetados pelo vírus da esgana, estão descritas outras co-infecções consequentes da

imunossupressão causada pelo vírus: toxoplasmose, criptosporidiose, micoplasmose, coccidiose e infecções por adenovírus e parvovírus (Silva *et al.*, 2007).

2.3.6. Diagnóstico

Embora não exista uma terapia específica para esta doença letal, um diagnóstico preciso nos estágios iniciais da infecção pode mostrar-se bastante útil na diferenciação de outras doenças com sinais clínicos semelhantes aos da esgana. Isto permitirá antecipar o início da terapia antibiótica de modo a proteger os animais das infecções bacterianas secundárias, que geralmente pioram a condição (Latha *et al.*, 2007b). O diagnóstico definitivo deve ser realizado a nível laboratorial, de modo a excluir outras doenças com manifestações clínicas semelhantes (MacLachlan *et al.*, 2011).

A infecção por CDV deve ser considerada no diagnóstico de qualquer cachorro que se apresente com quadro febril e envolvimento multissistémico (Martella *et al.*, 2008). Estão disponíveis vários testes laboratoriais que permitem confirmar o diagnóstico de CDV, de entre os quais: a imunofluorescência indireta (IF), o isolamento do vírus a partir de cultura celular (ICC) e a técnica de PCR. As técnicas sorológicas apresentam valor diagnóstico limitado, uma vez que os animais que morrem em consequência da infecção podem não apresentar títulos mensuráveis de anticorpos (MacLachlan *et al.*, 2011).

A IF é um teste de imunodeteção que usa Ac marcados com fluoresceína para destacar antígenos presentes em células (Warren, 2014). Esta técnica é realizada a partir de esfregaços de excreções conjuntivais, nasais ou vaginais. Caracteriza-se por ser pouco sensível, uma vez que apenas é capaz de detetar antígenos nas primeiras 3 semanas pós-infecção, quando o vírus está presente nas células epiteliais (Martella *et al.*, 2008).

A ICC é uma técnica mais exigente. Para a sua realização é necessário cultivar linfócitos de animais suspeitos conjuntamente com linhas celulares capazes de expressar a molécula CD150. Após o isolamento inicial, o vírus pode ser adaptado para crescer em linhas de células primárias de pulmão ou em outras linhas celulares convencionais (MacLachlan *et al.*, 2011). Esta técnica é específica, porém demorada e pode resultar em resultados falso-negativos se o animal não estiver na fase aguda da doença (Gebara *et al.*, 2004a).

Como visto anteriormente, a proteína da nucleocápside é a proteína viral mais abundante e tem como função ser o principal regulador da replicação e transcrição do vírus.

Autores sugerem que esta proteína é transcrita e traduzida mais cedo nas células hospedeiras e, por isso, é tida como a primeira proteína viral a expor-se ao sistema imunitário do hospedeiro. Deste modo, os anticorpos do hospedeiro são direcionados contra esta proteína nas fases iniciais da infecção. Uma vez que, esta proteína é constante entre todas as estirpes de CDV, desenvolveu-se uma técnica de ELISA capaz de ser usada globalmente, independentemente da estirpe do vírus (Latha *et al.*, 2007a). O diagnóstico sorológico é baseado na deteção e determinação do título de anticorpos IgG em amostras emparelhadas de soro ou na deteção de IgM numa única amostra (Latha *et al.*, 2007b).

Os títulos elevados de anticorpos IgG específicos podem ocorrer devido a vacinação prévia ou ao resultado de infecção clínica ou subclínica prévia. O título de anticorpos pode ser baixo durante o processo infeccioso, se for grave devido às fortes propriedades imunossupressoras do CDV. Por outro lado, a deteção de anticorpos IgM requer apenas uma única amostra de soro e os anticorpos IgM específicos para a infecção por esgana são produzidos antes dos anticorpos IgG. Assim, um teste de diagnóstico que determine os anticorpos IgM torna-se mais apropriado no diagnóstico precoce (Latha *et al.*, 2007b).

Os métodos que empregam a biologia molecular, e em particular a PCR, têm contribuído com o diagnóstico etiológico de diversas doenças, como é o caso do CDV (Gebara *et al.*, 2004b). Os ensaios moleculares, como a PCR apresentam várias vantagens, de entre as quais: boa sensibilidade e especificidade, rapidez na obtenção dos resultados, não exigência de infeciosidade da partícula viral (Martella *et al.*, 2008). A técnica de PCR é um recurso cada vez mais utilizado na deteção de CDV em diferentes tipos de amostras biológicas que podem ser recolhidas através de zangano, cujo material pode ser sangue, soro, urina, fragmentos de órgãos, excreções conjuntivais ou nasais. A técnica de PCR para a deteção de CDV, utilizando urina como amostra, proporciona o diagnóstico *ante mortem* em cães com sinais clínicos sugestivos desta doença (Gebara *et al.*, 2004b). Além de ser uma amostra fácil obter, processar e armazenar, é afetada em menor extensão pela vacinação. A aparente alta sensibilidade da PCR na deteção de CDV na urina de cães com quadro exclusivo de sinais nervosos deve-se, provavelmente, ao facto de que o CDV pode ser excretado até 90 dias por esta via após a infecção (Amude *et al.*, 2006).

A sensibilidade da técnica de PCR pode variar devido a diversos fatores, entre os quais: os *primers* utilizados, os métodos de extração de RNA e o tipo de amostra analisada (as amostras de órgãos frescos são as mais adequadas) (Amude *et al.*, 2006). Através do ensaio

nested-PCR é possível a identificação do genótipo de CDV, inclusive a distinção entre o vírus “selvagem” e o vacinal (Martella *et al.*, 2008).

Uma vez que, o CDV tem a capacidade de infectar o SNC, pode também estar presente no líquido cefalorraquidiano (LCR). O uso do LCR para a pesquisa de diagnóstico através da técnica de PCR está associado a uma taxa elevada de resultados falsos negativos devido ao reduzido teor celular e conseqüentemente viral deste líquido. Por outro lado, um resultado falso-negativo pode também ser devido a inadequada extração do RNA ou à sua destruição pelas RNAases presentes na amostra colhida. Estudos realizados no âmbito da pesquisa do diagnóstico a partir de amostras de LCR relataram que o isolamento eficiente de RNA não poderia ser alcançado em quase 40% das amostras (Amude *et al.*, 2006).

O uso de dois fluidos corporais diferentes (por exemplo: urina e LCR) pode aumentar a sensibilidade da técnica de PCR no diagnóstico *ante mortem* nos casos em que o animal apresenta sinais clínicos inespecíficos (Amude *et al.*, 2006). A PCR é, atualmente, o melhor método disponível para diagnosticar a infecção pelo vírus da esgana *ante mortem*. Um estudo, realizado em 2005, demonstrou que a sensibilidade da técnica PCR em amostras de urina é muito semelhante à obtida em amostras de LCR. Este estudo demonstrou ainda que tanto a urina como o LCR têm maior sensibilidade quando comparadas com amostras de soro ou leucócitos (Saito *et al.*, 2006).

O estado serológico dos cães pode ser avaliado com testes de neutralização de vírus, ELISA ou testes de imunofluorescência indireta (MacLachlan *et al.*, 2011).

As lesões induzidas pelo CDV no SNC são bastante características e a histopatologia é uma técnica que também pode ser utilizada como diagnóstico para esta doença. Este procedimento é realizado *post mortem*, não permitindo o diagnóstico precoce e *ante mortem* da infecção (Gebara *et al.*, 2004b). As análises histopatológicas *post mortem*, geralmente, revelam lesões patognomônicas no cerebelo e nas colunas brancas da medula espinhal, caracterizadas por áreas bem delimitadas de necrose, desmielinização e inclusões intranucleares em astrócitos. Na análise histopatológica do epitélio vesical da bexiga, são também frequentemente encontrados corpos de inclusão intracitoplasmáticos e/ou intranucleares (Gebara *et al.*, 2004a).

2.3.7. Tratamento

Como já referido, não existe uma terapia específica para o tratamento da infecção pelo vírus da esgana. Assim, o manejo da doença consiste em cuidados de apoio e antibioterapia, de modo a prevenir as infecções bacterianas secundárias (Martella *et al.*, 2008).

A antibioterapia deverá ser escolhida ou confirmada através de uma cultura e antibiograma das secreções recolhidas, quando possível. Inicialmente, a escolha empírica poderá basear-se na administração de ampicilina, tetraciclinas ou cloranfenicol. No entanto, nos animais mais jovens deve evitar-se a administração de tetraciclinas devido ao risco de causar deficiências na dentição (Greene *et al.*, 2006).

A administração de anticorpos heterólogos pode ser um coadjuvante importante no tratamento de cachorros infetados. Animais com maiores títulos de anticorpos desenvolvem sinais clínicos menos graves e os anticorpos são capazes de bloquear a entrada de viriões nas células e de promover a citotoxicidade mediada por células. Estudos realizados neste sentido demonstraram que os animais tratados com anticorpos heterogéneos obtiveram uma melhor taxa de sobrevivência e menor registo de sinais neurológicos (Liu *et al.*, 2016).

A ribavirina é um fármaco antiviral sintético de amplo espectro, análogo da guanosina, que se mostrou capaz de inibir a replicação do CDV *in vitro* (Martella *et al.*, 2008). Este fármaco inibe seletivamente a síntese de DNA, RNA e de proteínas virais em células hospedeiras infetadas. Scagliarin e colaboradores, num estudo publicado em 2008, confirmam os efeitos positivos da ribavirina contra o CDV. Neste estudo demonstraram que o fármaco é ativo contra o vírus, reduzindo acentuadamente a libertação de viriões infecciosos no organismo. A ribavirina também demonstrou inibir a replicação de CDV *in vitro* de modo dependente da dose, do tempo e da linha celular utilizada: após a exposição de 24 horas, a concentrações baixas do fármaco, observa-se um número reduzido de cópias de RNA viral. Isto sugere uma diminuição na formação de novas partículas de vírus capazes de, posteriormente, migrar para outras células e infetá-las. Uma vez que, a ribavirina possui vários mecanismos de ação antiviral é difícil identificar uma atividade antiviral específica (Elia *et al.*, 2008).

Existem também estudos sobre outro fármaco antiviral, descrito como sendo um análogo da ribavirina, mais potente contra vários paramixovírus: o EICAR. Estudos realizados sobre este fármaco sugerem que tem uma atividade antiproliferativa para as células em replicação, tal como observado na ribavirina. O EICAR mostrou possuir uma maior

atividade antiviral contra o CDV, contudo, demonstrou também uma menor seletividade em relação à ribavirina. Estas características tornam incompatível a sua utilização na terapia rotineira (Dal Pozzo *et al.*, 2010).

As nanopartículas de prata surgiram com o desenvolvimento de novos medicamentos antivirais, tendo por base as suas propriedades químicas e físicas únicas. As nanopartículas de prata foram inicialmente estudadas devido ao seu potencial antimicrobiano contra bactérias, contudo, estudos mais recentes indicam que também têm efeito contra vários tipos de vírus, incluindo o vírus da imunodeficiência humana, o vírus da hepatite B, os herpesvírus, entre outros. Estas nanopartículas atuam na fase inicial da infecção, impedindo a fusão do vírus com a célula hospedeira e, conseqüentemente, a sua entrada (Bogdanchikova *et al.*, 2016).

Os estudos realizados no âmbito das nanopartículas de prata foram executados em animais na fase inicial da doença, sem sintomatologia neurológica. Estes estudos indicam que o tratamento tem maiores taxas de sucesso, quanto maiores forem os valores de IgM para CDV. Isto é, a IgM específica do vírus atua como marcador da infecção recente, permitindo a inativação do vírus pelas nanopartículas. Assim, quando maior o título de IgM, maior será a taxa de recuperação do animal. A administração das nanopartículas pode ser realizada por via oral, misturada com a água de bebida e o tempo do tratamento tem duração de 7 a 15 dias. Trata-se de um tratamento alternativo, eficaz em fases iniciais da doença (Bogdanchikova *et al.*, 2016).

O tratamento da forma neurológica da esgana pelas nanopartículas de prata não está completamente esclarecido. Apenas é referido na bibliografia que a administração por via intraperitoneal ou intravenosa é capaz de ultrapassar a barreira hematoencefálica. Deste modo, torna-se necessária a realização de mais estudos, com diferentes dosagens e vias de administração para descartar que a forma neurológica da doença possa ser tratada com sucesso (Bogdanchikova *et al.*, 2016).

Assim, sem um tratamento específico para a infecção pelo vírus da esgana, o controlo deste vírus baseia-se essencialmente na vacinação (Martella *et al.*, 2008).

2.3.8. Prognóstico

O prognóstico dos doentes infetados pelo vírus da esgana depende da estirpe do vírus infetante e da resposta imunitária do animal. Animais que apresentem uma forte resposta

imunitária podem nunca mostrar sinais de infecção, ou podem conseguir recuperar completamente. Neste caso, estão imunizados para toda a vida e não são tidos como portadores nem disseminadores da doença (Beineke *et al.*, 2009).

Quando a resposta imunitária é mais fraca ou não é eficaz, a doença pode evoluir e inclusive tornar-se fatal. Os sinais neurológicos são considerados um fator de mau prognóstico, uma vez que têm uma progressão imprevisível e podem ser incompatíveis com a qualidade de vida do animal. Quando estamos perante um caso em que o doente apresenta sintomatologia neurológica, o prognóstico torna-se bastante reservado. Mais de metade dos cães com esta apresentação morrem entre 2 semanas a 3 meses após a infecção, geralmente com complicações do SNC. Os animais que parecem recuperar desenvolvem, muitas vezes, problemas crónicos no SNC, pela persistência de lesões irreversíveis. Animais com sintomas mais leves, como mioclonias, podem recuperar, embora os sintomas possam persistir por vários meses ou anos (Martella *et al.*, 2008; Mahon *et al.*, 2017).

2.3.9. Prevenção e Controlo

Os cuidados de saúde e a preocupação pelo bem-estar dos animais não são fatores universalmente disponíveis em países em desenvolvimento ou mesmo em áreas remotas de países desenvolvidos. Isto dificulta o desenvolvimento de programas eficazes de deteção e de prevenção de doenças. As falhas da aplicação de protocolos de vacinação, que visam alcançar a imunidade da população, a reprodução descontrolada de cães domésticos e os animais errantes são os principais obstáculos para a prevenção da disseminação de CDV a todas as espécies suscetíveis, a nível mundial (Kapil *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2017).

Atualmente existem protocolos de vacinação eficazes que têm elevadas taxas de sucesso na prevenção de doenças como a parvovirose e a esgana. Contudo, apesar de os esforços para que a vacinação seja geral e alcance todos os animais, as infeções por CPV e CDV continuam a ser as principais causas de morbidade e de mortalidade em cães não vacinados (Beineke *et al.*, 2009).

O uso de vacinas inativadas não induz respostas imunitárias satisfatórias para o cão, podendo ser utilizadas para espécies silvestres (WSAVA, 2016). Assim, as vacinas vivas modificadas estão recomendadas para a imunização da população canina, pois promovem uma imunidade protetora duradoura. Apesar de, a imunidade fornecida pelas vacinas vivas

modificadas ser bastante boa em cães, estas vacinas mantêm virulência suficiente para causar doenças graves e morte nas espécies mais susceptíveis ao vírus (Wang *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2017).

De modo a ultrapassar a interferência dos anticorpos maternos, os cachorros devem ser vacinados com vacinas vivas modificadas às 6 a 8 semanas de idade, com repetição após 2 a 4 semanas, até que o animal atinja os 4 meses de idade (Martella *et al.*, 2008). Segundo as diretivas internacionais lançadas pela WSAVA (2016), as vacinas vivas modificadas têm uma duração de imunidade de nove anos ou mais.

De modo a contornar as desvantagens associadas às vacinas vivas modificadas, têm sido desenvolvidos estudos no âmbito das vacinas recombinantes, que expressem as glicoproteínas de superfície do vírus. Uma vacina recombinante contendo uma quimera entre o poxvírus do canário e o vírus da esgana tem sido utilizada com sucesso na proteção dos cães contra a infecção por esgana, tendo já sido licenciada para o uso rotineiro (Latha *et al.*, 2007c). Este tipo de vacina, ao contrário das vacinas vivas modificadas, não pode reverter para uma forma virulenta, porque não há vírus CDV presentes na vacina (Wang *et al.*, 2014). As diretivas da WSAVA (2016) apontam para que a imunidade conferida pelas vacinas recombinantes possa ter duração de até cinco anos.

A presença de anticorpos maternos contra o CDV nos animais mais jovens pode revelar-se um problema no momento da primovacinação. A partir do cálculo do tempo de vida médio dos anticorpos maternos nos cachorros, considera-se que a idade compreendida entre os três e seis meses de vida é a mais adequada para a vacinação, uma vez que por esta altura há desaparecimento completo dos anticorpos maternos (Latha *et al.*, 2007c).

Uma vez que, o vírus do sarampo está intimamente relacionado com o CDV, foi desenvolvida uma vacina heteróloga contendo o vírus do sarampo com o objetivo de ser administrada em animais jovens ainda sob a imunidade materna. Esta vacina apresentou eficácia limitada e tem como principal desvantagem a introdução do patógeno humano no meio ambiente. Deste modo, foi desautorizado o seu uso ao nível da Europa, embora esteja disponível nos Estados Unidos (Martella *et al.*, 2008).

As falhas vacinais são atribuídas a protocolos vacinais incorretos e/ou a alterações induzidas na própria vacina devido a armazenamento ou administração inadequados (Martella *et al.*, 2008).

O vírus da esgana é sensível no exterior, tanto a temperaturas mais quentes, como a raios solares e a vários produtos químicos. Este vírus apresenta sensibilidade à maioria das

soluções desinfetantes, tais como: amónias quartenárias, fenóis e soluções formalinas diluídas. Deste modo, as instalações, onde estiveram presentes animais infetados, devem ser corretamente desinfetadas, seguidas de um vazio sanitário para que o vírus seja eficazmente eliminado. Por outro lado, locais com densidade animal superior, como canis ou abrigos, devem ter medidas de higiene e desinfeção escrupulosas, tanto das instalações como do pessoal (MacLachlan *et al.*, 2011).

