

Avaliação laboratorial da cinomose canina – estudo retrospectivo de 25 casos no município de Araçatuba, SP

Laboratorial evaluation of canine distemper - retrospective study of 25 cases in Araçatuba county SP

Tatiana de Sousa Barbosa^{1*}, Rafael Felipe da Costa Vieira², Milena Araújo Viol³, Carolina Soares Soeiro³, Suely Regina Mogami Bomfim⁴, Paulo César Ciarlini⁴

Recebido em 23/04/2010; aprovado em 17/06/2011.

RESUMO

A cinomose é uma enfermidade contagiosa, grave e multissistêmica, causada por um vírus do gênero *Morbillivirus*, de disseminação mundial com alta taxa de letalidade e que afeta principalmente os cães. O seu diagnóstico é baseado nos sinais clínicos associados a achados hematológicos. A observação do Corpúsculo de Lentz (CL) em eritrócitos ou leucócitos confere o diagnóstico definitivo para esta enfermidade. Objetivou-se testar a hipótese de que o quadro hematológico de cães com cinomose difere de acordo com o tipo de célula sanguínea que apresenta o CL. Para tal foi avaliado o perfil hematológico de 25 cães positivos para a doença atendidos no Hospital Veterinário “Luis Quintiliano de Oliveira” da Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus de Araçatuba. O diagnóstico da doença foi realizado após a visualização do CL em esfregaços sanguíneos. Do total de casos, 64% apresentaram anemia, 16% leucopenia e 12% leucocitose. A linfopenia ocorreu em 76% dos cães. As inclusões virais foram observadas em neutrófilos (32%), linfócitos (28%) e eritrócitos (12%). Observação concomitante ocorreu em linfócitos e eritrócitos (4%), em linfócitos e neutrófilos (12%), em neutrófilos e monócitos

(4%) e em neutrófilos e eritrócitos (4%). Em um único caso o CL foi observado simultaneamente em neutrófilos, monócitos e linfócitos. O quadro hematológico não está associado à presença da inclusão viral em um determinado tipo celular.

PALAVRAS CHAVE: alterações hematológicas, cães, *Morbillivirus*, cinomose.

SUMMARY

Canine Distemper is a contagious, severe and multisystemic disease caused by a virus from *Morbillivirus* genus. The virus is distributed worldwide and it presents a high lethality rate, affecting mainly dogs. The diagnosis is based on clinical signs associated with hematological findings. The observation of Lentz bodies in erythrocytes and leukocytes is the definitive diagnosis for the disease. The aim of this work was to test the hypothesis that the hematological profile in dogs positive for canine distemper differs according to blood cell type presenting Lentz bodies. For this purpose, 25 dogs positive for the disease were evaluated at the Veterinary Hospital “Luís Quintiliano de Oliveira” UNESP, Araçatuba city. The diagnosis was based on the observation of Lentz bodies in blood smears. From

¹ Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (FMVZ/UNESP). Distrito de Rubião Júnior, s/n, CEP 18618-000, Botucatu, SP, Brasil. Email: tatianasbarbosa@gmail.com. *Autora para correspondência.

² Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal – Universidade Estadual Paulista (UEL), Londrina, PR, Brasil.

³ Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. UNESP – Campus Araçatuba, Araçatuba, SP, Brasil.

⁴ Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal, UNESP – Campus Araçatuba, Araçatuba, SP, Brasil.

the total, 64% of dogs presented anemia, 16% leucopenia and 12% leukocytosis. Lymphopenia occurred in 76% of dogs. Viral inclusions were observed solely in neutrophils (32%), lymphocytes (28%) and erythrocytes (12%). Concomitant observation occurred in lymphocytes and erythrocytes (4%), in lymphocytes and neutrophils (12%), in neutrophils and monocytes (4%) and in neutrophils and erythrocytes (4%). In an isolated case Lentz bodies were observed simultaneously in neutrophils, monocytes and lymphocytes. In conclusion, hematological profile is not associated with the presence of viral inclusion in a particular cell type.

KEY WORDS: hematological findings, dogs, *Morbillivirus*, canine distemper.

INTRODUÇÃO

A cinomose que acomete os cães domésticos (*Canis familiaris*) é uma enfermidade causada pelo vírus da cinomose canina (VCC) pertencente à família Paramyxoviridae, gênero *Morbillivirus*, que tem distribuição mundial e caráter contagioso, multissistêmico e grave (VAN REGENMORTEL et al., 2000; HOSKINS, 2004). Os cães são os principais animais acometidos pela doença, porém espécies de outras famílias de carnívoros como *Felidae*, *Hyaenidae*, *Mustelidae*, *Procyonidae*, *Ursidae*, *Ailuridae* e *Viverridae* também são susceptíveis ao VCC (BARRETT, 1999; DEEM et al., 2000; HOSKINS, 2004).