3. OBJETIVOS

O presente trabalho foi desenvolvido no âmbito das Doenças Infeciosas. A área das Doenças Infeciosas representa uma parte fundamental da prática clínica em animais de companhia, originando uma vontade maior de consolidar informações sobre este tema. Assim, foi realizada uma pesquisa sobre a informação inerente a algumas destas doenças na bibliografia disponível.

Durante o estágio curricular realizado, durante um período de cinco meses, foi feito um acompanhamento das consultas, do internamento dos animais e das cirurgias realizadas, no Hospital Veterinário da Torfa (HVT). Durante este período, houve uma especial atenção para os casos que surgiram relacionados com as doenças infecciosas, nomeadamente os três temas abordados neste trabalho.

Os objetivos propostos para a execução deste trabalho foram:

- ✓ Descrever e analisar os casos clínicos destas três doenças: Coronavirose, Parvovirose e Esgana;
- ✓ Comparar e discutir as metodologias de diagnóstico utilizadas com as recomendações encontradas na bibliografia;
- ✓ Comparar e discutir as opções de tratamento e prevenção das doenças infecciosas com o que é recomendado pela bibliografia;
- ✓ Comparar e discutir os resultados obtidos com os que se encontram publicados na bibliografia.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

4.1.1. Animais em estudo

Durante a realização deste trabalho foram contabilizadas as consultas de cães e gatos que foram assistidas durante o período de 31 de Outubro de 2016 a 31 de Março de 2017. Os animais que se apresentaram com suspeita de doença infecciosa foram alvo de especial atenção, independentemente da espécie, raça, sexo, peso ou idade.

4.1.2. Recolha de Dados

Os dados reunidos para este trabalho foram recolhidos no Hospital Veterinário da Trofa (HVT), que possui dois tipos de horário: normal e de urgência. Assim, os estagiários têm os seus horários organizados de forma rotativa, de modo a terem a oportunidade de exercer funções em momentos em que o hospital funciona em período normal e em período de urgência.

Durante o período referido, assistimos a 1527 consultas e/ou cirurgias. A população de animais total foi de 729, dos quais 412 (56,5%) foram cães, 305 (41,8%) foram gatos e 12 (1,6%) corresponderam a outro tipo de animais (aves, leporídeos ou répteis).

Para este trabalho, apenas as consultas a que assistimos durante o período correspondente ao estágio curricular foram contabilizadas, independentemente se o animal foi consultado previamente. De todas as consultas assistidas, apenas as que se relacionavam com doenças infecciosas tiveram especial atenção de registo. Sendo que, entre estas, foram escolhidos os dois casos clínicos com maior interesse dentro de cada doença abordada.

Os diagnósticos foram estabelecidos tendo em conta os sinais clínicos apresentados pelos animais e os exames complementares realizados. Todos os animais com suspeita de determinada doença infecciosa ou com diagnóstico compatível foram admitidos como afetados pela doença, entrando para o estudo. Assim, da população total de 729 animais, 48 (6,6%) foram diagnosticados com doença infecciosa, dos quais 31 (65,6%) foram cães e 17 (35,4%) foram gatos.

Materiais e Métodos

Todos os casos clínicos tratados neste trabalho foram acompanhados nas instalações do hospital, desde a entrada do animal em consulta até ao final do seu internamento. Para estes casos foram recolhidas informações correspondentes à história pregressa do animal, sinais clínicos, dados do exame físico, resultados dos exames complementares e tratamentos instituídos.

4.2. Métodos

4.2.1. Considerações Gerais

Todos os animais que deram entrada no HVT foram pesados na sala de espera, enquanto aguardavam pela consulta. De seguida, foi realizada uma pequena anamnese pelo rececionista, onde o proprietário referia o motivo de consulta e outros aspetos relevantes acerca do estado geral do animal. Todos os dados foram inseridos na base de dados do hospital.

Quando o animal entrava para o consultório, era dispendido algum tempo para a sua ambientação ao espaço e aos membros do corpo clínico presentes, durante o qual era realizada uma anamnese mais aprofundada. A anamnese é parte fundamental da consulta, uma vez que é através dela que o Médico Veterinário pode concluir acerca do que estará na origem da sintomatologia do animal.

4.2.2. Exames Complementares

4.2.2.1. Hemograma e Leucograma

Todos os animais internados, referidos neste trabalho, foram alvo de análises sanguíneas, tanto de hemograma como também de bioquímica sérica.

Sempre que foi necessário proceder a uma recolha de sangue para hemograma, foi realizada a tricotomia da área correspondente ao vaso a puncionar, seguida da assépsia da mesma com álcool. Para a punção do vaso foi escolhida uma agulha adequada ao tamanho do mesmo e o sangue recolhido para um tubo contendo EDTA. As análises sanguíneas foram realizadas através do aparelho de hemograma BC-2800 Vet, da Mindray®, que se encontra exemplificado na figura 2. Os valores de referência considerados foram os referidos na tabela 1.



Figura 2: Aparelho de hemograma BC-2800 Vet, da Mindray® (Fonte: Mindray).

Tabela 1: Parâmetros de hemograma e leucograma analisados e respetivos valores de referência para o cão do aparelho BC-2800 Vet.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor de Referência</u>
Leucócitos	6,0 – 17,0 x 10 ⁹ células/L
Linfócitos	0,8 – 5,1 x 10 ⁹ células/L
Monócitos	0,0 – 1,8 x 10 ⁹ células/L
Granulócitos	4,0 – 12,6 x 10 ⁹ células/L
Linfócitos	12,0 – 30,0 %
Monócitos	2,0 – 9,0 %
Granulócitos	60,0 – 83,0(%)
Eritrócitos	5,50 – 8,50(x10 ¹² /L)
Hemoglobina	11,0 – 19,0 g/dL
Hematócrito	39,0 – 56,0 %
VCM	62,0 – 72,0 fL
HCM	20,0 – 25,0 pg
CHCM	30,0 – 38,0 g/L
RDW	11,0 – 15,5 %
Plaquetas	117 – 460 x 10 ⁹ células/L
VPM	7,0 – 12,0 fL

4.2.2.2. Bioquímica Sérica

Sempre que foi necessária a realização de análises de bioquímica sérica os cuidados de tricotomia e assépsia foram idênticos aos descritos no ponto anterior. Do mesmo modo, a punção do vaso foi realizada com uma agulha com tamanho adequado ao mesmo e o sangue foi coletado para um tubo seco, próprio da máquina de bioquímica. Após a colheita do sangue, procede-se à sua centrifugação, durante cinco minutos, a três mil rotações por minuto. Finalizada a centrifugação, o sangue é analisado através do aparelho DRI-CHEM 4000i, da Fujifilm®, representado na figura 3. Os valores de referência para o cão estão descritos na tabela seguinte:



Figura 3: Aparelho para análises de bioquímica sérica DRI-CHEM 4000i (Fonte: Fujifilm).

Tabela 2: Parâmetros de análises bioquímicas utilizadas e respectivos valores de referência para o cão DRI-CHEM 4000i.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor de Referência</u>
Proteínas Totais (PT)	5,0 – 7,2 g/dL
Albumina (Alb)	2,6 – 4,0 g/dL
Alanina Aminotransferase (ALT)	17 – 78 U/L
Bilirrubina Total (TBIL)	0,1 – 0,5 mg/dL
Ureia nitrogenada no sangue (BUN)	9,2 – 29,2 mg/dL
Creatinina (Crea)	0,4 – 1,4 mg/dL
Sódio (Na)	141 – 152 mEq/L
Potássio (K)	3,8 – 5,0 mEq/L
Cloro (Cl)	102 – 117 mEq/L
Glucose	75 – 128 mg/dL

4.2.2.3. Teste Rápido para despiste de doenças infecciosas (CCoV/CPV)

A utilização de testes rápidos permite a obtenção de resultados em minutos, sendo, por isso, uma ferramenta importante na prática clínica. No HVT, o teste disponível era o Uranotest® *Kit Diagnóstico Parvo-Corona*.

Este teste permite a detecção simultânea de antígenos do parvovírus e do coronavírus nas fezes, após 5 a 10 minutos de espera. Segundo o fabricante, este teste apresenta algumas vantagens, de entre as quais: a detecção dos antígenos pode ser conseguida mesmo antes do aparecimento dos primeiros sinais clínicos; não deteta antígenos de origem vacinal; não apresenta reações cruzadas com outros vírus, como o da esgana, hepatite infecciosa, parainfluenza e parasitas intestinais; e apresenta elevada sensibilidade: limites de detecção de $10^{3.0}$ TCID₅₀/mL, tanto para antígenos de infecção por parvovírus como de coronavírus. Além disto, deteta as estirpes de CPV 2a, 2b e 2c.



Figura 4: Teste rápido para despiste de parvovírus e coronavírus (Fonte: Uranovet).

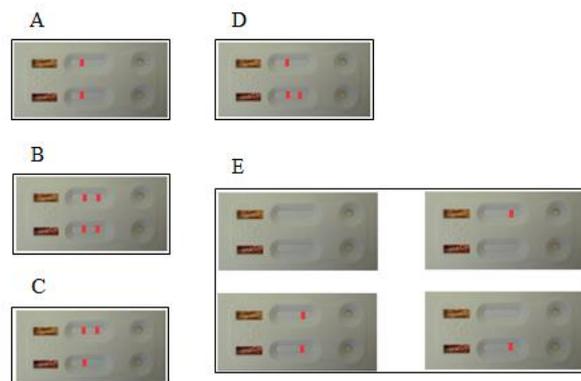


Figura 5: Imagem das possibilidades de resultados obtidos pelo teste Uranotest (Fonte: Uranovet).

A- Representação de um resultado totalmente negativo. B- Representação de um resultado simultaneamente positivo para parvovírus e para coronavírus. C- Resultado positivo para parvovírus. D- Resultado positivo para coronavírus. E- Representação das possibilidades de testes inválidos.

4.2.2.4. Hemocomponentes

Por vezes, o estado geral dos animais afetados por infeções virais deteriora-se de tal modo que se torna necessário realizar transfusões de hemocomponentes. As transfusões são, muitas vezes, cruciais para que o animal se mantenha vivo e consiga responder de modo eficaz contra a agressão viral.

No HVT, todos os hemocomponentes foram adquiridos através do Banco de Sangue Animal (BSA). O BSA tem disponíveis vários hemocomponentes, de entre os quais: sangue inteiro, concentrado de eritrócitos, plasma, concentrado de plaquetas, crioprecipitado e criossobrenadante. Este serviço realiza também testes de tipificação e de coagulação.



Figura 6: Exemplos de hemocomponentes disponibilizados pelo BSA (Fonte: BSAAnimal).

5. CASOS CLÍNICOS

5.1. Infecção por Coronavírus

5.1.1. Caso clínico A

No dia 22 de Janeiro de 2017, uma cadela com 4 meses de idade apresentou-se ao Hospital Veterinário da Trofa (HVT) para consulta devido a um quadro de vômitos sucessivos. Durante a anamnese a tutora referiu que estava com o animal apenas há um dia e que o animal lhe tinha sido entregue já desparasitado internamente e com a vacinação contra a raiva já realizada. Tratava-se de um animal com acesso ao exterior controlado (jardim), desparasitado externamente contra pulgas e carraças. A alimentação era feita apenas com ração seca.

Tabela 3: Informação Referente ao Caso Clínico A.

Espécie	Cão
Género	Fêmea
Raça	Cruzado de Cocker
Data de Nascimento	20/09/2016
Coloração	Preta e Branca
Pelagem	Comprida e lisa
Peso	6,250 Kg

A tutora referiu que o animal mostrou bastante apetite no dia anterior à consulta, sem vômitos. No entanto, no dia da consulta, após ter comido a ração, com apetite, apresentou vômito alimentar. Desde então, mostrou-se prostrado, com vômitos intermitentes. As fezes e a urina foram descritas como normais.

Durante a consulta, o animal demonstrou-se deprimido. E ao exame físico foi estimado um grau de desidratação de 6% e mucosas rosas normais, com tempo de repleção capilar (TRC) normal. A temperatura retal era de 39,7°C. À palpação abdominal demonstrou bastante dor e desconforto, seguidos de um quadro de diarreia, sem sangue visível. Nas auscultações cardíaca e respiratória não foram detetadas anomalias, com frequências de 120 bpm e 24 rpm, respetivamente. Com base nos dados recolhidos, o animal foi internado para realização de mais exames.

Casos Clínicos

Retirou-se sangue para realizar hemograma e alguns parâmetros de bioquímica sérica. Os dados relativos às análises sanguíneas estão descritos na tabela 4 e tabela 5, que se seguem:

Tabela 4: Resultados obtidos no hemograma do caso clínico A, realizado no dia 22/01/2017.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor</u>	<u>Valor de Referência</u>
Leucócitos (x10 ⁹ /L)	11,8	6,0 – 17,0
Linfócitos (x10 ⁹ /L)	1,9	0,8 – 5,1
Monócitos (x10 ⁹ /L)	0,6	0,0 – 1,8
Granulócitos (x10 ⁹ /L)	9,3	4,0 – 12,6
Linfócitos (%)	15,9	12,0 – 30,0
Monócitos (%)	5,2	2,0 – 9,0
Granulócitos (%)	78,9	60,0 – 83,0
Eritrócitos (x10 ¹² /L)	5,50	5,50 – 8,50
Hemoglobina (g/dL)	13,7	11,0 – 19,0
Hematócrito (%)	43,1	39,0 – 56,0
VCM (fL)	78,4 ↑	62,0 – 72,0
HCM (pg)	24,9	20,0 – 25,0
CHCM (g/L)	31,7	30,0 – 38,0
RDW (%)	13,1	11,0 – 15,5
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	316	117 – 460
VPM (fL)	9,4	7,0 – 12,0

Tabela 5: Resultados da análise bioquímica do caso clínico A, realizado no dia 22/01/2017.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor</u>	<u>Valor de Referência</u>
PT (g/dL)	5,5	5,0 – 7,2
Alb (g/dL)	3,6	2,6 – 4,0
BUN (mg/dL)	11,1	9,2 – 29,2
ALT (U/L)	115 ↑	17 - 78

No dia seguinte, foi realizado um teste rápido para despiste de Parvovirose e Coronavirose, sendo que os resultados obtidos foram: negativo para o CPV e positivo para CCoV. Foi ainda realizado um exame coprológico para despiste de parasitas, o qual teve resultado negativo.

Após a realização destes exames complementares, concluiu-se que o motivo da sintomatologia seria uma infecção por Coronavírus, uma vez que o resultado do teste rápido para pesquisa deste agente foi positivo.

Durante o internamento realizou-se fluidoterapia com soro fisiológico (NaCl 0,9% B. Braun[®]), suplementado com 2,5% de glicose.

O tratamento farmacológico foi iniciado com:

- ✓ Antiemético – Ondansetrona (Ondansetron Labesfal[®]): 0,15 mg/kg, IV, BID.
- ✓ Antibiótico – Ampicilina (Ampicilina Labesfal[®]): 22 mg/kg, IV, TID.

Ao longo do primeiro dia de internamento, o animal manteve o estado mental deprimido, com uma desidratação de 6% e a temperatura retal foi descendo dos iniciais 39,7°C até 38,8°C. A urina apresentou-se sempre normal, não defecou e apresentou um vômito biliar ao início da noite. O animal foi submetido a um jejum de 12 horas, devido aos vômitos.

No segundo dia, mostrou melhorias do estado de alerta, tendo estado mais ativo. Os restantes parâmetros relativos ao exame físico mantiveram-se normais, à exceção da temperatura, que foi variando ao longo do dia entre os 38,0 °C e os 39,2 °C.

Relativamente ao plano farmacológico, manteve-se a administração do antiemético (Ondansetrona) e do antibiótico (Ampicilina), tendo sido adicionado um suplemento alimentar com pré e próbióticos, Florentero[®] (½ cp, PO, BID), de modo a regularizar a microbiota intestinal. Iniciou-se a alimentação ao início da tarde com ração seca e o animal apresentou apetite. Durante o segundo dia de internamento, a urina manteve-se normal e as fezes apresentaram-se diarreicas. Ao início da noite, apresentou um vômito alimentar, associado à rapidez com que ingeriu a alimentação fornecida minutos antes.

No terceiro dia de internamento, o exame do estado físico do animal mostrou-se normal. À palpação abdominal não houve sinais de dor ou desconforto e a temperatura regularizou. Foi mantida a administração do antiemético (Ondansetrona), do antibiótico (Ampicilina), do suplemento alimentar (Florentero[®]) e foi adicionado um segundo antibiótico – Metronidazol (Flagyl 250mg[®]: ¼ cp, PO, BID). Durante este dia, o animal apresentou sempre muito apetite, não vomitou, nem defecou.

Com a melhoria do estado geral, foi decidida a alta do animal, no final do terceiro dia de internamento. Foi indicada a continuação da medicação, durante mais 5 dias, em casa, tendo continuado a toma de Metronidazol (Flagyl 250 mg[®]) e do suplemento alimentar (Florentero[®]). Foi ainda introduzido uma associação de fármacos – Amoxiciclina e Ácido Clavulânico (Penamox[®] Suspensão Oral: 2,5 ml, PO, BID). Além do tratamento farmacológico, iniciou-se alimentação seca Gastrointestinal Júnior da Royal Canin[®]. Foi marcada uma consulta de controlo para dia 31 de Janeiro.

No dia 29 de Janeiro de 2017, o animal regressou ao HVT, com novo historial de vômitos. A tutora referiu que os vômitos tiveram início no dia anterior, após a administração oral da medicação anteriormente prescrita. O primeiro vômito foi descrito como espumoso com comprimidos. Durante todo esse dia o animal não apresentou apetite. À noite, o animal teve vários episódios de vômito biliar, motivo pelo qual a proprietária o trouxe à consulta pela manhã. As fezes foram descritas como moldadas e ainda estava a comer a alimentação seca Gastrointestinal Júnior da Royal Canin®. A desparasitação interna foi realizada na semana anterior.

Ao exame físico o animal revelou um grau de desidratação cerca de 6%, estado de alerta diminuído, e restantes parâmetros normais.

Dado o estado do animal, procedeu-se à realização de análises sanguíneas, nomeadamente alguns parâmetros de bioquímica sérica, cujos resultados se encontram na tabela 6. Aproveitou-se a recolha de sangue para se fazer a medição da glicose sanguínea, a qual apresentou o valor de 117 mg/dL.

Tabela 6: Resultados da análise bioquímica de controlo do caso clínico A, realizado no dia 29/01/2017.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor</u>	<u>Valor de Referência</u>
Alb (g/dL)	3,3	2,6 – 4,0
BUN (mg/dL)	14,5	9,2 – 29,2
ALT (U/L)	61	17 – 78

Uma vez que, o animal apresentava um grau de desidratação de 6%, foi submetido a fluidoterapia com solução de Lactato de Ringer (Lactato-RingerVet B. Braun®), com suplementação de glicose em +2,5%. O plano terapêutico estipulado anteriormente foi mantido, contudo substituíram-se as administrações orais por injetáveis e acrescentaram-se alguns fármacos:

- ✓ Antibiótico – Metronidazol (Metronidazol IV Braun®): 15 mg/kg, IV, BID;
- ✓ Antibiótico – Amoxiciclina Ácido Clavulânico (Synulox®): 12,5 mg/kg, SC, SID;
- ✓ Antiemético – Metoclopramida (Metoclopramida Labesfal®): 0,5 mg/kg, IV, TID;
- ✓ Antiemético – Ondansetrona (Ondansetron Labesfal®): 0,15 mg/kg, IV, BID;

- ✓ Protetor Gástrico – Omeprazol (Omeprazol Azevedos[®]): 1 mg/kg, IV, BID.

No dia 30 de Janeiro, o animal mostrou-se alerta, com exame físico normal à exceção da temperatura retal, que se manteve sempre acima dos 39,2 °C. Demonstrou pouco apetite e fez diarreia. Neste dia, acrescentaram-se mais dois fármacos ao plano farmacológico:

- ✓ AINE – Meloxicam (Metacam[®]): 0,2 mg/kg, IV, SID;
- ✓ Antibiótico – Enrofloxacin (Baytril[®]): 5 mg/kg, IV, SID.

No terceiro dia de internamento, o animal começou a mostrar melhorias: as fezes já foram formadas, a temperatura retal normalizou e o animal demonstrou mais apetite pela alimentação seca. Nesse dia, foi realizado um exame coprológico para despiste de parasitas intestinais, o qual teve resultado negativo, e fez-se um hemograma de controlo, cujo resultado se encontra na tabela 7:

Tabela 7: Resultados obtidos no hemograma de controlo do caso clínico A, realizado no dia 31/01/2017.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor</u>	<u>Valor de Referência</u>
Leucócitos (x10⁹/L)	6,7	6,0 – 17,0
Linfócitos (x10⁹/L)	1,4	0,8 – 5,1
Monócitos (x10⁹/L)	0,4	0,0 – 1,8
Granulócitos (x10⁹/L)	4,9	4,0 – 12,6
Linfócitos (%)	20,9	12,0 – 30,0
Monócitos (%)	6,1	2,0 – 9,0
Granulócitos (%)	73,0	60,0 – 83,0
Eritrócitos (x10¹²/L)	4,59 ↓	5,50 – 8,50
Hemoglobina (g/dL)	11,4	11,0 – 19,0
Hematócrito (%)	35,7 ↓	39,0 – 56,0
VCM (fL)	77,8 ↑	62,0 – 72,0
HCM (pg)	24,8	20,0 – 25,0
CHCM (g/L)	31,9	30,0 – 38,0
RDW (%)	12,2	11,0 – 15,5
Plaquetas (x10⁹/L)	270	117 – 460
VPM (fL)	9,8	7,0 – 12,0

Com a melhoria do estado geral do animal, foi decidida a sua alta médica no dia 1 de Fevereiro de 2017. O corpo clínico do HVT concluiu que o reingresso do animal no internamento foi devido a uma possível reação medicamentosa, devido ao vômito agudo observado.

O animal regressou a casa sem medicação oral, apenas com alimentação seca Gastrointestinal Júnior da Royal Canin® já em transição para alimentação seca Júnior Small Dog da Royal Canin®.

Foi marcada uma consulta de controlo para o dia 8 de Fevereiro de 2017. Nesta consulta, uma vez que o animal se apresentava saudável, foi iniciado o protocolo vacinal contra as doenças infecciosas: Esgana, Adenovírus Canino, Vírus da Parainfluenza Canino, Parvovírus Canino e Leptospirose.

5.1.2. Caso Clínico B

No dia 27 de Março de 2017, uma cadela jovem, com um mês e meio de idade, de raça Serra da Estrela, deu entrada no HVT, devido a história de diarreia e prostração. Durante a anamnese, os tutores referiram ter adquirido o animal no dia anterior, durante uma viagem realizada à Serra da Estrela, num posto de venda junto à berma da estrada. Referiram que o animal foi vacinado pelo criador.

Tabela 8: Informação referente ao caso clínico B.

Espécie	Cão
Género	Fêmea
Raça	Serra da Estrela
Data de Nascimento	06/02/2017
Coloração	Tigrado
Pelagem	Comprida e lisa
Peso	5,500 Kg

A alimentação do animal era à base de ração seca, com acesso controlado ao exterior (jardim). Durante o dia anterior, o animal mostrou-se com estado alerta diminuído, algo que os proprietários associaram ao cansaço da viagem. Contudo, durante a noite apresentou diarreias frequentes, que continuaram durante o dia seguinte.

O animal deu entrada no HVT já bastante prostrado. Durante o exame físico, apresentou um grau de desidratação de 6%, mucosas normais, com TRC inferior a dois segundos. A temperatura retal estava aumentada: 39,4 °C. A condição corporal do animal estava diminuída: 2 em 5. À palpação abdominal não demonstrou grande desconforto, contudo o estado mental estava bastante diminuído, pelo que pode ter sido esse o motivo de o

animal não ter demonstrado sinais de desconforto ou dor. A auscultação cardíaca estava normal, com frequência de 140 bpm, contudo a frequência respiratória estava um pouco aumentada: 40 rpm.

Aquando da observação do animal e realização do exame físico, foi possível observar uma grande infestação de pulgas e carraças.

Dada a sintomatologia apresentada, foi colhido sangue para hemograma, bioquímica sérica e ainda medição de glicose. Os resultados obtidos a partir da amostra de sangue foram os seguintes:

Tabela 9: Resultados obtidos no hemograma do caso clínico B, realizado no dia 27/03/2017.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor</u>	<u>Valor de Referência</u>
Leucócitos (x10 ⁹ /L)	23,3 ↑	6,0 – 17,0
Linfócitos (x10 ⁹ /L)	13,1 ↑	0,8 – 5,1
Monócitos (x10 ⁹ /L)	1,4	0,0 – 1,8
Granulócitos (x10 ⁹ /L)	8,8	4,0 – 12,6
Linfócitos (%)	56,1 ↑	12,0 – 30,0
Monócitos (%)	6,1	2,0 – 9,0
Granulócitos (%)	37,8 ↓	60,0 – 83,0
Eritrócitos (x10 ¹² /L)	4,32 ↓	5,50 – 8,50
Hemoglobina (g/dL)	10,4 ↓	11,0 – 19,0
Hematócrito (%)	31,5 ↓	39,0 – 56,0
VCM (fL)	73,1 ↑	62,0 – 72,0
HCM (pg)	24,0	20,0 – 25,0
CHCM (g/L)	33,0	30,0 – 38,0
RDW (%)	19,0 ↑	11,0 – 15,5
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	255	117 – 460
VPM (fL)	9,7	7,0 – 12,0

Valor da glicose sanguínea: 111 mg/dL.

Tabela 10: Resultados da análise da bioquímica do caso clínico B, realizado no dia 27/03/2017.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor</u>	<u>Valor de Referência</u>
Alb (g/dL)	2,1 ↓	2,6 – 4,0
PT (g/dL)	4,3 ↓	5,0 – 7,2
ALT (U/L)	20	17 – 78
TBIL (mg/dL)	0,3	0,1 – 0,5
BUN (mg/dL)	10,3	9,2 – 29,2

Foi realizado um teste rápido (Uranotest[®] *Kit Diagnóstico Parvo-Corona*) para despiste de parvovirose e coronavirose, o qual teve resultado negativo para o primeiro e positivo para o segundo, como se observa na figura 7. Realizou-se também um teste coprológico para pesquisa de ovos de parasitas pelo método de Willis, cujo resultado foi negativo.



Figura 7: Imagem do resultado positivo para coronavírus do teste de despiste realizado no caso clínico B, no dia 27 de Março de 2016.

Após a realização dos exames complementares, concluiu-se que o diagnóstico seria uma infeção por Coronavírus, uma vez que o resultado do teste rápido para pesquisa deste agente foi positivo. Tendo em conta estes resultados, o animal foi encaminhado para o internamento, onde permaneceu durante mais dois dias.

Devido ao grau de desidratação e sintomatologia apresentada, o animal foi colocado sob fluidoterapia com solução de Lactato de Ringer (Lactato-RingerVet B. Braun[®]) suplementado com + 2,5% de glicose.

O tratamento farmacológico imposto iniciou-se com a administração de:

- ✓ Antibiótico – Ampicilina (Ampicilina Labesfal[®]): 22 mg/kg, IV, TID;
- ✓ Antibiótico – Metronidazol (Metronidazol IV Braun[®]): 15 mg/kg, IV, BID.

Uma vez que o animal deu entrada apresentando uma grande quantidade de parasitas externos, procedeu-se à aplicação de desparasitante externo. O produto usado foi uma pipeta de aplicação tipo *spot on*, Advantix[®] 4 – 10 Kg. Este produto foi escolhido devido ao facto de oferecer proteção contra pulgas, carraças, mosquitos e flebótomos.

Durante a primeira noite, o animal mostrou-se muito prostrado, com temperatura retal variável entre 38,3 °C e 39,2 °C. Não defecou, nem urinou e não demonstrou apetite.

Durante o dia seguinte, houve uma evolução bastante positiva do estado geral. Mostrou-se mais alerta, com algum apetite quando a alimentação seca foi misturada com o alimento húmido. A urina apresentou-se normal, mas continuou sem defecar. A temperatura

normalizou, tendo pequenas oscilações entre 38,3°C e 38,6°C. A frequência respiratória manteve-se elevada como aquando da entrada: 40 rpm. A medicação manteve-se inalterada.

Ao terceiro dia, o animal apresentou fezes formadas, o estado geral normalizou em todos os parâmetros e demonstrou bastante apetite. A medicação manteve-se inalterada e procedeu-se à realização de um hemograma de controlo, cujos resultados compõem a seguinte tabela (tabela 11):

Tabela 11: Resultados obtidos no hemograma de controlo do caso clínico B, realizado no dia 29/03/2017.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor</u>	<u>Valor de Referência</u>
Leucócitos (x10⁹/L)	7,9	6,0 – 17,0
Linfócitos (x10⁹/L)	2,7	0,8 – 5,1
Monócitos (x10⁹/L)	0,7	0,0 – 1,8
Granulócitos (x10⁹/L)	4,5	4,0 – 12,6
Linfócitos (%)	34,3 ↑	12,0 – 30,0
Monócitos (%)	9,0	2,0 – 9,0
Granulócitos (%)	56,7 ↓	60,0 – 83,0
Eritrócitos (x10¹²/L)	4,0 ↓	5,50 – 8,50
Hemoglobina (g/dL)	8,5 ↓	11,0 – 19,0
Hematócrito (%)	28,8 ↓	39,0 – 56,0
VCM (fL)	72,1 ↑	62,0 – 72,0
HCM (pg)	21,2	20,0 – 25,0
CHCM (g/L)	29,5 ↓	30,0 – 38,0
RDW (%)	17,6 ↑	11,0 – 15,5
Plaquetas (x10⁹/L)	246	117 – 460
VPM (fL)	9,7	7,0 – 12,0

Dada a melhoria do estado geral do animal decidiu-se a sua alta no final do dia 29 de Março, tendo sido marcada uma consulta de controlo uma semana depois para controlo do hemograma.

A medicação indicada para casa foi:

- ✓ Antibiótico – Amoxiciclina Ácido Clavulânico (Penamox[®] 50): 2 cp, PO, BID.
- ✓ Antibiótico – Metronidazol (Flagyl 250mg[®]): 1 cp, PO, BID.

5.2. Infecção por Parvovírus

5.2.1. Caso Clínico C

No dia 25 de Dezembro de 2016, uma cadela de raça Dogue Argentino, de dois meses de idade, deu entrada no HVT, durante a noite. Ingressou no hospital com história de vômitos consecutivos, diarreia e prostração.

Tabela 12: Informação referente ao caso clínico C.

Espécie	Cão
Género	Fêmea
Raça	Dogue Argentino
Data de Nascimento	25/10/2016
Coloração	Branca
Pelagem	Curta e lisa
Peso	6,500 Kg

Durante a anamnese, os tutores referiram que estavam com o animal apenas há três dias, e que neste período de tempo as fezes foram sempre pastosas de cor amarela. A condição corporal estava diminuída quando o foram buscar ao criador, mas demonstrou sempre muito apetite. Desde que está com os novos tutores, a alimentação foi feita apenas com ração seca Friskies® Júnior. No boletim de vacinas, estava a indicação de que a primeira vacina foi realizada no dia 15 de Dezembro, contudo não havia informação acerca do estado da desparasitação interna. Porém, os tutores afirmaram que nunca tinham observado parasitas nas fezes nem nos vômitos.

Em casa, os tutores afirmaram que o animal tinha acesso controlado ao exterior, um pequeno jardim, e contacto com um cão adulto, que estava vacinado e desparasitado.

Os tutores garantiram que o animal não teve acesso a raticidas ou outras substâncias, como metaldeído (veneno para caracóis e lesmas). Contudo, há possibilidade de ter lambido detergentes ou ter ingerido cartão ou plástico. Os tutores referiram ainda que o animal ingere as próprias fezes.

No dia 25 de Dezembro, o animal começou com vômitos consecutivos (um deles apresentou sangue) e diarreia, parecendo pouco reativo aos estímulos externos. Os proprietários não viram sangue nas fezes.

Durante o exame ao estado geral, mostrou-se bem disposta e alerta, com mucosas rosadas, TRC normal, pulso forte e frequências cardíaca e respiratória dentro da normalidade: 120 bpm e 24 rpm, respectivamente. À palpação do abdômen cranial, demonstrou desconforto e dor. A temperatura retal estava aumentada (39,8 °C) e apresentava um grau de desidratação de 7%.

Após a realização do exame físico, foi recolhida uma amostra de sangue para hemograma e bioquímica sérica, cujos resultados se apresentam nas tabelas seguintes (tabelas 13 e 14):

Tabela 13: Resultados obtidos no hemograma do caso clínico C, realizado no dia 25/12/2016.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor</u>	<u>Valor de Referência</u>
Leucócitos (x10 ⁹ /L)	24,7 ↑	6,0 – 17,0
Linfócitos (x10 ⁹ /L)	1,2	0,8 – 5,1
Monócitos (x10 ⁹ /L)	1,2	0,0 – 1,8
Granulócitos (x10 ⁹ /L)	22,3 ↑	4,0 – 12,6
Linfócitos (%)	5,0 ↓	12,0 – 30,0
Monócitos (%)	4,8	2,0 – 9,0
Granulócitos (%)	90,2 ↑	60,0 – 83,0
Eritrócitos (x10 ¹² /L)	5,52	5,50 – 8,50
Hemoglobina (g/dL)	11,7	11,0 – 19,0
Hematócrito (%)	37,4 ↓	39,0 – 56,0
VCM (fL)	67,8	62,0 – 72,0
HCM (pg)	21,1	20,0 – 25,0
CHCM (g/L)	31,2	30,0 – 38,0
RDW (%)	15,1	11,0 – 15,5
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	470 ↑	117 – 460
VPM (fL)	8,8	7,0 – 12,0

Valor da glicose sanguínea: 181 mg/dL.

Tabela 14: Resultados da análise de bioquímica do caso clínico C, realizada no dia 25/12/2016.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor</u>	<u>Valor de Referência</u>
PT (g/dL)	5,2	5,0 – 7,2
Alb (g/dL)	2,6	2,6 – 4,0
BUN (mg/dL)	9,3	9,2 – 29,2
ALT (U/L)	117 ↑	17 - 78

Foi ainda realizado um Raio-X abdominal, que afastou a possibilidade de ingestão de um corpo estranho.

Perante os resultados obtidos pelos exames complementares, presumiu-se que a sintomatologia fosse devido a uma gastroenterite. Deste modo, o animal foi internado com o objetivo de controlar o vômito e a desidratação. Submeteu-se o animal a fluidoterapia, com soro fisiológico (NaCl 0,9% B. Braun®).

Devido aos vômitos descritos, foi imposto um jejum de oito horas e foi iniciado o tratamento farmacológico com:

- ✓ Protetor gástrico – Omeprazol (Omeprazol Azevedos®): 1 mg/kg, IV, BID;
- ✓ Antiemético – Ondasetrona (Ondansetron Labesfal®): 0,15 mg/kg, IV, BID;
- ✓ Antibiótico – Ampicilina (Ampicilina Labesfal®): 22 mg/kg, IV, TID;
- ✓ Antibiótico – Metronidazol (Metronidazol IV Braun®): 15 mg/kg, IV, BID.

O animal ficou internado durante oito dias, até dia 2 de Janeiro de 2017.