A doença é mais frequente entre três a seis meses de idade nos cães, quando cessa a imunidade passiva transmitida pela mãe e não há correta imunização, de modo que imunossupressão possa ser induzida, porém este mecanismo ainda permanece desconhecido (DUNGWORTH, 1993; KRAKOWKA et al., 1998; GREENE e APPEL, 2006). Geralmente a infecção ocorre por via aerógena, e o vírus inicia sua replicação nos tecidos linfóides do trato respiratório superior (APPEL, 1987; DUNGWORTH, 1993; GREENE e APPEL, 2006), e ao infectar macrófagos e linfócitos se dissemina para os órgãos linfóides como baço, timo, linfonodos e

medula óssea, onde infectam linfócitos maduros promovendo a apoptose e, conseqüentemente, a imunossupressão (APPEL, 1969). O VCC induz alterações nestes órgãos e nos tecido linfóides que incluem atrofia do timo, depleção das células T e B e inclusão de corpúsculos nas células linfóides e reticulares (KRAKOWKA e KOESTNER, 1977; IWATSUKI et al., 1995; KRAKOWKA et al., 1998; WÜNSCHMANN et al., 2000). Aproximadamente seis dias pós-infecção, ocorre infecção sistêmica generalizada com piroxia e linfopenia (DUNGWORTH, 1993; GREENE e APPEL, 2006).

A manifestação clínica da infecção depende do título e da estirpe viral infectante associado à resposta imune do hospedeiro (APPEL e SUMMERS, 1999). Considerando o potencial infeccioso da doença, o conhecimento sobre possíveis apresentações clínicas pode servir como ferramenta auxiliar no diagnóstico da doença (AMUDE, 2005). Porém, o diagnóstico clínico da infecção pelo VCC é de difícil realização, pois nenhum sinal é patognomônico e geralmente é fundamentado na ocorrência de sinais sistêmicos como vômito, diarreia ou sinais gastrointestinais e/ou respiratório e, além do mais, grande parte dos animais susceptíveis desenvolvem a infecção subclínica atuando como fontes de infecção ao eliminarem o vírus no ambiente (SHELL, 1990; APPEL e SUMMERS, 1999). O diagnóstico clínico pode ser confirmado pela identificação da inclusão viral do Corpúsculo de Lentz (CL) em células associadas à exsudato, em células epiteliais e em células sanguíneas, porém sua ausência não exclui a infecção pelo VCC (MOTOHASHI et al., 1969; JONES et al., 2000; GREENE e APPEL, 2006). A constatação de antígenos virais pela técnica de imunofluorescência direta, proveniente de fluidos corpóreos é rotineiramente utilizada, porém é desfavorável nas formas subaguda e crônica da doença quando pode ocorrer resultados falsos-negativo (JÓZWIK e FRYMUS, 2005). Os resultados das técnicas de sorologia apresentam limitações devido aos animais que vão a óbito pela doença poderem apresentar ou não títulos de anticorpos mensuráveis (FRISK et al., 1999). Atualmente a técnica da reação em cadeia pela

polimerase precedida de transcrição reversa (RT-PCR) é amplamente empregada na detecção do VCC em diversos tipos de amostras de animais com sintomatologia compatível com a doença (GEBARA et al., 2004; AMUDE et al., 2006a).

A visibilização da inclusão viral do CL representa o efeito citopático do vírus sobre a célula e quando observado em eritrócitos ou leucócitos confere o diagnóstico definitivo para esta enfermidade, porém constitui uma alteração pouco frequente. Nos casos negativos o diagnóstico torna-se inconclusivo, impossibilitando a exclusão do VCC como causa primária dos sinais clínicos (MOTOHASHI et al., 1969; JONES et al., 2000). A alteração laboratorial dos cães portadores do vírus normalmente consiste de uma leucopenia quatro a seis dias após a infecção. A linfopenia, monocitose e neutrofilia ocorrerão quando o quadro já estiver instalado, e geralmente a leucocitose é devida à infecção bacteriana secundária (GREENE, 1984; JAIN, 1993).