No segundo dia de internamento, foram recolhidas fezes para exame coprológico para pesquisa de ovos de parasitas pelo método de Willis, cujo resultado foi negativo, o qual teve resultado negativo. Ainda assim, foi realizada a desparasitação interna com Quenazole®. Neste dia foi ainda realizado um teste coprológico rápido de pesquisa de coronavirose e parvovirose, tendo-se obtido um resultado positivo para o último agente.

No terceiro dia de internamento, foi acrescentado ao plano farmacológico um antiemético de ação central, Citrato de Maropitant monohidratado (Cerenia®: 1 mg/kg, SC, SID), e um antibiótico pertencente ao grupo das fluorquinolonas, a Enrofloxacina (Baytril®: 5 mg/kg, SC, SID). Foi também realizado um hemograma de controlo, no fim da manhã. Os valores da linha leucocitária apresentaram-se todos dentro da normalidade, apenas os valores relativos aos eritrócitos demonstraram alterações. A seguinte tabela (tabela 15) representa apenas as alterações:

Tabela 15: Resultados obtidos no hemograma de controlo do caso clínico C, realizado no dia 27/12/2016.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor</u>	<u>Valor de Referência</u>
Eritrócitos ($\times 10^{12}/L$)	5,07 ↓	5,50 – 8,50
Hemoglobina (g/dL)	10,2 ↓	11,0 – 19,0
Hematócrito (%)	33,6 ↓	39,0 – 56,0

No dia seguinte, 28 de Dezembro, realizou-se novo hemograma de controlo, uma vez que o estado do animal estava em decadência. Os resultados representados na tabela 16 são relativos a esse hemograma, contudo só estão representados os valores com interesse:

Tabela 16: Resultados obtidos no hemograma de controlo do caso clínico C, realizado no dia 28/12/2016.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor</u>	<u>Valor de Referência</u>
Leucócitos (x10⁹/L)	1,7 ↓	6,0 – 17,0
Linfócitos (x10⁹/L)	0,6 ↓	0,8 – 5,1
Granulócitos (x10⁹/L)	1,0 ↓	4,0 – 12,6
Linfócitos (%)	33,6 ↑	12,0 – 30,0
Monócitos (%)	9,6 ↑	2,0 – 9,0
Granulócitos (%)	56,8 ↓	60,0 – 83,0
Hemoglobina (g/dL)	11,2	11,0 – 19,0
Hematócrito (%)	36,4 ↓	39,0 – 56,0
Plaquetas (x10⁹/L)	575 ↑	117 – 460

Realizou-se também o controlo dos níveis de glicose sanguínea: 157 mg/dL; e da albumina: 1,8 g/dL, que se apresentou diminuída (valor de referência: 2,6 – 4,0 g/dL). Perante os valores do hematócrito deu-se início a uma transfusão de plasma.

Acrescentou-se ainda, ao plano farmacológico, a administração de Infermun[®]: 1 ml, IV, com repetição da toma em 48 horas.

No quinto dia de internamento, além da terapêutica instituída, adicionou-se ainda Metoclopramida (Metoclopramida Labesfal[®]: 0,5 mg/kg, IV, TID), e, dado o estado de prostração e temperatura retal continuamente elevada, adicionou-se também a administração de Metadona (Semfortan[®]: 0,1 mg/kg, IM, QID). Visto que, se trata de um animal jovem com diarreia e anorexia, deu-se início a toma de Nutri-Plus Gel[®], um complemento nutricional de elevada energia.

Durante os primeiros cinco dias de internamento, o animal piorou bastante o seu estado geral. A temperatura retal esteve sempre em oscilação entre 38,4°C e 40,0°C. As fezes diarreicas ficaram cada vez mais líquidas e fétidas, por vezes apresentando alimento não digerido, e no terceiro dia de internamento já apresentavam sangue vivo. O apetite foi diminuindo, assim como o seu peso, até que o animal se recusou a comer. Deste modo, no dia 29 de Dezembro, foi colocada uma sonda nasoesofágica, através da qual foi forçada a alimentação Convalescence Support da Royal Canin[®].

No dia 30 de Dezembro, foi realizado novo hemograma de controlo, cujos valores de interesse para o caso se apresentam na seguinte tabela (tabela 17):

Tabela 17: Resultados obtidos no hemograma de controlo do caso clínico C, realizado no dia 30/12/2016.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor</u>	<u>Valor de Referência</u>
Leucócitos ($\times 10^9/L$)	2,7 ↓	6,0 – 17,0
Linfócitos ($\times 10^9/L$)	1,2	0,8 – 5,1
Granulócitos ($\times 10^9/L$)	0,8 ↓	4,0 – 12,6
Linfócitos (%)	58,3 ↑	12,0 – 30,0
Monócitos (%)	10,8 ↑	2,0 – 9,0
Granulócitos (%)	30,9 ↓	60,0 – 83,0
Eritrócitos ($\times 10^{12}/L$)	5,49 ↓	5,50 – 8,50
Hematócrito (%)	36,5 ↓	39,0 – 56,0
Plaquetas ($\times 10^9/L$)	530 ↑	117 – 460

No dia 31 de Dezembro, o animal apresentou fezes formadas pela primeira vez. O estado mental começou a melhorar, mostrando-se mais alerta. A temperatura desceu para valores normais. No dia seguinte, demonstrou apetite, tendo começado a comer pequenas quantidades de comida sozinho, contudo a sonda foi mantida por precaução.

Por fim, no dia 2 de Janeiro, foi dada alta. Antes de ir para casa, foi realizado um último hemograma de controlo, que está representado na tabela 18. Uma vez que o animal demonstrou apetite, foi indicado iniciar alimentação com comida húmida Gastrointestinal da Royal Canin®. A medicação que o animal manteve em casa foi:

- ✓ Antibiótico – Amoxiciclina e Ácido Clavulânico (Penamox® 50): 2 cp, PO, BID;
- ✓ Antibiótico – Metronidazol (Flagyl® 250): 1 cp, PO, BID;
- ✓ Complemento Nutricional – Nutri-Plus Gel®.

Tabela 18: Resultados obtidos no hemograma de controlo do caso clínico C, realizado no dia 02/01/2017.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor</u>	<u>Valor de Referência</u>
Leucócitos ($\times 10^9/L$)	17,5 ↑	6,0 – 17,0
Linfócitos ($\times 10^9/L$)	9,0 ↑	0,8 – 5,1
Monócitos ($\times 10^9/L$)	2,0 ↑	0,0 – 1,8
Granulócitos ($\times 10^9/L$)	6,5	4,0 – 12,6
Linfócitos (%)	51,4 ↑	12,0 – 30,0

Monócitos (%)	11,6 ↑	2,0 – 9,0
Granulócitos (%)	37,0 ↓	60,0 – 83,0
Eritrócitos (x10¹²/L)	5,28 ↓	5,50 – 8,50
Hemoglobina (g/dL)	10,6 ↓	11,0 – 19,0
Hematócrito (%)	34,4 ↓	39,0 – 56,0
VCM (fL)	65,2	62,0 – 72,0
HCM (pg)	20,0	20,0 – 25,0
CHCM (g/L)	30,8	30,0 – 38,0
RDW (%)	16,1 ↑	11,0 – 15,5
Plaquetas (x10⁹/L)	641 ↑	117 – 460
VPM (fL)	7,5	7,0 – 12,0

Foi agendada uma consulta de controlo para remoção da sonda nasoesofágica para dia 6 de Janeiro de 2017. No dia 11 de Janeiro, o animal apresentava uma condição corporal muito superior, com um peso de 9,800 Kg. Nesta consulta, fez novo hemograma, cujos valores se apresentavam dentro da normalidade, deste modo, deu-se início ao protocolo vacinal.

5.2.2. Caso Clínico D

No dia 26 de Dezembro de 2017, uma cadela sem raça definida, deu entrada no Hospital Veterinário da Trofa (HVT) devido a história de prostração, vómitos e de diarreia com sinais de sangue.

Tabela 19: Informação referente ao caso clínico D.

Espécie	Cão
Género	Fêmea
Raça	SRD
Data de Nascimento	22/09/2016
Coloração	Castanha
Pelagem	Curta e lisa
Peso	4,900 Kg

Durante a anamnese, os tutores afirmaram estar com o animal há uma semana, depois de a recolherem da rua. O animal não estava desparasitado interna nem externamente, nem vacinado. Em casa, tem acesso controlado ao exterior (quintal) e tem contacto com mais dois cães adultos, ambos desparasitados e vacinados. A alimentação era feita com ração seca, tendo os tutores afirmado que não pode ter ingerido qualquer tipo de tóxicos.

Começou com episódio de vômitos e diarreia dois dias antes da consulta, tendo apresentado uma diarreia com sangue na manhã do dia da consulta.

O animal deu entrada no HVT com sinais de choque. Apresentou-se num estado bastante deprimido, com diminuída reação a estímulos externos. As mucosas estavam rosas pálidas, o TRC normal, um grau de desidratação de 10%. A temperatura retal medida foi 35,6 °C. E as frequências cardíaca e respiratória, 200 bpm e 20 rpm, respectivamente. À palpação abdominal, o abdómen mostrou-se tenso e o animal demonstrou algum desconforto.

Após a recolha dos dados relativos ao estado geral do animal, foi retirada uma amostra de sangue para análise sanguínea. Apesar do estado crítico do animal, não foi possível fazer uma pesquisa muito vasta em exames complementares, uma vez que os proprietários não podiam suportar um orçamento muito alto. Assim, reduziram-se ao máximo os exames complementares. Na tabela seguinte (tabela 20) estão descritos os resultados do hemograma:

Tabela 20: Resultados obtidos no hemograma do caso clínico D, realizado no dia 26/12/2016.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor</u>	<u>Valor de Referência</u>
Leucócitos (x10⁹/L)	1,7 ↓	6,0 – 17,0
Linfócitos (x10⁹/L)	0,9	0,8 – 5,1
Monócitos (x10⁹/L)	0,1	0,0 – 1,8
Granulócitos (x10⁹/L)	0,7 ↓	4,0 – 12,6
Linfócitos (%)	52,3 ↑	12,0 – 30,0
Monócitos (%)	7,6	2,0 – 9,0
Granulócitos (%)	40,1 ↓	60,0 – 83,0
Eritrócitos (x10¹²/L)	6,88	5,50 – 8,50
Hemoglobina (g/dL)	17,1	11,0 – 19,0
Hematócrito (%)	51,0	39,0 – 56,0
VCM (fL)	74,2 ↑	62,0 – 72,0
HCM (pg)	24,8	20,0 – 25,0
CHCM (g/L)	33,5	30,0 – 38,0
RDW (%)	12,7	11,0 – 15,5
Plaquetas (x10⁹/L)	306	117 – 460
VPM (fL)	10,3	7,0 – 12,0

Valor da glicose sanguínea: 144 mg/dL.

Dada a exigência de contenção de custos, apenas foi pesquisada a albumina na análise de bioquímica sérica, que estava dentro dos valores considerados normais.

Tabela 21: Resultados da análise bioquímica do caso clínico D, realizado no dia 26/12/2016.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor</u>	<u>Valor de Referência</u>
Alb (g/dL)	2,8	2,6 – 4,0

Apesar de não haver a possibilidade monetária, foi realizado um teste rápido de forma a ter um diagnóstico conclusivo. Este teste não foi cobrado aos proprietários e o seu resultado foi positivo para parvovírus.

Após os exames complementares o animal foi encaminhado para o internamento e colocado sob fluidoterapia com solução de Lactato de Ringer (Lactato-RingerVet B. Braun[®]) suplementado com 2,5% de glicose e 20 mEq de potássio.

O tratamento farmacológico inicialmente imposto foi:

- ✓ Antibiótico – Metronidazol (Metronidazol IV Braun[®]): 15 mg/kg, IV, BID;
- ✓ Antibiótico – Ampicilina (Ampicilina Labesfal[®]): 22 mg/kg, IV, TID;
- ✓ Antibiótico – Enrofloxacina (Baytril[®]): 5 mg/kg, IV, SID;
- ✓ Antiemético – Ondasetrona (Ondansetron Labesfal[®]): 0,15 mg/kg, IV, BID;
- ✓ Protetor Gástrico – Omeprazol (Omeprazol Azevedos[®]): 1 mg/kg, IV, BID.

Durante os três dias que se seguiram, o animal não demonstrou grandes melhorias do seu estado geral. Apresentou-se sempre deprimido, a percentagem de desidratação manteve-se entre os 6-7% e a temperatura retal oscilou entre 38,7°C e 40°C. Os restantes parâmetros de avaliação do estado geral mantiveram-se dentro dos valores normais. Nestes primeiros três dias de internamento, as fezes do animal apresentaram-se líquidas, com sangue vivo e odor fétido. Houve ainda episódios de vômito, não muito frequentes. O apetite diminuído e a reduzida ingestão de água tornaram difícil reverter a desidratação, assim, iniciou-se a administração de soro subcutâneo e começou a ponderar-se a colocação de uma sonda nasoesofágica.

No dia 29 de Dezembro, foi colocada uma sonda nasoesofágica e iniciou-se a alimentação do animal com Convalescence Support da Royal Canin[®]. Neste dia, foi notória a melhoria do estado geral: a temperatura estabilizou dentro dos valores normais, o estado alerta melhorou, a desidratação foi corrigida e apresentou menos desconforto à palpação abdominal.

Começou a demonstrar algum apetite e começou a comer pequenas porções de Convalescence Support da Royal Canin® sozinho.

Neste dia, realizou-se um hemograma de controlo. Apesar de ter ainda muitos valores alterados, estes apresentaram melhorias em relação ao hemograma realizado inicialmente. Na tabela que se segue (tabela 22), estão apresentados os valores alterados:

Tabela 22: Resultados obtidos no hemograma de controlo do caso clínico D, realizado no dia 29/12/2016.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor</u>	<u>Valor de Referência</u>
Leucócitos (x10⁹/L)	2,6 ↓	6,0 – 17,0
Granulócitos (x10⁹/L)	1,1 ↓	4,0 – 12,6
Linfócitos (%)	48,7 ↑	12,0 – 30,0
Granulócitos (%)	43,2 ↓	60,0 – 83,0
Eritrócitos (x10¹²/L)	4,40 ↓	5,50 – 8,50
Hemoglobina (g/dL)	10,1 ↓	11,0 – 19,0
Hematócrito (%)	32,2 ↓	39,0 – 56,0
VCM (fL)	73,4 ↑	62,0 – 72,0

No dia 30 de Dezembro, o estado geral do animal estava normal, as fezes já eram menos frequentes e mais formadas, o apetite melhorou bastante, o animal começou a comer a quantidade diária de Convalescence Support da Royal Canin® sozinho e ainda ração húmida Gastrointestinal Júnior da Royal Canin®. Terminou-se a administração de enrofloxacin, pois já era o quinto dia de administração. Dada a contenção de custos e a melhoria do animal, ponderou-se em autorizar uma alta condicionada no dia seguinte.

No dia 31 de Dezembro, teve alta condicionada tendo continuado a seguinte medicação em casa:

- ✓ Antibiótico – Metronidazol (Flagyl® 250): 1 cp, PO, BID;
- ✓ Antibiótico – Amoxiciclina Ácido Clavulânico (Penamox® 50): 2 cp, PO, BID;
- ✓ Antiemético – Metoclopramida 10mg: ¼ cp, PO, BID;
- ✓ Antiinflamatório – Bromelaína (Ananase®): 1 cp PO, TID.

Foi recomendado manter a alimentação com Convalescence Support da Royal Canin®, contudo apesar das restrições no orçamento impostas pelos proprietários, estes quiseram ainda manter também ração húmida Gastrointestinal Júnior da Royal Canin®.

Por fim, foi agendada uma consulta de controlo para o dia 6 de Janeiro de 2017, à qual o animal compareceu. Nesta consulta, demonstrou-se alerta, com os valores do exame físico

dentro da normalidade. Não apresentou vômitos nem diarreia durante a semana que esteve em casa, e o apetite sempre normal, tendo apresentado um peso de 6,500 Kg. Como ainda estava a fazer medicação, o protocolo vacinal foi iniciado apenas no dia 21 de Janeiro.

5.3. Infecção pelo Vírus da Esgana

5.3.1. Caso Clínico E

No dia 11 de Março de 2017, deram entrada no HVT duas cadelas, uma Labrador Retriever (E1) e uma Golden Retriever (E2). Ambos os animais vieram com referência de outra clínica veterinária.

Tabela 23: Informação referente ao caso clínico E.

	Animal E1	Animal E2
Espécie	Cão	Cão
Género	Fêmea	Fêmea
Raça	Labrador Retriever	Golden Retriever
Data de Nascimento	06/08/2015	23/03/2009
Coloração	Preta	Dourada
Pelagem	Curta e lisa	Comprida e lisa
Peso	24,550 Kg	29,850 Kg

Durante a anamnese, os tutores referiram terem três cadelas, as duas referidas na tabela 23 e uma Pequínês (E3), de três anos. As cadelas convivem todas no mesmo espaço e têm acesso a um quintal. Os três animais encontravam-se desparasitados externamente. Apenas os animais E1 e E2 estavam desparasitados internamente, e o protocolo vacinal apenas era realizado anualmente no animal E3. O animal E2 tinha as vacinas em atraso há três anos, devido a história recorrente de gastrites, e o animal E1 nunca tinha sido vacinado.

No dia 14 de Fevereiro, os animais E1 e E2 fugiram de casa, tendo o E2 sido encontrado algumas horas depois. O animal E1 apenas foi encontrado no dia seguinte, no canil municipal de Guimarães, por volta das 15 horas, e levado para casa onde esteve em contacto com as outras duas cadelas. Segundo os proprietários, nesse mesmo dia o animal E1 já apresentava sintomatologia respiratória: tosse, por vezes seguida de náusea.

Devido à sintomatologia apresentada pelo animal E1, no dia 3 de Março, foi levado para uma clínica veterinária, onde ficou internado e se fizeram alguns exames complementares, nomeadamente um hemograma, uma pesquisa de anticorpos de esgana por ELISA e um Raio-X com duas projeções torácicas. As projeções de Raio-X (figura 8) foram tiradas na clínica onde o animal E1 foi inicialmente internado, tendo sido feitas duas projeções, uma ventrodorsal (A) e outra laterolateral em decúbito direito (B), sendo que ambas as imagens se encontram representadas na figura 8. Apesar de as imagens apresentarem reduzida qualidade, podemos concluir que existe um padrão pulmonar intersticial e alveolar, com maior intensidade nos lobos craniais.

O hemograma e a bioquímica sérica foram realizados num laboratório de análises clínicas externo à clínica, e os resultados estão descritos nas seguintes tabelas (tabelas 24 e 25):

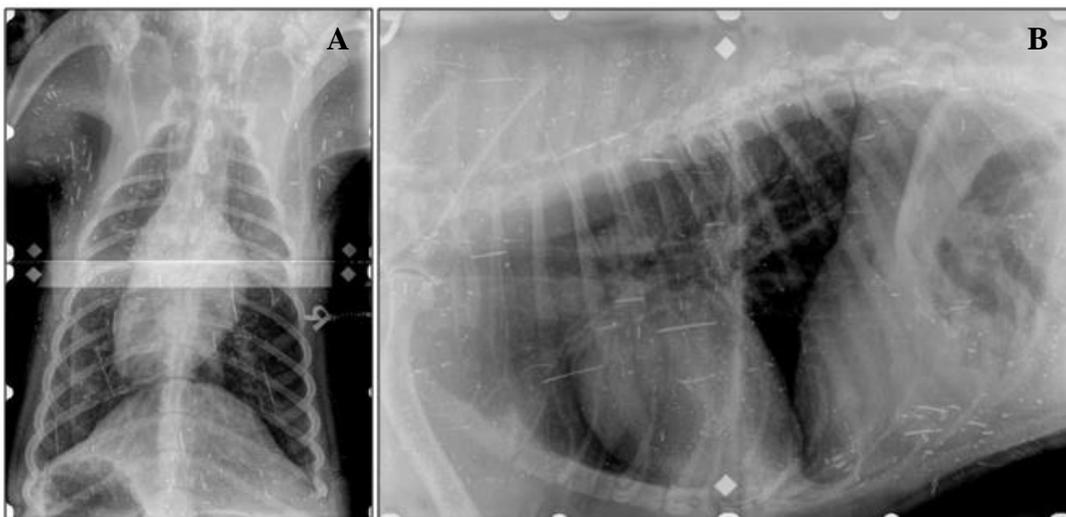


Figura 8: Imagens referentes ao caso clínico E, obtidas através do Raio-X do animal E1, no dia 3 de Março de 2016. A- projeção ventrodorsal. B- projeção laterolateral em decúbito direito.

Tabela 24: Resultados obtidos no hemograma do caso clínico E, referente ao animal E1, realizado no dia 03/03/2017.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor E1</u>	<u>Valor de Referência</u>
Leucócitos (x10 ⁹ /L)	4,17	6,0 – 17,0
Linfócitos (x10 ⁹ /L)	1,63	0,53 – 3,44
Monócitos (x10 ⁹ /L)	0,62 ↑	0,0 – 0,43
Neutrófilos (x10 ⁹ /L)	1,86	3,0 – 11,40
Eosinófilos (x10 ⁹ /L)	0,02	0,0 – 1,82
Basófilos (x10 ⁹ /L)	0,03	0,01 – 0,54
Eritrócitos (x10 ¹² /L)	8,56 ↑	5,50 – 8,50
Hemoglobina (g/dL)	20,5 ↑	12,0 – 18,0
Hematócrito (%)	62,4 ↑	37,0 – 55,0
VCM (fL)	72,8	66,0 – 77,0
HCM (pg)	24,0	19,9 – 24,5
CHCM (g/L)	32,9	32,0 – 36,0
RDW (%)	13,5	11,9 – 14,9
Plaquetas (x10 ⁹ /L)	120	200 – 500
VPM (fL)	11,3	9,0 – 13,0

Tabela 25: Resultados da análise de bioquímica do caso clínico E, referente ao animal E1, realizado no dia 03/03/2017.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor E1</u>	<u>Valor de Referência</u>
BUN (mg/dL)	23	7,0 – 32,0
Crea (mg/dL)	0,81	0,8 – 1,80
ALT (U/L)	45 ↑	9,0 – 36,0
FA (U/L)	50	20 – 156,0

Tal como referido, foi realizada uma pesquisa de anticorpos para IgM de Esgana, através do método de ELISA, cujo resultado foi positivo, com um título alto. A partir do resultado obtido, foi concluído o diagnóstico definitivo: infecção por vírus da esgana. No dia 9 de Março, quando o resultado da análise chegou à clínica, foi recolhido sangue para análise nas duas outras cadelas: E2 e E3. Assim, realizou-se também uma pesquisa de anticorpos para IgM de Esgana em ambos os animais, cujo resultado foi igualmente positivo, com título alto.

Durante os cinco dias que o animal E1 esteve internado na clínica, o animal E2 começou a demonstrar alguma sintomatologia respiratória em casa, motivo pelo qual os tutores tiveram intenções de interná-lo. Contudo, visto tratar-se de uma doença altamente

contagiosa, os médicos veterinários aconselharam a manter o animal E2 em casa, de modo a não colocar outros animais em risco e evitar contaminar as instalações. Por estes mesmos motivos, foi também decidida a alta do animal E1.

Durante o período em que o animal E1 esteve internado, na primeira clínica, foi iniciada antibioterapia com Sulfametoxazol-trimetropina, contudo não demonstrou melhorias dos sinais clínicos. Foi então iniciada a administração de doxiciclina e KimiAdapt[®].

Entretanto efetuaram-se as radiografias torácicas ao animal E1, que continuou a piorar, e substituiu-se a doxiciclina por um conjunto de antibióticos de modo a alcançar um espectro mais alargado: cefalosporina, enrofloxacina e metronidazol. As cadelas coabitantes também iniciaram tratamento farmacológico tendo sido receitado doxiciclina, KimiAdapt[®] e Neurobion[®], uma associação, de cloridrato de tiamina (Vit. B1), cloridrato de piridoxina (Vit. B6) e cianocobalamina (Vit. B12).

No dia 11 de Março de 2017, os animais E1 e E2 deram entrada no Hospital Veterinário da Trofa, dado que ambos estavam a piorar o seu estado geral. O animal E1 entrou já bastante deprimido, com tremores musculares generalizados, hipertérmico (41 °C), desidratado (desidratação superior a 7%), com mucosas congestionadas, mas TRC normal, e frequências cardíaca e respiratória normais, 120 bpm e 56 rpm, respetivamente. O animal E2 apresentou-se menos deprimido, conseguia movimentar-se sozinho e não se visualizaram tremores musculares. Contudo, também entrou hipertérmico com 40,5°C, desidratado a 7%, mucosas congestionadas, TRC inferior a dois segundos e frequências cardíaca e respiratória normais: 136 bpm e 52 rpm, respetivamente.

Foi realizada uma colheita de sangue a ambos os animais para hemograma, bioquímica sérica e PCR para pesquisa de vírus da Esgana. Os resultados obtidos, no laboratório do HVT, estão descritos nas seguintes tabelas (tabelas 26 e 27):

Tabela 26: Resultados obtidos no hemograma do caso clínico E, realizado no dia 11/03/2017.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valores animal E1</u>	<u>Valores animal E2</u>	<u>Valor de Referência</u>
Leucócitos (x10⁹/L)	7,6	8,0	6,0 – 17,0
Linfócitos (x10⁹/L)	1,0	0,8	0,8 – 5,1
Monócitos (x10⁹/L)	0,3	0,2	0,0 – 1,8
Granulócitos (x10⁹/L)	6,3	7,0	4,0 – 12,6
Linfócitos (%)	13,3	9,8 ↓	12,0 – 30,0
Monócitos (%)	4,2	3,1	2,0 – 9,0
Granulócitos (%)	82,5	87,1 ↑	60,0 – 83,0

Eritrócitos (x10¹²/L)	6,37	6,76	5,50 – 8,50
Hemoglobina (g/dL)	15,2	16,8	11,0 – 19,0
Hematócrito (%)	48,5	52,1	39,0 – 56,0
VCM (fL)	76,2 ↑	77,2 ↑	62,0 – 72,0
HCM (pg)	23,8	24,8	20,0 – 25,0
CHCM (g/L)	31,3	32,2	30,0 – 38,0
RDW (%)	12,0	12,3	11,0 – 15,5
Plaquetas (x10⁹/L)	99 ↓	140	117 – 460
VPM (fL)	8,8	8,1	7,0 – 12,0

Tabela 27: Resultados da análise de bioquímica do caso clínico E, realizada no dia 11/03/2017.

Parâmetro	Valores animal E1	Valores animal E2	Valor de Referência
PT (g/dL)	5,1	5,2	5,0 – 7,2
Alb (g/dL)	2,7	2,6	2,6 – 4,0
ALT (U/L)	334 ↑	826 ↑	17 – 78
ALP (U/L)	365 ↑	225 ↑	13 – 83
BUN (mg/dL)	10,1	15,8	9,2 – 29,2
Crea (mg/dL)	0,4	0,7	0,4 – 1,4
TBil (mg/dL)	1,2 ↑	0,4	0,1 – 0,5
Na (mEq/L)	141	149	141 – 152
K (mEq/L)	3,6	3,6	3,8 – 5,0
Cl (mEq/L)	102	105	102 – 117

Após o exame físico e a realização das análises sanguíneas, ambos os animais foram internados, tendo sido colocados num local resguardado, afastado dos outros internados. Procedeu-se à colocação de ambos os animais sob fluidoterapia com soro fisiológico (NaCl 0,9% B. Braun®), suplementado com 2,5% de glicose e 20 mEq de potássio. Iniciou-se ainda o tratamento farmacológico com:

- ✓ Antibiótico – Ceftriaxona (Ceftriaxona Fresenius®): 25 mg/kg, IV, BID;
- ✓ Antibiótico – Enrofloxacina (Baytril®): 5 mg/kg, IV, SID;
- ✓ Antiemético – Metoclopramida (Metoclopramida Labesfal®): 0,5 mg/kg, IV, TID;
- ✓ Benzodiazepina – Diazepam (Diazepam Labesfal®): 0,5 mg/kg, IV, quando necessário;
- ✓ Infermun®: 2 mL (peso superior a 10kg), IV, q48h.

Dado que a hipertermia de ambas as cadelas se manteve, sendo mais grave no animal E1, começou-se a dar banhos frios e envolveram-se os recipientes dos soros fisiológicos com sacos de gelo, de modo a diminuir a temperatura corporal. Apesar dos esforços constantes neste sentido, a temperatura retal deste animal oscilou sempre entre os 39,9°C e os 40,8°C. Deste modo, adicionou-se Dipirona (Vetalgin[®]: 50 mg/kg, IV, BID), um fármaco com propriedades analgésicas e antipiréticas. A temperatura corporal do animal E2, apesar de mais alta que os valores de referência, esteve controlada e não se iniciou a administração de Dipirona.

No dia 13 de Março, terceiro dia de internamento no HVT, foi acrescentado ao plano farmacológico do animal E2 um antiemético – Ondansetrona (Ondansetron Labesfal[®]) – devido ao animal ter iniciado vômitos biliares incoercivos. Neste dia, ambas as pacientes iniciaram corrimentos oculares e nasais muco-purulentos, assim, iniciou-se a administração QID de três colírios: Clorocil[®] (antibiótico – cloranfenicol), Exocin[®] (antibiótico – ofloxacina) e Lubrithal[®] (gel lubrificante). Ainda no dia 13 de Março, foi realizada uma transfusão de plasma fresco congelado a ambos os animais.

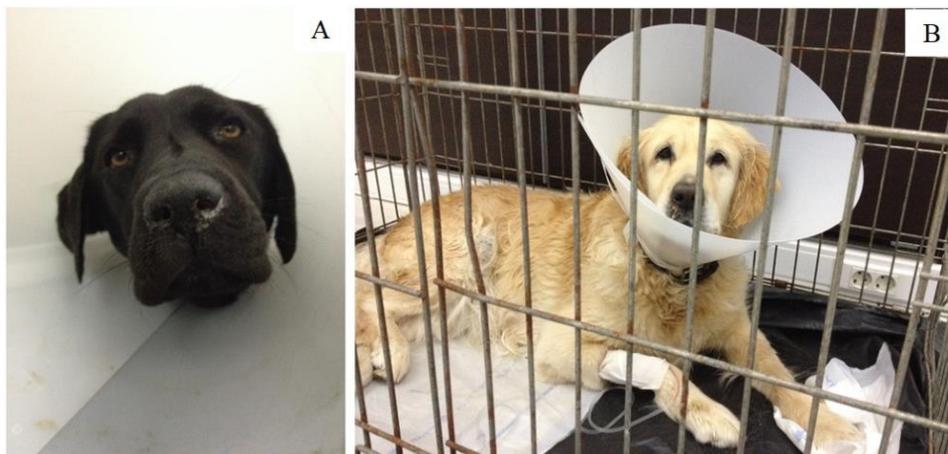


Figura 9: Imagens referentes ao caso clínico E, onde se observam os corrimentos nasais dos animais E1 (A) e E2 (B). Fotografias do dia 11 de Março de 2017.

Desde o início do internamento no HVT, ambos os animais não demonstraram sinais de apetite, tendo sido forçada alimentação com ração húmida Gastrointestinal da Royal Canin[®] desde que deram entrada. Assim, ponderou-se a colocação de uma sonda nasoesofágica, que foi colocada no dia 14 de Março em ambos os animais, e iniciou-se a alimentação com Convalescence Support da Royal Canin[®]. Como o animal E2 continuou a apresentar náusea, iniciou-se a administração subcutânea de Cerenia[®] 1mg/kg, SID, um antiemético cujo princípio activo é Citrato de Maropitant.



Figura 10: Imagens referentes ao caso clínico E. A- Imagem do animal E2 após colocação da sonda nasoesofágica. B- Imagem do animal E1 prostrado. Fotografias do dia 14 de Março de 2016.

Durante todo o internamento, o decúbito do animal E1 teve de ser alterado manualmente, de forma a evitar abrasões cutâneas ou outro tipo de lesões consequentes da impossibilidade de se mexer. Ambos os animais não defecaram enquanto estiveram internados e a urina apresentou-se sempre normal.

No dia 15 de Março, o resultado da análise da PCR, enviada no primeiro dia de internamento no HVT, chegou com resultado positivo para Esgana. Realizou-se uma colheita de sangue ao animal E1 para realização de hemograma de controlo e alguns parâmetros de bioquímica sérica. Os resultados obtidos estão descritos nas seguintes tabelas (tabela 28 e 29):

Tabela 28: Resultados obtidos no hemograma de controlo do caso clínico E, realizado no dia 15/03/17.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valores animal E1</u>	<u>Valor de Referência</u>
Leucócitos ($\times 10^9/L$)	10,5	6,0 – 17,0
Linfócitos ($\times 10^9/L$)	1,6	0,8 – 5,1
Monócitos ($\times 10^9/L$)	0,3	0,0 – 1,8
Granulócitos ($\times 10^9/L$)	8,6	4,0 – 12,6
Linfócitos (%)	14,9	12,0 – 30,0
Monócitos (%)	3,5	2,0 – 9,0
Granulócitos (%)	81,6	60,0 – 83,0
Eritrócitos ($\times 10^{12}/L$)	5,35	5,50 – 8,50
Hemoglobina (g/dL)	13,1	11,0 – 19,0
Hematócrito (%)	40,1	39,0 – 56,0
VCM (fL)	75,1 ↑	62,0 – 72,0

HCM (pg)	24,4	20,0 – 25,0
CHCM (g/L)	32,6	30,0 – 38,0
RDW (%)	13,0	11,0 – 15,5
Plaquetas (x10⁹/L)	101 ↓	117 – 460
VPM (fL)	9,2	7,0 – 12,0

Tabela 29: Resultados da análise bioquímica do caso clínico E, realizada no dia 15/03/2017.

<u>Parâmetro</u>	<u>Valor animal E1</u>	<u>Valor de Referência</u>
ALT (U/l)	278 ↑	17 – 78
Crea (mg/dL)	2,8	2,6 – 4,0
TBil (mg/dL)	1,3 ↑	0,1 – 0,5

Neste dia, as mioclonias apresentadas pelo animal E1, desde o dia 11 de Março, agravaram bastante, os corrimentos nasais e oculares também se mostraram mais intensos e o animal continuou não responsivo ao tratamento farmacológico. O hemograma de controlo não demonstrou melhorias significativas e os parâmetros de bioquímica sérica reavaliados demonstraram um agravamento do estado geral do animal. Assim, uma vez que o animal se apresentava em sofrimento, não responsivo a estímulos, decidiu-se a sua eutanásia.

Por outro lado, o animal E2 também piorou o seu estado geral. A frequência respiratória aumentou para uma média de 60 rpm, as mucosas tornaram-se cianóticas, a temperatura retal tornou a aumentar e o seu estado mental foi diminuindo até deixar de reagir a estímulos externos. O estado geral foi piorando até que o animal acabou por morrer no dia seguinte, por volta das 12h30.



Figura 11: Imagem referente ao caso clínico E. Mucosas cianóticas do animal E2, no dia 15 de Março de 2016.

6. DISCUSSÃO

6.1. Infecção por Coronavírus

A doença provocada pelo coronavírus canino generalizada ao nível sistémico não é observada com frequência, sendo mais comum estar restrita ao trato gastrointestinal (Tennant *et al.*, 1991). As infeções do trato entérico provocadas por este agente estão associadas a sinais clínicos típicos de gastroenterite, o que torna bastante difícil diferenciar a infeção de coronavírus de outras causas de enterite infecciosa (Evermann *et al.*, 2005; Duijvestijn *et al.*, 2016). Os sinais clínicos mais comumente observados são vômitos, diarreia (raramente sanguinolenta), letargia e anorexia (Decaro *et al.*, 2008b; Duijvestijn *et al.*, 2016). No caso clínico A, o animal compareceu à consulta, no HVT, com história de vômitos sucessivos. O animal do caso clínico B apresentou-se por motivos de diarreia e prostração. Os sinais apresentados estão em concordância com o que é referido pelos autores. Decaro e colaboradores (2008a) afirmam ainda que a hipertermia pode não estar presente em todos os casos, contudo, em ambos os animais foi observada temperatura retal aumentada, no exame físico realizado na primeira consulta.