Estudos realizados avaliando o quadro hematológico dos cães com cinomose verificaram que nem sempre está alterado e quando presentes não são específicas da doença (MARCONDES, 1992; TUDURY et al., 1997; GEBARA et al., 2004; AMUDE, 2005; AMUDE, 2006a; AMUDE, 2006b; AMUDE et al., 2007), contudo em nenhuma destas análises verificou se há correlação entre a alteração hematológica com o tipo de célula portadora do CL. Desta maneira, objetivou-se avaliar as alterações hematológicas de cães naturalmente infectados no município de Araçatuba, SP, partindo da hipótese de que o quadro hematológico de cães com cinomose está relacionado com o tipo de célula sanguínea que apresenta o corpúsculo da inclusão do VCC.

MATERIAL E MÉTODOS

Em um estudo retrospectivo, avaliou-se o hemograma de 25 cães de diferentes raças, com idade entre 40 dias a seis anos, sendo 14 fêmeas e 11 machos encaminhados ao Hospital Veterinário “Luis Quintiliano de Oliveira” da Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus de

Araçatuba, São Paulo, naturalmente infectados por VCC. Destes 25 animais estudados, todos apresentaram uma associação de sinais clínicos compatíveis com a doença; hiporexia em 40% dos casos, diarreia (32%), êmese (28%), mioclonias (20%), além de secreção ocular ou nasal, convulsões, apatia, mucosas pálidas, quadro respiratório e ocular e incoordenação motora. Sendo que 19 deles (76%) tinham idade inferior a um ano. Foram incluídos no estudo apenas cães que obtiveram o diagnóstico da doença realizado após a visibilização do CL durante contagem diferencial de leucócitos em hemogramas de rotina.

Os valores hematológicos (hematócrito, contagem de hemácias, hemoglobina e leucócitos totais) foram obtidos a partir de sangue coletado com EDTA-sódico (1,8 mg mL⁻¹ de sangue) e analisados em contador hematológico veterinário automatizado¹ previamente calibrado, conforme recomendação do fabricante. A contagem diferencial dos leucócitos foi realizada pelo método manual de avaliação microscópica de esfregaços sanguíneos corados com corante hematológico rápido comercial². O hemograma foi interpretado de acordo com os valores de referência descritos por Meinkoth e Clinkenbeard (2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As inclusões virais foram observadas em linfócitos, neutrófilos, eritrócitos e monócitos, sendo que isoladamente, 32% em neutrófilos, 28% em linfócitos e 12% em eritrócitos. Quando presente em linfócitos, o CL foi observado concomitantemente em neutrófilos (12%) ou em eritrócitos (4%). O CL em neutrófilo também foi observado concomitante em monócito (4%) e eritrócito (4%). Em um único caso o CL foi observado concomitante em neutrófilo, monócito e linfócito.

Do total de casos, as alterações

1 Contador de Sangue Automatizado ABC Vet® Horiba, ABX Diagnostics, Montpellier, França

2 Panótico Rápido, LABORCLIN, Paraná, Brasil

hematológicas mais frequentes foram linfopenia em 76% dos cães ($0 - 1170 \times 10^3 \mu\text{L}$), anemia em 64% dos casos, 16% leucopenia ($2,7-5,3 \times 10^3 \mu\text{L}$) e 12% leucocitose ($19,5-33,4 \times 10^3 \mu\text{L}$). Em 72% dos casos os valores leucocitários estavam dentro faixa de normalidade. Na Tabela 1 consta a porcentagem de cada alteração hematológica em relação ao tipo de célula sanguínea em que foi identificado o CL.

(MARCONDES, 1992; TUDURY et al., 1997; GEBARA et al., 2004; AMUDE, 2005; AMUDE et al., 2006ab; AMUDE, 2007). No entanto, não parece haver fundamentação biológica com a infecção pelo VCC, uma vez que o vírus não tem tropismo por eritrócitos ou por seus precursores nucleados intramedulares (GREENE e APPEL, 2006). Pode-se levar em consideração que os animais são provenientes de uma população

Tabela 1 – Porcentagem das alterações hematológicas em relação ao tipo de célula sanguínea em que foi identificado o Corpúsculo de Lentz.