Em ambos os animais foi realizado o teste para confirmação da etiologia viral da gastroenterite, uma vez que os sinais clínicos não permitem estabelecer. Adicionalmente foram realizados um hemograma e também a avaliação de alguns parâmetros da bioquímica sérica, de modo a poder corrigir as alterações que possam comprometer a recuperação dos animais. Os resultados obtidos no primeiro hemograma realizado no caso clínico A não demonstraram grandes alterações e os parâmetros bioquímicos avaliados também se encontravam dentro da normalidade, à exceção da ALT, que estava aumentada. Quanto aos resultados do primeiro hemograma do caso clínico B, estes apresentavam algumas alterações, nomeadamente: leucocitose, por aumento dos linfócitos, anemia com hemoglobina baixa e hematócrito diminuído. As alterações encontradas nas análises de bioquímica sérica foram albuminas e proteínas totais baixas. As análises sanguíneas posteriores, realizadas ao animal do caso clínico A mostraram-se sempre dentro dos valores normais, à exceção de um ou outro valor, sem grande interesse clínico, uma vez que o animal esteve sempre alerta e com apetite. Quanto ao caso clínico B, o hemograma de controlo, realizado dois dias após o primeiro, mostrou melhorias indicativas do início da recuperação do animal.

Os animais infetados têm, frequentemente, uma recuperação rápida. Contudo, quando estão presentes infeções concomitantes, sejam víricas ou parasitárias, o prognóstico pode

tornar-se reservado (Decaro *et al.*, 2008b; Cavalli *et al.*, 2014). MacLachlan e colaboradores (2011) acrescentam também que os animais jovens estão associados a maior letalidade e que esta doença é caracterizada por uma elevada morbidade e baixa mortalidade. Como despiste de diagnósticos diferenciais, realizou-se um teste coprológico de Willis, que permitiu excluir a hipótese de infestação parasitária grave para ambos os casos A e B. Realizou-se também o despiste de agentes infecciosos que poderiam originar sinais clínicos semelhantes aos apresentados. Assim, foi realizado um teste rápido para despiste de parvovirose e coronavirose, o qual teve resultado positivo para o segundo agente, nos dois casos. Deste modo, sem outras infeções concomitantes aparentes graves, o prognóstico dos animais pôde ser considerado bom. Ambos os animais apresentados eram bastante jovens, tendo o animal do caso clínico A quatro meses e o animal do caso clínico B dois meses, aproximadamente. De facto, o animal do caso clínico B teve sinais mais evidentes de infeção e alterações mais marcadas nos resultados das análises sanguíneas realizadas, contudo observou-se a recuperação total em ambos os animais.

MacLachlan e colaboradores (2011) referem que não existe um tratamento específico para a infeção por coronavírus. É referido pelos autores que deve ser imposto um tratamento farmacológico que inclua antibióticos de largo espectro, de modo a combater as infeções bacterianas secundárias. A fluidoterapia também é uma parte fundamental do tratamento, uma vez que a sua função é restabelecer os desequilíbrios hídricos e eletrolíticos. Nos casos apresentados iniciou-se a fluidoterapia no momento em que os animais ingressaram no internamento. O tratamento de antibioterapia imposto foi com Ampicilina e Metronidazol para o caso clínico A, e para o caso clínico B, além destes dois fármacos usou-se ainda a Enrofloxacin. Dado que os animais apresentaram sinais clínicos inespecíficos como vómito, foi iniciada a administração de um antiemético com o objetivo de cessar os vómitos, o Ondasetrona, e um protetor gástrico, o Omeprazol, de modo a evitar consequências nefastas na mucosa gástrica devido aos vómitos. Foi ainda adicionado ao plano farmacológico do caso clínico A o Florentero[®] um suplemento alimentar à base de pré e probióticos, com o objetivo de ajudar a restabelecer rapidamente a microbiota intestinal.

O animal do caso clínico A reingressou no HVT quatro dias após ter tido alta médica, com nova história de vómitos. Isto foi justificado pelo Médico Veterinário como tendo sido devido a uma reação adversa a um medicamento. Contudo, o facto de ter ocorrido após quatro dias de medicação pode também sugerir que o animal tenha tido uma recaída. No segundo internamento, acrescentaram-se mais antibióticos ao plano farmacológico, nomeadamente

Amoxiciclina Ácido Clavulânico e Enrofloxacina, reintroduziram-se os antieméticos, Ondansetrona e Metoclopramida, e o protetor gástrico, Omeprazol.

Apesar do reingresso no HVT, do animal do caso clínico A, ambos os animais apresentaram uma recuperação rápida. Tal como é referido na bibliografia, o prognóstico da doença é geralmente bom e os animais recuperam rapidamente, ficando naturalmente imunizados (Decaro *et al.*, 2008b; Cavalli *et al.*, 2014)

Ambos os animais deram início ao programa vacinal na consulta de controlo marcada após a sua alta médica. Os programas de vacinação sugeridos pela WSAVA (2016) não prevêm a administração de vacinas contra a infeção por coronavírus dada a sua eficácia duvidosa e as reações adversas a que estão associadas. Assim, a imunidade contra a infeção por coronavírus está dependente da imunidade materna transmitida ao cachorro, que poderá garantir uma proteção de cerca de 4 a 5 semanas (Flores, 2007; Day, 2017). A WSAVA (2016) defende que, uma vez que as infeções por este agente são maioritariamente subclínicas ou associadas a sinais clínicos leves, não é justificado o uso de vacinas contra coronavirose no cão adulto.

6.2. Infeção por Parvovírus

A forma entérica de infeção por parvovírus é encontrada com maior frequência em cachorros com idades compreendidas entre o mês e meio e os seis meses (MacLachlan *et al.*, 2011; Duijvestijn *et al.*, 2016). Os casos clínicos apresentados são relativos a dois animais muito jovens, com idades inferiores a três meses.

O tropismo do vírus para as células epiteliais da base das vilosidades impede que os alimentos ingeridos sejam devidamente digeridos e absorvidos. Por outro lado, as lesões causadas pela destruição dessas células, impedem a restituição da barreira epitelial, tendo como consequência exposição das camadas epiteliais inferiores, inclusivamente de vasos sanguíneos. Isto levará ao aparecimento dos sinais clínicos mais frequentemente observados na infeção por parvovírus: diarreia hemorrágica e síndrome da má absorção intestinal (Decaro *et al.*, 2012; Folitse *et al.*, 2017; Poonam *et al.*, 2017). A forma entérica é caracterizada pelo seu surgimento brusco com sinais de prostração, anorexia, vômitos incoercivos e frequentes, sialorreia e picos de hipertermia. A diarreia surge 24 a 48 horas após o início dos sinais clínicos, apresentando-se frequentemente hemorrágica. Durante o exame físico os animais

podem evidenciar dor abdominal intensa e desidratação, devido ao quadro de enterite aguda (Prittie, 2004; Folitse *et al.*, 2017). Ambos os animais dos casos clínicos C e D apresentaram bastante dor e desconforto à palpação abdominal, quando ingressaram no HVT, indo de acordo com o referido pela bibliografia. Nesta primeira consulta também foi comum, nos dois animais, a desidratação, o estado de alerta reduzido, a história de vômitos e de diarreia. Apesar de o animal C ter apresentado fezes gradualmente mais líquidas durante o tempo que esteve internado, ao terceiro dia já foi possível observar sangue vivo nas fezes. O animal D, por seu lado, ingressou no HVT já com história de fezes com sangue. Uma vez que o animal D apresentou sinais de choque quando chegou ao HVT, a sua temperatura retal encontrava-se abaixo dos valores normais, em vez de hipertérmico. Apesar de descrito na bibliografia, nenhum dos animais apresentou sialorreia.

Os sinais clínicos têm início, na maioria dos casos, entre o quarto e sétimo dia após a infecção (Flores, 2007; Poonam *et al.*, 2017). Ambos os animais C e D demonstraram, inicialmente, sinais clínicos mais leves, que foram rapidamente agravando. O animal C estava com o tutor apenas há dois dias quando tiveram início os sinais clínicos, enquanto o animal D estava já há uma semana. Segundo a informação recolhida em ambos os casos, os dois animais começaram por se mostrar mais prostrados alguns dias antes da consulta, altura em que iniciaram vômitos e fezes diarreicas. Tendo em conta a informação referida anteriormente, o momento em que tiveram início os sinais clínicos e que ambos os animais tinham acesso controlado ao exterior (jardim), é provável que a infecção tenha ocorrido antes de serem recebidos nas novas famílias.

Decaro e colaboradores (2012) referem que a leucopenia é uma alteração frequente nos animais infetados por parvovírus. McCaw e colaboradores (2006) acrescentam ainda que as alterações que ocorrem nas linhas leucocitárias apenas são perceptíveis a partir do terceiro ou quinto dia após a infecção. Tanto no caso clínico C, como no D, foram realizadas análises sanguíneas no primeiro dia de internamento. Apesar do que é referido pelos dois autores, o animal C apresentou leucocitose no dia da primeira consulta. Contudo, nas análises realizadas três dias depois, já se observou uma leucopenia marcada, com diminuição de todos os valores referentes à linha branca. O aumento inicial da linha leucocitária pode ter sido devido ao facto de a primeira análise realizada ter sido prematura, e o vírus encontrar-se na fase inicial de infecção, com localização em linfonodos. A lifopenia aguda observada nos dias seguintes coincide com o expectável numa infecção por parvovírus, tendo em conta a sua patogenia. No caso clínico D, a análise sanguínea, realizada no dia de entrada, demonstrou uma leucopenia

marcada. Neste caso, visto que a sintomatologia do animal teve início mais cedo e com maior gravidade, é provável que quando o animal se apresentou à consulta já estivesse numa fase de infecção mais avançada que o animal C.

Segundo Kalli e colaboradores (2010), a anemia, a hipoproteinemia (com diminuição particular das albuminas), hipocalemia, hipoglicemia, azotemia pré-renal e aumento dos valores de ureia e creatinina são sinais clínicos frequentes na infecção por parvovírus. No caso clínico C, os valores do primeiro hemograma realizado indicaram uma anemia ligeira. Uma vez que, nesta fase o animal ainda não apresentava diarreia sanguinolenta, é provável que a diminuição dos eritrócitos não seja real, mas deva-se ao grau de desidratação apresentado pelo animal. Por outro lado, nesta primeira análise sanguínea, os resultados apontavam para uma hiperglicemia, valores aumentados de ALT e valores normais de proteínas totais, albumina e BUN, o que contraria o autor referido anteriormente. Quanto ao caso clínico D, apesar do seu estado crítico inicial, o animal não apresentou valores correspondentes a anemia ou a trombocitopenia. O valor da glicose também estava normal, assim como o da albumina sérica. Dada a contenção de custos exigida pelos tutores, não foi possível realizar uma pesquisa de parâmetros de bioquímica sérica muito extensa. Mazzaferro e colaboradores (2002) defendem que a monitorização das albuminas, nos animais infetados por parvovírus, é importante, uma vez que estas intervêm na manutenção da pressão oncótica, estão relacionadas com a função plaquetária e com a coagulabilidade, com o transporte de várias moléculas e com eliminação de radicais livres. Apesar disto, Vieira (2011) afirma que os valores obtidos através da bioquímica sérica são muito variáveis e não têm grande valor no diagnóstico. Assim, ainda que tenha havido algumas alterações aos valores normais nos resultados das bioquímicas séricas, estas não têm grande valor no diagnóstico etiológico.

A leucocitose e a hiperplasia medular são frequentes em animais em convalescência e demonstram que o animal se encontra numa fase de recuperação da doença (Vieira, 2011). No hemograma de controlo do caso clínico C, realizado oito dias após o ingresso do animal no HVT, observa-se um aumento da linha leucocitária demonstrativo da sua convalescência. A hiperplasia medular teria de ser pesquisada através da visualização ao microscópio de um esfregaço de sangue, o que não foi realizado. No caso clínico D, não foi possível observar a recuperação leucocitária devido à contenção de custos exigida.

Tanto no caso clínico C, como no D, o médico veterinário recomendou a realização do teste rápido para diagnóstico de parvovirose e coronavirose. No caso clínico C, tal foi imediatamente aceite pela tutora e o resultado revelou-se positivo para infecção por parvovírus.

Discussão

No caso clínico D, apesar da contenção de custos, o teste foi realizado e o resultado foi igualmente positivo para infecção por parvovírus.

Tal como proposto por Caddy e colaboradores (2010), o tratamento deve ser iniciado o quanto antes. Deste modo, ambos os animais iniciaram a fluidoterapia, com o objetivo de repor os níveis de hidratação e, no caso clínico D, adicionou-se glicose e potássio dado o estado de prostração do animal. O tratamento farmacológico serve para prevenir as infecções oportunistas, sendo, por isso, utilizados antibióticos de largo espectro e/ou associações de antibióticos (Caddy *et al.*, 2010; Poonam *et al.*, 2017). Assim, em ambos os animais foi iniciado tratamento com Ampicilina, Metronidazol e Enrofloxacina. No final do internamento, ambos os animais continuaram medicação em casa, tendo sido prolongada a toma de Metronidazol e adicionado a Amoxiciclina e Ácido Clavulânico. Todos estes fármacos são sugeridos por Caddy e colaboradores (2010), o que demonstra que a sua escolha foi feita em concordância com a bibliografia. Estes autores referem ainda o uso frequente de antieméticos para cessação dos vômitos, sugerindo o uso de Ondasetrona e Metoclopramida, e de protetores gástricos, como o Omeprazol. Estes fármacos foram utilizados em ambos os casos clínicos C e D. Além destes fármacos, o manejo da dor também é um fator importante para a recuperação dos animais (Caddy *et al.*, 2010), assim procedeu-se a administração de metadona no animal do caso clínico C.

Como referido por Caddy e colaboradores (2010), o plasma é um colóide natural, que pode ser utilizado para o fornecimento de proteínas séricas e reposição da hipovolemia. No terceiro dia de internamento, o animal do caso clínico C apresentou um valor de hematócrito diminuído (36,4%). Tendo em conta o hematócrito, o valor da albumina sérica que se apresentava diminuído e que se trata de um animal bastante jovem, desidratado com o seu estado geral a piorar rapidamente, realizou-se uma transfusão de plasma.

Mohr e colaboradores (2003) defendem que o suporte nutricional é fundamental para a recuperação dos animais doentes e que o fornecimento precoce de alimento está associado a um melhor prognóstico. Apesar do que é defendido por estes autores, os animais dos casos C e D não tiveram um fornecimento de alimento precoce. Durante o internamento, ambos os animais foram apresentando gradualmente cada vez menos apetite, por isso foram colocadas sondas nasoesofágicas. No caso clínico C a sonda foi colocada apenas no quinto dia de internamento, enquanto que no caso clínico D foi colocado no quarto dia. Ambos os animais foram alimentados com um alimento de alta energia e digestibilidade, através da sonda.

A primovacinação dos cachorros deve iniciar-se às 6 semanas de idade, com repetição às 9, 12 e 16 semanas (Schultz *et al.*, 2010; Umar *et al.*, 2015). Apesar da idade dos animais C e D, nenhum deles tinha iniciado ainda o protocolo vacinal. Deste modo, eram mais sensíveis no caso de infecção por este agente.

Os animais que tenham sido infectados por parvovírus apresentam imunidade duradoura para toda a vida (Schultz *et al.*, 2010; Day, 2017). Apesar disto, ambos os animais iniciaram protocolos vacinais (inclusive para parvovirose) quando estavam totalmente recuperados da infecção.

6.3. Infecção pelo vírus da Esgana

Martella e colaboradores (2008) afirmam que há evidências que os animais mais jovens, com idade compreendida entre os 3 e os 6 meses são mais sensíveis do que animais mais velhos, às infecções pelo vírus da esgana. Estes autores defendem ainda que há um aumento da frequência da infecção na estação fria. No caso clínico apresentado sobre infecção pelo vírus da esgana, a infecção ocorreu em fevereiro, um mês em que as temperaturas são mais baixas. Contudo, ambos os animais têm idade superior à referida pelos autores, como sendo a mais sensíveis. A doença deveu-se ao facto de ambos os animais, apesar de adultos, não terem sido corretamente imunizados. Um dos animais (E1) não tinha qualquer registo sobre ter sido alguma vez vacinado e o outro (E2) não era vacinado há três anos devido a problemas recorrentes de gastrite. Assim, estes animais estavam particularmente sujeitos à infecção, uma vez que a imunidade materna termina por volta dos 3 a 6 meses de idade. Apesar de, as diretivas da WSAVA (2016) defenderem que a imunidade conferida pelas vacinas vivas modificadas ou pelas vacinas recombinantes pode alcançar períodos longos de nove e cinco anos, respetivamente, tal não foi observado no animal E2. Isto porque o animal tinha registo de ter sido vacinado três anos antes (com 5 anos de idade) e, ainda assim, apresentou sinais de doença, tendo acabado por morrer.

A apresentação clínica da esgana pode ser bastante variável, tanto na duração, como na gravidade dos sinais clínicos apresentados. O período de incubação pode variar de 1 a 4 semanas e o primeiro sinal clínico é, frequentemente, a hipertermia resultante da viremia primária, que passa muitas vezes despercebida (Beineke *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2017). Seguidamente, iniciam-se outros sinais mais comuns como a perda de apetite, diminuição do

Discussão

estado de alerta, amigdalite e descargas nasais e oculares serosas a muco-purulentas, tosse, estertores pulmonares, dispneia, pneumonia, diarreia, vômitos e pústulas na derme (Martella *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2017). Após o animal E1 ter sido encontrado no canil e ter regressado a casa, os tutores afirmaram que iniciou sinais de tosse, por vezes seguida de náusea, o que coincide com o que é anteriormente referido pelos autores. Apesar de o animal ter estado num canil aproximadamente 24 horas e de apresentar estes sinais, só passado meio mês é que os tutores levaram o animal a uma clínica veterinária. Durante este período, a infeção evoluiu e os sinais agravaram como seria expectável. Na clínica veterinária, o animal E1 foi imediatamente internado e realizaram-se alguns exames complementares, entre eles: um hemograma, uma pesquisa de anticorpos de esgana pela técnica de ELISA e um Raio-X. O hemograma revelou algumas alterações, mas não muito importantes, entre as quais um ligeiro aumento dos eritrócitos, com aumento da hemoglobina e do hematócrito. De entre os parâmetros de bioquímica avaliados, apenas a ALT se mostrou aumentada. Quanto ao Raio-X, realizaram-se duas projeções, uma ventrodorsal e outra laterolateral em decúbito direito, que apresentaram um padrão pulmonar intersticial e alveolar, com maior intensidade nos lobos craniais. Isto demonstra uma afeção do sistema respiratório. O resultado da análise de ELISA foi positivo com elevado título de IgM. MacLachlan e colaboradores (2011) afirmam que quando é possível realizar a necropsia de animais infetados por este agente, os pulmões encontram-se tipicamente edematosos. À análise microscópica, são visíveis sinais de pneumonia broncointersticial com necrose do revestimento do epitélio das vias aéreas e espessamento das paredes alveolares, também podem ser encontrados sinais de broncopneumonia bacteriana, devido a infeções secundárias. O padrão encontrado no Raio-X realizado ao animal E1 pode ser devido ao espessamento das paredes alveolares ou a infeções secundárias, como sugerem os autores.

Quando os médicos veterinários souberam o diagnóstico definitivo de infeção por esgana, solicitaram que se fizessem análises às outras duas cadelas. Porém apenas se fez ao animal E2, cujo resultado foi igualmente positivo. Tal como afirma Martella e colaboradores (2008), o vírus da esgana é altamente contagioso. Posto isto, os médicos veterinários deram alta condicionada ao animal E1, cinco dias após ter estado internado, de forma a evitar o contágio de outros animais internados na clínica e de evitar contaminar as instalações.

No dia 11 de Março, oito dias após terem tido alta condicionada, os animais E1 e E2 vieram à consulta no HVT. O animal E1 apresentou um estado geral pior que o animal E2. Entrou bastante deprimido, com mioclonias generalizadas, hipertérmico, desidratado e com

mucosas congestionadas. O animal E2 apesar de mais responsivo aos estímulos externos e de conseguir caminhar por si, também foi admitido hipertérmico, desidratado e com mucosas congestionadas. A maioria destes sinais clínicos é descrita por Martella e colaboradores (2008), como foi referido anteriormente. Estes autores afirmam ainda que quando a resposta imunitária do animal infetado é fraca, a infeção pode propagar-se, acabando por atingir o SNC. Nestes casos, podem ser observados sinais neurológicos como andar em círculo, *head tilt*, nistagmus, paresia dos membros posteriores que pode evoluir para paralisia completa, convulsões e demência. A contração nervosa involuntária ou contração de músculos e convulsões precedidas de movimentos de mastigação da boca são considerados sinais típicos de infeção por CDV. Quando o animal E1 deu entrada no HVT, apresentava já sinais clínicos de ordem neurológica: contração involuntária dos músculos, início de convulsões e mioclonias. O animal E2 apresentou os mesmos sinais, mais tarde.

No dia em que os animais se apresentaram ao HVT, foi recolhido sangue para análise, em ambos os animais. Os resultados dos hemogramas não demonstraram alterações muito significativas, apenas uma trombocitopenia no animal E1, e uma diminuição da percentagem de linfócitos, aumento da percentagem de granulócitos para o animal E2. Os resultados das bioquímicas séricas apresentaram-se mais alterados com ALT e ALP aumentadas para os dois animais e aumento da TBil no animal E1.

Como visto anteriormente, não existe uma terapia específica para o tratamento da infeção pelo vírus da esgana. Deste modo o manejo da doença é feito através de tratamento sintomático e antibioterapia, como forma de combate a infeções bacterianas oportunistas (Martella *et al.*, 2008; Greene *et al.*, 2006). Quando o animal E1 foi internado inicialmente, na primeira clínica, a antibioterapia administrada foi: Sulfametoxazol-trimetropina e Doxiciclina, os quais foram substituídos por Enrofloxacina e Metronidazol, num tempo inferior a cinco dias. Os animais E2 e E3 também iniciaram a toma de Doxiciclina devido a apresentarem sinais respiratórios. Entretanto, quando o animal E1 chegou ao HVT a Enrofloxacina foi mantida e adicionou-se Ceftriaxona, de modo a aumentar o espectro de ação. Administrou-se também a Metoclopramida e o Ondansetrona, e mais tarde o citrato de maropitant monohidratado (Cerenia[®]) como antieméticos, a Dipirona como antipirético e analgésico e o Diazepam, quando necessário, sempre que os animais apresentavam mioclonias fortes ou convulsões.

Discussão

As descargas nasais descritas por Martella e colaboradores (2008) surgiram primeiro no animal E1 e mais tarde no animal E2. Assim, iniciou-se a colocação de colírios: Cloranfenicol (antibiótico), Ofloxacina (antibiótico) e gel lubrificante.

Com o avançar dos dias e da infecção, apesar de todos os esforços, o estado geral dos animais estava a piorar rapidamente, pelo que se decidiu realizar uma transfusão de plasma a ambos os animais. A colocação de uma sonda nasoesofágica também foi efetuada, uma vez que os animais não apresentavam apetite.

A esgana apresenta uma letalidade aproximada de 50% para os cães domésticos (Ek-Kommonen *et al.*, 2003). Quando existem sinais clínicos neurológicos o prognóstico torna-se bastante reservado. Mais de metade dos animais com apresentação da forma neurológica morre entre duas semanas a três meses após a infecção (Martella *et al.*, 2008). Nos casos clínicos apresentados, ambos os animais tiveram um desenvolvimento mais ou menos rápido dos sinais clínicos, apresentando, numa fase final, sinais neurológicos. O desenvolvimento da doença agravou o estado geral dos animais. O animal E1 acabou por ser eutanasiado, doze dias após ter sido resgatado do canil, uma vez que os sinais que apresentava na fase final não eram compatíveis com uma qualidade de vida razoável. O animal E2 acabou por morrer um dia mais tarde.

A terceira cadela coabitante (E3) sobreviveu, sem sintomatologia aparente, apenas demonstrou sinais respiratórios ligeiros no período inicial. Isto, provavelmente, dever-se-á ao facto de este ser o único animal com o protocolo vacinal devidamente atualizado e, devido a esse facto, ter conseguido produzir uma resposta imunitária forte o suficiente para sobreviver à infecção.

7. CONCLUSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

A duração da imunidade é consequente da interação complexa entre três fatores: resposta imunitária do hospedeiro, tipo de vacina utilizada e o ato de imunização. Assim, a imunidade conferida pelas vacinas é traduzida pela existência de células de memória e de anticorpos circulantes. A prática da revacinação anual foi implementada tendo por base informação escassa e limitada (Almendra *et al.*, 2005). Já em 1988, Olson e colaboradores obtiveram resultados que contrariaram a necessidade de uma vacinação tão frequente, uma vez que os animais em estudo apresentaram títulos protetores circulantes por períodos de tempo mais alargados que um ano (Olson *et al.*, 1988). Atualmente, os protocolos vacinais estipulados a nível mundial propõem reforços trianuais de algumas vacinas (Day, 2017).

Os casos clínicos de doenças infecciosas apresentados nesta dissertação foram tratados e abordados do ponto de vista clínico pelos médicos veterinários, em consonância com o descrito na bibliografia, tendo apresentado uma resposta ao tratamento e um prognóstico expeável a cada uma das situações. A partir da análise dos casos clínicos e do acompanhamento de outros casos não descritos nesta dissertação ficou perceptível que as contingências sócio-económicas podem ser um factor crítico visto que pode limitar o diagnóstico laboratorial e exames complementares, a duração ou mesmo o tipo de tratamento clínico, como a escolha dos fármacos. Nesta perspetiva, a anamnese, o exame físico e avaliação do quadro clínico e lesional tornam-se, em muitos casos, o único suporte para o médico veterinário, o que pode conduzir ao subdiagnóstico de doenças infecciosas ou a um diagnóstico erróneo. Por outro lado, as mesmas contingências económicas podem fazer que os animais apenas ingressem na clínica numa fase final, em que a doença viral já se encontre perfeitamente estabelecida e a reversão clínica não seja possível.

Os temas abordados nesta dissertação não representaram um risco para a saúde pública, uma vez que nenhum dos agentes é zoonótico. Contudo, pelo seu carácter contagioso, é fundamental que as medidas de controlo da infeção sejam sempre tidas em consideração quando se faz uma abordagem clínica no âmbito das doenças infecciosas.

8. BIBLIOGRAFIA

Alan J. Cann, *Principles of Molecular Virology* (5 Ed.), 2012, Academic Press ISBN 978-0-12-384939-7

Almendra, C., Pinto, O., Carmichael, L., Tavares, L. (2005). Determinação dos níveis de imunidade humoral induzidos pela vacinação contra a Esgana e a Parvovirose Caninas. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias* 100, 75-84.

Amude, A.M., Alfieri, A.A., Alfieri, A.F. (2006). Antemortem diagnosis of CDV infection by RT-PCR in distemper dogs with neurological deficits without the typical clinical presentation, *Veterinary Research Communications*, 30 (6), 679-687.

Appel M.J. (1987). Canine coronavirus. In: Appel M.J. (Ed.), *Virus Infections of Carnivores*, Elsevier Science Publishers, The Netherlands, 115-122.

Beck, A.M., Meyers, N.M. (1996). Health enhancement and companion animal ownership. *Annual Review of Public Health* 17, 247-257.

Beineke, A., Puff, C., Seehusen, F., Baumgärtner, W. (2009). Pathogenesis and immunopathology of systemic and nervous canine distemper. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 127, 1-18.

Bogdanchikova, N., Vázquez-Muñoz, R., Huerta-Saquero, A., Pena-Jasso, A., Aguilar-Uzcanga, G., Picos-Díaz, P.L., Pestryakov, A., Burmistrov, V., Martynyuk, O., Luna-Vázquez-Gómez, R., Almanza, H. (2016). Silver nanoparticles composition for treatment of distemper in dogs. *International Journal Nanotechnology*, 13, Nos. 1/2/3, 227-237.

Buonavoglia, C., Martella, V., Pratelli, A., Tempesta, M., Cavalli, A., Buonavoglia, D., Bozzo, G., Elia, G., Decaro, N., Carmichael, L. (2001). Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. *Journal of General Virology* 82, 3021-3025.

Buonavoglia, C., Decaro, N., Martella, V., Elia, G., Campolo, M., Desario, C., Castagnaro, M., Tempesta, M. (2006). Canine Coronavirus highly pathogenic for dogs. *Emerging Infectious Diseases* 12 (3).

Caddy, S., Bexfield, N. (2010). Treatment of Canine Parvovirus, *UK Vet* 15 (8), 39-43.

Cavalli, A., Desario, C., Kusi, I., Mari, V., Lorusso, E., Cirone, F., Kumbe, I., Colaianni, M.L., Buonavoglia, D., Decaro, N. (2014). Detection and genetic characterization of Canine parvovirus and Canine coronavirus strains circulating in district of Tirana in Albania. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 26 (4), 563-566.

Bibliografia

- Cleaveland, S., Appel, M.G.J., Chalmers, W.S.K., Chillingworth, C., Kaare, M., Dye, C. (2000). Serological and demographic evidence for domestic dogs as a source of canine distemper virus infection for Serengeti Wildlife. *Veterinary Microbiology* 72, 217-227.
- Dal Pozzo, F., Galligioni, V., Vaccari, F., Gallina, L., Battilani, M., Scagliarini, A. (2010). Antiviral efficacy of EICAR against canine distemper virus (CDV) in vitro. *Research in Veterinary Science* 88, 339-344.
- Day, M., Horzineck, M., Schultz, D. (2007). Guidelines for vaccination of dogs and cats. Compiled by the vaccination guidelines group (VGG) of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA). *Journal of Small Animal Practice* 48, E1-E50.
- Day, M.J. (2017). Small animal vaccination: a practical guide for vets in the UK. *In Practice – Companion Animals* 39, 110-118.
- Decaro, N., Pratelli, A., Campolo, M., Elia, G., Martella, V., Tempesta, M., Buonavoglia, C. (2004a). Quantitation of canine coronavirus RNA in the faeces of dogs by TaqMan RT-PCR. *Journal of Virological Methods* 119, 145-150.
- Decaro N., Camero M., Greco G. (2004b). Canine distemper and related diseases: report of a severe outbreak in a kennel. *New Microbiology* 27, 177-181.
- Decaro, N., Desario, C., Campolo, M., Elia, G., Martella, V., Ricci, D., Lorusso, E., Buonavoglia, C. (2005). Clinical and virological findings in pups naturally infected by canine parvovirus type 2 Glu-426 mutant. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 17, 133-138.
- Decaro, N., Martella, V., Desario, C., Bellacicco, A., Camero, M., Manna, L., D'Aloja, D., Buonavoglia, C. (2006). First detection of canine parvovirus type 2c in pups with haemorrhagic enteritis in Spain. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 53, 468-472.
- Decaro, N., Buonavoglia, C. (2008a). An update on canine coronaviruses: Viral evolution and pathobiology. *Veterinary Microbiology* 132, 221-234.
- Decaro, N., Campolo, M., Lorusso, A., Desario, C., Mari, V., Colaianni, M.L., Elia, G., Martella, V., Buonavoglia, C. (2008b). Experimental infection of dogs with a novel strain of canine coronavirus causing systemic disease and lymphopenia. *Veterinary Microbiology* 128, 253-260.
- Decaro, N., Desario, C., Elia, G., Martella, V., Mari, V., Lavazza, A., Nardi, M., Buonavoglia, C. (2008c). Evidence for immunisation failure in vaccinated adult dogs infected with canine parvovirus type 2c. *New Microbiologica* 31, 125-130.

- Decaro, N., Buonavoglia, C. (2012). Canine parvovirus – A review of epidemiological and diagnostic aspects with emphasis on type 2c. *Veterinary Microbiology* 155, 1-12.
- Decaro, N., Cordonnier, N., Demeter, Z., Egberink, H., Elia, G., Grellet, A., Poder, S.L., Mari, V., Martella, V., Ntafis, V., Reitzenstein, M.V., Rottier, P.J., Rusvai, M., Shields, S., Xylouri, E., Xu, Z., Buonavoglia, C. (2013). European Surveillance for Pantropic Canine Coronavirus. *Journal of Clinical Microbiology* 51 (1), 83-88.
- Desario, C., Decaro, N., Campolo, M., Cavalli, A., Cirone, F., Elia, G., Martella, V., Lorusso, E., Camero, M., Buonavoglia, C. (2005). Canine parvovirus infection: Which diagnostic test for virus?. *Journal of Virological Methods* 126, 179-185.
- Duijvestijn, M., Mughini-Gras, L., Schuurman, N., Schijf, W., Wagenaar, J.A., Egberink, H. (2016). Enteropathogen infections in canine puppies: (Co-)occurrence, clinical relevance and risk factors. *Veterinary Microbiology* 195, 115-122.
- Ek-Kommonen, C., Rudback, E., Anttila, M., Aho, M., Huovilainen, A. (2003). Canine distemper of vaccine origin in European mink. *Mustela lutreola*—a case report. *Veterinary Microbiology* 92, 289-293.
- Elia, G., Cavalli, A., Desario, C., Lorusso, E., Lucente, M.S., Decaro, N., Martella, V., Buonavoglia, C. (2007). Detection of infectious canine parvovirus type 2 by mRNA real-time RT-PCR. *Journal of Virology Methods* 146, 202-208.
- Elia, G., Belloli, C., Cirone, F., Lucente, M.S., Caruso, M., Martella, V., Decaro, N., Buonavoglia, C., Ormas, P. (2008). In vitro efficacy of ribavirin against canine distemper virus. *Antiviral Research* 77, 108-113
- Enjuanes L., Brian D., Cavanagh D., Holmes K., Lai M.M.C., Laude H., Masters P., Rottier P., Siddell S., Spaan W.J.M., Taguchi F., Talbot P. (2000) Coronaviridae. In: van Regenmortel M.H.V., Fauquet C.M., Bishop D.H.L., Carstens E.B., Estes M.K., Lemon S.M., Maniloff J., Mayo M.A., McGeoch D.J., Pringle C.R., Wickner R.B. (Eds.). *Virus Taxonomy, Classification and Nomenclature of Viruses*. Academic Press, New York, 835– 849.
- Erles, K., Toomey, C., Brooks, H.W., Brownlie, J. (2003). Detection of a group 2 coronavirus in dogs with canine infectious respiratory disease. *Virology* 310, 216-223.
- Evermann, J.F., Abbott, J.R., Han, S. (2005). Canine coronavirus-associated puppy mortality without evidence of concurrent canine parvovirus infection. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 17, 610-614.
- Flores, E.F. (2007). *Virologia Veterinária*, Editora da USFM, Santa Maria, RS. 888p.