	Linfócitos n=7	Neutrófilos n=8	Eritrócitos n=3	Linfócitos Neutrófilos n=3	Neutrófilos Monócitos n=1	Monócitos Linfócitos Neutrófilos n=1	Linfócitos Eritrócitos n=1	Neutrófilos Eritrócitos n=1
Anemia	85,71%	50%	33,3%	66,66%	100%		100%	
Leucocitose	28,57%					100%		100%
Leucopenia		12,5%	66,6%				100%	100%
Linfocitose	28,57%							
Linfopenia	57,14%	87,5%	66,6%	66,66%		100%	100%	
Monocitose	28,57%			33,33				
Neutrofilia	57,14%	25%				100%		
Leucócitos Normais	71,42%	87,5%	33,3%	100%	100%			

Segundo Appel e Carmichael (1979), Farrow e Love (1983) e Greene (1984), ocorrerá linfopenia, monocitose e discreta neutrofilia uma vez que a doença esteja instalada, porém dentre nossos achados apenas a presença de linfopenia se fez significativamente presente. Sabe-se que o VCC possui tropismo por células linfóides, e pode ocasionar linfopenia transitória e em seguida o número de linfócitos retorna a valores normais (MORO et al., 2003). Após a infecção dos linfócitos maduros, o vírus promove apoptose e consequente imunossupressão (APPEL, 1969). Semelhantemente aos achados de Marcondes (1992), Tudury et al. (1997), Gebara et al. (2004) e Amude et al. (2007) em que, respectivamente, 81,8% (18/22), 51,9% (40/77), 55,6 % (5/9), e 37,5% (3/8) dos animais portadores da cinomose apresentaram linfopenia e que foi a alteração hematológica mais frequente.

Posteriormente a anemia foi um achado laboratorial compatível com vários estudos

hospitalar e se encontram em condições clínicas desfavoráveis (AMUDE et al., 2006b)

Quanto ao número total de leucócitos verificou-se que 72% dos cães com cinomose apresentaram valores dentro da faixa de normalidade, enquanto Marcondes (1992) constatou normalidade em 40,9% dos animais e Amude et al. (2006a) verificou em 33,3% dos cães. Em relação aos 16% dos cães que apresentaram leucopenia foi verificada semelhança com a encontrada por Tudury et al. (1997), em que 11 dos 77 cães (14,2%) apresentaram esta alteração, enquanto Marcondes (1992) encontrou em apenas 9%. A leucocitose verificada em 12% dos animais do presente estudo apresentou-se em menor proporção que os estudos de Marcondes (1992) e Tudury et al. (1997) com 40,9% e 33,7%, respectivamente. Já a leucocitose foi descrita por Gebara et al. (2004) como a alteração hematológica mais frequente. A leucocitose existente no presente estudo pode

estar associada à infecção bacteriana secundária (JAIN, 1993), coincidindo com outros estudos (GREENE, 1984; AXTHELM e KRAKOWKA, 1987; RUDE, 1987; SHELL, 1990; JAIN, 1993).

Desta maneira as alterações verificadas ratificam que a realização do diagnóstico diferencial apenas pelos achados hematológicos não são suficientes para a determinação do diagnóstico da cinomose canina.

CONCLUSÕES

Conclui-se que o diagnóstico da cinomose canina a partir dos achados hematológicos é inconclusivo e o quadro hematológico não guarda relação com o tipo celular que apresenta a inclusão viral.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMUDE, A.M. **Avaliação neurológica e laboratorial de casos de encefalomielite pelo vírus da cinomose canina na ausência de sinais sistêmicos e mioclonia**. 2005. 113p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Centro de Ciências Agrárias – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2005.
- AMUDE, A.M. et al. Antemortem diagnosis of CDV infection by RT-PCR in distemper dogs with neurological deficits without the typical clinical presentation. **Veterinary Research Communications**, Amsterdam, v.30, p.679–687, 2006a.
- AMUDE, A.M. et al. Clinicopathological findings in dogs with distemper encephalomyelitis presented without characteristic signs of the disease. **Research in Veterinary Science**, London, v.82, p.416 – 422, 2007.
- AMUDE, A.M. et al. Encefalomielite pelo vírus da cinomose canina em cães sem sinais sistêmicos da doença: estudos preliminares em três casos. **Clínica Veterinária**, São Paulo, v.60, p.60–66, 2006b.
- APPEL, M.J.G. Pathogenesis of canine distemper. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.30, n.7, p.1167-1182, 1969.
- APPEL, M.J.G.; CARMICHAEL, L.E. Systemic viral diseases. In: CATCOTT, E.J. **Canine Medicine**. 4.ed. Santa Barbara: American Veterinary Publications, 1979. p.17-48.
- APPEL, M.J.G. Canine distemper virus. In:_____. **Virus Infections of Carnivores**. Netherlands: Elsevier Science Publishers, 1987. p.133–159.
- APPEL, M.J.G.; SUMMERS, B.A. **Canine distemper: current status** [on line], 1999. Disponível em: www.ivis.org. Acesso em: 08 fev. 2010.
- AXTHELM, M.K.; KRAKOWKA, S. Canine distemper virus - induced thrombocytopenia. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v. 48, p. 1269-75, 1987.
- BARRETT, T. *Morbillivirus* infections, with special emphasis on morbilliviruses of carnivores. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v.69, p.3–13. 1999.
- DEEM, S.L. et al. Canine distemper in terrestrial carnivores: a review. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v.31, p. 441– 451, 2000.
- DUNGWORTH, D.L. The respiratory system. In: JUBB, K.V.F.; KENNEDY, P.C.; PALMER, N. **Pathology of domestic animals**. 4.ed. San Diego: Academic Press, 1993. p. 539–598.
- FARROW, B.R.H.; LOVE, D.N. Bacterial, viral and other infectious problems. In: ETTINGER, S.J. **Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and cat**. 2.ed. Philadelphia: Saunders, 1983. cap. 27. p.269-319.
- FRISK, A.L. et al. Detection of canine distemper virus nucleoprotein RNA by reverse transcription-PCR using serum, whole blood, and cerebrospinal fluid from dogs with distemper. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.37, p.3634-3643, 1999.
- GEBARA, C.M.S. et al. 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**, Belo Horizonte v.56, p.480 - 487, 2004.
- GREENE, C.E. Canine distemper. In:_____. **Clinical microbiology and infectious disease of the dog and cat**. Philadelphia: Saunders, 1984, cap. 21, p.392-393.