Bibliografia

- Folitse, R.D., Kodie, D.O., Amemor, E., Dei, D., Tasiame, W., Burimuah, V., Emikpe, B.O. (2017). Detection of canine parvovirus antigen in dogs in Kumasi, Ghana. *The Journal of Infectious Diseases* 12 (1), 28-32.
- Gebara, C.M.S., Wosiacki, S.R., Negrão, F.J., Alfieri, A.A., Alfieri, A.F. (2004a). Lesões histológicas no sistema nervoso central de cães com encefalite e diagnóstico molecular da infecção pelo vírus da cinomose canina. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 56 (2), 168-174.
- Gebara, C.M.S., Wosiacki, S.R., Negrão, F.J., Oliveira, D.B de, Beloni, S.N.E., Alfieri, A.A., Alfieri, A.F (2004b). Detecção do gene da nucleoproteína do vírus da cinomose canina por RT-PCR em urina de cães com sinais clínicos de cinomose. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia* 56 (4), 480-487.
- Geng, Y., Wang, J., Liu, L., Lu, Y., Tan, K., Chang, Y.Z. (2017). Development of real-time recombinase polymerase amplification assay for rapid and sensitive detection of canine parvovirus 2. *BMC Veterinary Research* 13, 311.
- Greene, C., Schultz, R. (2006). Immunoprophylaxis. In: Greene, CE (ed.) *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Saunders, 3ª Ed, Missouri, USA. Cap 100.
- Goggs, R., HUMM, K., Hughes, D. (2008). Fluid therapy in small animal practice 3. Colloid solutions. *Practice* 30, 136-142.
- Humm, K., Hughes, D. (2009). Canine Parvovirus Infection. In: Silverstein D, Hopper K (eds). *Small Animal Critical Care*, Saunders Missouri, USA. Cap 112, 482-485.
- Jeoung, S.Y., Ann, S.Y., Kim, H.T., Kim, D. (2014). M gene analysis of canine coronavirus strains detected in Korea. *Journal of Veterinary Science* 15 (4), 495-502.
- Jin, Y., Zhang, X., Ma, Y., Qiao, Y., Liu, X., Zhao, K., Zhang, C., Lin, D., Fu, X., Xu, X., Wang, Y., Wang, H. (2017). Canine distemper viral infection threatens the giant panda population in China. *Oncotarget* 69 (8), 113910-113919.
- Poonam, R.K., Minakshi, H.M., Pundir, C.S. (2017). Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis and Treatment of Canine Parvovirus Disease in Dogs: A Mini Review. *Journal of Veterinary Science & Medical Diagnosis* 6:3.
- Kalli, I., Leontides, L., Mylonakis, M., Adamama-Moraitou, Rallis, T., Koutinas, A. (2010). Factors affecting the occurrence, duration of hospitalization and final outcome in canine parvovirus infection, *Research in Veterinary Science* 89, 174-178.

- Kapil, S., Yearly, T.J. (2011). Canine Distemper spillover in domestic dogs from urban wildlife. *Veterinary Clinics Small Animal* 41, 1069-1086.
- Koutinas, A.F., Baumgartner, W., Tontis, D., Polizopoulou, Z., Saridomichelakis, M.N., Lekkas, S. (2004). Histopathology and Immunohistochemistry of Canine Distemper Virus-induced Footpad Hyperkeratosis (Hard Pad Disease) in Dogs with Natural Canine Distemper, *Veterinary Pathology* 41, 2-9.
- Lacheretz, A., Laperrousaz, C., Kodjo, A., Brajon, N., Crevat, D., Guillosoy, S. (2003). Diagnosis of canine parvovirus by rapid immunomigration on a membrane. *The Veterinary Record* 152, 48-50.
- Lai M.M.C., Holmes K.V. (2001). Coronaviridae: the viruses and their replication. In: Knipe D.M., Howley P.M., Griffin D.E., Lamb R.A., Martin M.A., Roizman B., Strais S.E. (Eds.), *Fields Virology*, Vol. 1, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 1163-1185.
- Lappin, M.R. (2014). Infectious Diseases. In: Nelson, R.W., Couto, C.G. *Small Animal Internal Medicine*. 5th ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 1341-1355.
- Larson, L., Schultz, R. (2008). Do two current canine parvovirus type 2 and type 2b vaccines provide protection against the new type 2c variant?. *Veterinary Therapeutics* 9, 94-101.
- Latha, D., Geetha, M., Ramadass, P., Narayanan, R.B. (2007a). Evaluation of ELISA based on the conserved and functional middle region of nucleocapsid protein to detect distemper infection in dogs. *Veterinary Microbiology* 120, 251-260.
- Latha, D., Geetha, M., Ramadass, P., Narayanan, R.B. (2007b). Development of recombinant nucleocapsid protein based IgM-ELISA for the early detection of distemper infection in dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 119, 278-286.
- Latha, D., Srinivasan, S.R., Thirunavukkarasu, P.S., Gunaselan, L., Ramadass, P., Narayanan, R.B., (2007c). Assessment of canine distemper virus infection in vaccinated and unvaccinated dogs. *Indian Journal of Biotechnology* 6, 35-40.
- Liu P.C., Chen, C.A., Chen, C.M., Yen, C.H., Lee, M.H., Chuang, C.K., Tu, C.F., Su, B.L. (2016). Application of xenogeneic anti-canine distemper virus antibodies in treatment of canine distemper puppies. *Journal of Small Animal Practice* 57 (11), 626-630.
- MacLachlan, N.J., Dubovi, E.J. (2011). *Fenner's Veterinary Virology* (4 Ed.) Academic Press.
- Mahon, J.L., Rozanski, E.A., Paul, A.L. (2017). Prevalence of serum antibody titers against canine distemper virus and canine parvovirus in dogs hospitalized in an intensive care unit. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 250 (12), 1413-1418.

Bibliografia

- Martella, V., Cavalli, A., Decaro, N., Elia, G., Desario, C., Campolo, M., Bozzo, G.G., Tarsitano, E., Buonavoglia, C. (2005). Immunogenicity of na intranasally administered modified live canine parvovirus type 2b in pups with maternally derived antibodies. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 12 (10), 1243-1245.
- Martella, V., Elia, G., Buonavoglia, C. (2008). Canine Distemper Virus, *Veterinary Clinics Small Animal* 38, 787-797.
- Martin, V., Najbar, W., Gueguen, S., Grousseau, D., Eun, H., Lebreux, B., Aubert, A. (2002). Treatment of canine parvoviral enteritis with interferon-omega in a placebo-controlled challenge trial. *Veterinary Microbiology* 89, 115-127.
- Mazzaferro, E.M., Rudloff, E., Kirby, R. (2002). The role of albumin replacement in the critically ill veterinary patient. *Journal of Veterinary Emerging Critical Care* 12 (2), 113–124.
- McCaw, D., Hoskins J. (2006). Canine Viral Enteritis. In: Greene, C. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*, WB Saunders (3 Ed), Philadelphia, USA.
- Mitchell, J.A., Brooks, H.W., Szladovits, B., Erles, K., Gibbons, R., Shields, S., Brownlie, J. (2013). Tropism and pathological findings associated with canine respiratory coronavirus (CRCoV). *Veterinary Microbiology* 23, 162 (2-4).
- Miranda, C., Parrish, C.R., Thompson, G. (2016). Epidemiological evolution of canine parvovirus in the Portuguese domestic dog population. *Veterinary Microbiology* 183, 37-42.
- Mohr, A.J., Leisewitz, A.L., Jacobson, L.S., Steiner, J.M., Ruaux, C.G., Williams, D.A. (2003). Effect of early enteral nutrition on intestinal permeability, intestinal protein loss, and outcome in dogs with severe parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 17 (6), 791-798.
- Mubanga, M., Byberg, L., Nowak, C., Egenvall, A., Magnusson, P.K., Ingelsson, E., Fall, T. (2017). Dog ownership and the risk of cardiovascular disease and death – a nationwide cohort study. *Scientific Reports*, 1-9.
- Olson, P.; Klingeborn, B.; Hedhammar, A. (1988). Serum antibody response to canine parvovirus, canine adenovirus-1, and canine distemper virus in dogs with known status of immunization: study of dogs in Sweden. *American Journal of Veterinary Research*, 49 (9), 1460-6.
- Otto, C., Jackson, C., Rogell, E., Prior, R., Ammons, W. (2001). Recombinant bactericidal/permeability-increasing protein (rBPI21) for treatment of parvovirus enteritis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 15, 355-360.

- Pomeroy, L.W., Bjørnstand, O.N., Holmes, E.C. (2008). The evolutionary and epidemiological dynamics of the paramyxoviridae. *Journal Molecular Evolution* 66, 98-106.
- Pratelli, A., Tempesta, M., Greco, G., Martella, V., Buonavoglia, C. (1999). Development of a nested PCR assay for the detection of canine coronavirus. *Journal of Virological Methods* 80, 11-15.
- Pratelli, A., Buonavoglia, D., Martella, V., Tempesta, M., Lavazza, A., Buonavoglia, C. (2000). Diagnosis of canine coronavirus infection using nested-PCR. *Journal of Virological Methods* 84, 91-94.
- Pratelli, A., Tinelli, A., Decaro, N., Camero, M., Elia, G., Gentile, A., Buonavoglia, C. (2002). PCR assay for the detection and the identification of atypical canine coronavirus in dogs. *Journal of Virological Methods* 106, 209–213
- Pratelli, A., Tinelli, A., Decaro, N., Cirone, F., Elia, G., Roperto, S., Tempesta, M., Buonavoglia, C. (2003). Efficacy of an inactivated canine coronavirus vaccine in pups. *New Microbiology* 26, 151-155.
- Pratelli, A., Decaro, N., Tinelli, A., Martella, V., Elia, G., Tempesta, M., Cirone, F., Buonavoglia, C. (2004a). Two genotypes of canine coronavirus simultaneously detected in the faecal samples of dogs with diarrhea. *Journal of Clinical Microbiology* 42, 1797-1799.
- Pratelli, A., Tinelli, A., Decaro, N., Martella, V., Camero, M., Tempesta, M., Martini, M., Carmichael, L.E., Buonavoglia, C. (2004b). Safety and efficacy of a modified-live canine coronavirus vaccine in dogs. *Veterinary Microbiology* 99, 43-49.
- Pratelli, A. (2006). Genetic evolution of canine coronavirus and recent advances in prophylaxis. *Veterinary Research, BioMed Central*, 37 (2), 191-200.
- Pratelli, A. (2008). Canine coronavirus inactivation with physical and chemical agents. *The Veterinary Journal* 177, 71-79.
- Prittie, J. (2004). Canine Parvoviral enteritis: a review of diagnosis, management, and prevention. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care* 14 (3), 167-176.
- Robertson, I.D., Thompson, R.C. (2002). Enteric parasitic zoonoses of domesticated dogs and cats. *Microbes and Infection* 4, 867-873.
- Robinson, W., Huxtable, C., Pass, D., Howell, J. (1979). Clinical and electrocardiographic findings, in suspected viral myocarditis of pups. *Australian Veterinary Journal* 55 (8), 351-355.
- Saito, T.B., Alfieri, A.A., Wosiacki, S.R., Negrão, F.J., Morais, H.S.A., Alfieri, A.F. (2006). Detection of canine distemper virus by reverse transcriptase-polymerase chain reaction in the urine of dogs with clinical signs of distemper encephalitis. *Research in Veterinary Science* 80, 116-119.

Bibliografia

- Scagliarini, A., Vaccari, F., Gallina, L., Dal Pozzo, F., Prosperi, S. (2006). In Vitro Evaluation of Antiviral Activity of Ribavirin Against Canine Distemper Virus. *Veterinary Research Communications* 30 (1), 269–272.
- Schultz, R. (2006). Duration of immunity for canine and feline vaccines: a review. *Veterinary Microbiology* 117, 75-79.
- Schultz, R., Thiel, B., Mukhtar, E., Sharp, P., Larson, L. (2010). Age and long-term protective immunity in dogs and cats. *Journal of Comparative Pathology* 142, 102-108.
- Sequeira, S.G., Banyard, A.C., Barrett, T., Buczkowski, H., Funk, S.M., Cleaveland, S. (2009). Epidemiology, pathology, and genetic analysis of a canine distemper epidemic in Namibia. *Journal of Wildlife Diseases* 45 (4), 1008-1020.
- Silva, M.C., Figuera, R.A., Juliana S., Brum, G., Dominguita, L., Kommers, G.D., Irigoyen, L.F., Barros, C.S.L. (2007). Aspectos clinicopatológicos de 620 casos neurológicos de cinomose em cães: Clinicopathological features in 620 neurological cases of canine distemper. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 27 (5), 215-220.
- Steinel, A., Parrish, C.R., Bloom, M.E., Truyen, U. (2001). Parvovirus Infections in Wild Carnivores. *Journal of Wildlife Diseases* 37 (3), 594-607.
- Tams, T.R. (2005). *Gastroenterologia de pequenos animais*, Editora ROCA, 199-200.
- Tattersall, P., Bergoin, M., Bloom, M.E., Brown, K.E., Linden, R.M., Muzyczka, N., Parrish, C.R., Tijssen, P. (2005). Family Parvoviridae. In: Fauquet, C.M., Mayo, M.A., Maniloff, J., Desselberger, U., Ball, L.A. (Eds.), *Virus Taxonomy: VIIIth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier Academic Press.
- Tennant, B.J., Gaskell, R.M., Kelly, D.F., Carter, S.D., Gaskell, C.J. (1991). Canine coronavirus infection in the dog following oronasal inoculation. *Research in Veterinary Science* 51, 11-18.
- Touihri, L., Bouzid, I., Daound, R., Desario, C., Goulli, A., Decaro, N., Ghorbel, A., Buonavoglia, C., Bahloul, C. (2009). Molecular characterization of canine parvovirus-2 variants circulating in Tunisia. *Virus Genes* 38, 249-258.
- Trow, A.V., Rozanski, E.A., Delaforcade, A.M., Chan, D.L. (2008). Evaluation of use of human albumin in critically ill dogs: 73 cases (2003-2006). *Journal of American Veterinary Medical Association* 233 (4), 607-12.

- Truyen, U., Agbandje, M., Parrish, C.R. (1994). Characterization of the feline host range and a specific epitope of feline parvovirus. *Virology* 200, 494-503.
- Truyen, U., Platzer, G., Parrish, C.R. (1996). Antigenic type distribution among canine parvoviruses in dogs and cats in Germany. *The Veterinary Record* 138, 365-366.
- Umar, S., Ali, A., Younus, M., Maan, M.K., Ali, S., Khan, A., Irfan, M. (2015). Prevalence of Canine Parvovirus Infection at Different Pet Clinics in Lahore, Pakistan. *Pakistan Journal of Zoology* 47(3), 657-663.
- Vandeveldt, M., Zurbriggen, A. (2005). Demyelination in canine distemper virus infection: a review. *Acta Neuropathologica* 109, 56-68.
- Viana, M., Cleaveland, S., Matthiopoulos, J., Halliday, J., Packer, C., Craft, M.E., Hampson, K., Czupryna, A., Dobson, A.P., Dubovi, E.J., Ernest, E., Fyumagwa, R., Hoare, R., Hopcraft, J.G.C., Horton, D.L., Kaare, M.T., Kanellos, T., Lankester, F., Mentzel, C., Mlengeya, T., Mzimhiri, I., Takahashi, E., Willett, B., Haydon, D.T., Lembo, T. (2015). Dynamics of a morbillivirus at the domestic-wildlife interface: Canine distemper virus in domestic dogs and lions. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112 (5), 1464-1469.
- Vieira, M.J. (2011). Parvovirose Canina. Tese de Doutorado, 250 pág., ICBAS.
- Vieira, M., Silva, E., Oliveira, O., Vieira, A., Decaro, N., Desario, C., Muller, A., Carvalheira, J., Buonavoglia, C., Thompson, G. (2008). Canine parvovirus 2c infection in central Portugal. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 20, 488-491.
- Wang, X., Feng, N., Ge, J., Shuai, L., Peng, L., Gao, Y., Yang, S., Xia, X., Bu, Z. (2012). Recombinant canine distemper virus serves as bivalent live vaccine against rabies and canine distemper. *Vaccine* 30, 5067-5072.
- Wang, F., Zhang, S., Zhu, H., Yang, Y., Sun, N., Tan, B., Li, Z., Cheng, S., Fu, Z.F., Wen, Y. (2014). Recombinant rabies virus expressing the H protein of canine distemper virus protects dogs from the lethal distemper challenge. *Veterinary Microbiology* 174, 362-371.
- Wang, J., Wang, J., Li, R., Liu, L., Yuan, W. (2017). Rapid and sensitive detection of canine distemper virus by real-time reverse transcription recombinase polymerase amplification. *BMC Veterinary Research* 13, 241.
- Warren, A.L. (2014). Veterinary Clinical Laboratory Immunology. In *Basic Veterinary Immunology* ed. Callahan, G.N. & Yates, R.W., University Press of Colorado, Colorado, USA, ISBN: 978-1-60732-218-4, 298-317.

Bibliografia

WSAVA (2016). Guidelines for the vaccination of dogs and cat. *Journal of Small Animal Practice* 57, E1-E45.

Zhang, H., Shan, F., Zhou, X., Li, B., Zhai, JQ., Zou, SZ., Wu, MF., Chen, W., Zhai, SL., Luo, ML. (2017). Outbreak and genotyping of canine distemper virus in captive Siberian tigers and red pandas. *Scientific Reports* 7, 8132.

Zicola, A., Jolly, S., Mathijs, E., Ziant, D., Decaro, N., Mary, V., Thiry, E. (2012). Fatal outbreaks in dogs associated with pantropic canine coronavirus in France and Belgium. *Journal of Small Animal Practice* 53, 297-300.

www.mindray.com/en/product/BC-2800Vet.html, consultado a 8 de Novembro de 2017.

www.fujifilm.eu/pt/produtos/sistemas-medicos/clinical-chemistry-system/fuji-dri-chem-4000i, consultado a 8 de Novembro de 2017.

<https://uranovet.com/en/uranotest/parvo-corona/>, consultado a 8 de Novembro de 2017.

<https://uranovet.com/wp/wp-content/uploads/2015/09/Prospecte-Parvo-corona-ANG-1.pdf>, consultado a 8 de Novembro de 2017

http://bsanimal.com/?lang=pt&page=galeria_bsa, consultado a 9 de Novembro de 2017.