- GREENE, C.E.; APPEL, M.J.G. Canine distemper. In:____. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3 ed. Philadelphia: Saunders, 2006.p.25–41.
- HOSKINS, J.D. Cinomose canina. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Tratado de medicina interna veterinária: doenças do cão e gato**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. cap.69, v.1, p.4401- 4410.
- IWATSUKI, K. et al. Immunohistochemical analysis of the lymphoid organs of dogs naturally infected with canine distemper virus. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, v.113, p.185–190, 1995.
- JAIN, N.C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p.417.
- JONES, C.T. et al. Moléstias causadas por agentes virais. In:____ **Patologia Veterinária**. São Paulo: Manole, 2000. cap.8. 323p.
- JÓZWIK, A.; FRYMUS, T. Comparison of the immunofluorescence assay with RT-PCR and nested PCR in the diagnosis of canine distemper. **Veterinary Research Communications**, Amsterdam, v. 29, p.347–359, 2005.
- KRAKOWKA, S. ;et al. Canine distemper virus: review of structural and functional modulations in lymphoid tissues. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.41, p. 284–292, 1998.
- KRAKOWKA, S.; KOESTNER, A. Comparison of canine distemper virus strains in gnotobiotic dogs: effects on lymphoid tissue. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, v.38, p.1919–1922, 1977.
- MARCONDES, M. **Avaliação física, citológica e bioquímica do líquido cefalorraquidiano de cães normais e de cães jovens portadores de cinomose**. 1992. 84 f. Dissertação (Mestrado) – Curso de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, UNESP, Botucatu, 1992.
- MEINKOTH, J.H.; CLINKENBEARD, K. Normal hematology of the dog. In: FELDMAN, B.V. et al. **Schalm's veterinary hematology**. 5.ed. Lippincott: Williams & Wilkins, 2000. cap.163. 1058 p.
- MORO, L. et al. Apoptosis in canine distemper. **Archives of Virology**, New York, v.148, n.1, p.153-164, 2003.
- MOTOHASHI, T. et al. Fluorescent antibody technique in diagnosis of canine distemper. **Veterinary Medicine / Small Animal Clinician**, Bonner Springs, v.65, p.1057-1059, 1969.
- RUDE, T.A. Canine distemper virus: infection and prevention. **Canine Practice**, Santa Barbara, v.14, p.16-24, 1987.
- SHELL, L.G. Canine distemper. **Compendium on Continuing Education. Small Animal Practice**, Princeton, v.12, n.2, p.173-179, 1990.
- TUDURY, A.E. et al. Observações clínicas e laboratoriais em cães com cinomose nervosa. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.27, p.229–235, 1997.
- VAN REGENMORTEL, M.H.V. et al. **Virus taxonomy: the classification and nomenclature of viruses**. San Diego: Academic, 2000. p.1167.
- WÜNSCHMANN, A. et al. Phenotypical characterization of Tand B cell areas in lymphoid tissues of dogs with spontaneous distemper. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v.73, p.83–98, 2000.