

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

JOÃO OTÁVIO SACCHI

**IDENTIFICAÇÃO DE VARIÁVEIS LABORATORIAIS PREDITIVAS DE
PROGNÓSTICO EM CÃES COM GASTROENTERITE DECORRENTE DO
PROTOPARVOVIRUS CANINO**

PALOTINA

2018

JOÃO OTÁVIO SACCHI

**IDENTIFICAÇÃO DE VARIÁVEIS LABORATORIAIS PREDITIVAS DE
PROGNÓSTICO EM CÃES COM GASTROENTERITE DECORRENTE DO
PROTOPARVOVIRUS CANINO**

Dissertação apresentada ao curso de Pós-graduação em Ciência Animal, Setor de Palotina, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Erica Cristina Bueno do Prado
Guirro

Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Marilene Machado Silva

PALOTINA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

S119 Sacchi, João Otávio
Identificação de variáveis laboratoriais preditivas de prognóstico em cães com gastroenterite decorrente do protoparvovirus canino / João Otávio Sacchi. -- Palotina, 2018
76f.

Orientadora: Erica Cristina Bueno do Prado Guirro
Coorientadora: Marilene Machado Silva
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal.

1. Protoparvovirose . 2. Hematologia . 3. Bioquímicas sérica.
I. Guirro, Erica Cristina Bueno do Prado. II. Silva, Marilene M.
III. Universidade Federal do Paraná . IV. Título.

CDU 636.7

Ficha catalográfica elaborada por Liliane Cristina Soares Sousa – CRB 9/1736



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR PALOTINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIA ANIMAL

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **JOÃO OTÁVIO SACCHI** intitulada: **Identificação de variáveis laboratoriais preditivas de prognóstico em cães com gastroenterite decorrente do *Protoparvovírus* canino**, após terem inquirido o aluno e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua aprovação no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Palotina, 22 de Fevereiro de 2018.

ERICA CRISTINA BUENO DO PRADO GUIRRO
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)

KATHERINNE MARIA SPERCOSKI
Avaliador Externo (UFPR)

MARILENE MACHADO SILVA
Co-orientador - Avaliador Interno (UFPR)

Dedico esse trabalho à minha
família que sempre me apoia e motiva.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus

Agradeço aos meus pais Maria Cristina Chiquito Sacchi e José Umberto Sacchi, por sempre acreditar e me incentivar a crescer mais, sem vocês esse trabalho não existiria, sou eternamente grato a tudo que vocês fizeram e fazem por mim, com certeza tenho os melhores pais do mundo, amo vocês. Agradeço as minhas irmãs Ana Carolina e Ana Cláudia pela parceria e por sempre lembrarem do que sou capaz, a ajuda de vocês foi imprescindível para eu chegar até aqui.

Agradeço a minha coorientadora Prof. Marilene Machado Silva por todo o conhecimento transmitido, pela confiança depositada em mim e nesse trabalho, por todos os anos no Laboratório Clínico de Palotina e por me ensinar a ser um profissional melhor, meu muito obrigado.

Agradeço a minha orientadora Prof. Erica Cristina Bueno do Prado Guirro por ter acreditado na proposta, pela confiança e experiência transmitida, por ter possibilitado que tudo isso acontecesse, e pela disposição em sempre ajudar no projeto.

Agradeço ao técnico Pedro Argel Zadinelo Moreira, por toda ajuda e companheirismo durante o período de residência e mestrado.

Agradeço os residentes do laboratório, Marla e Lindomar pela convivência durante esse período. Agradeço a toda equipe do laboratório, os estagiários e alunos de iniciação científica, sempre dispostos a ajudar e com boas risadas, Agradeço aos residentes do hospital veterinário presentes durante a realização do trabalho.

Agradeço aos grandes amigos que fiz em Palotina. Raquel e Camila pela alegria e momentos de agradecimento da morada do sol. Minha parceira de residência Jéssica, por toda amizade, desabafos, companheirismo e ajuda sem medida. Minha companheira de mestrado e residência Leiluana sempre superando os desafios juntos. Karin, Alessandra, Laura, Joyce, Carol, Pri, Arielle, Ju Druzi vocês tornaram Palotina um lugar melhor.

Agradeço todos os professores e funcionários do hospital veterinário que contribuíram de alguma forma no meu crescimento profissional.

RESUMO

As gastroenterites em cães são doenças multifatoriais responsáveis por mortalidade principalmente em animais jovens. Dentre os agentes etiológicos envolvidos está o *Protoparvovírus* canino tipo 2 (CPV-2). O CPV-2 é um vírus DNA fita simples, não envelopado, resistente no ambiente, altamente transmissível que possui tropismo e efeito citotóxico em tecidos como epitélio intestinal, órgãos linfoides e medula óssea. Dessa forma, maneiras para definir o prognóstico confiável são importantes para acessar o estado do animal e permitir a conduta terapêutica adequada, através de exames laboratoriais disponíveis com resultados rápidos e acessíveis. Portanto, o objetivo desse trabalho foi determinar as alterações hematológicas bioquímicas séricas e urinárias de cães infectados naturalmente pelo CPV-2 e a importância prognóstica associada. O estudo incluiu 32 cães atendidos no Hospital Veterinário (HV) da UFPR- Setor Palotina, hospitalizados com quadros de gastroenterite, diagnosticados com CPV-2. Amostras sanguíneas e urinárias foram coletas no dia da admissão e a cada 24 horas de internação, para análises hematológicas, bioquímicas e urinárias no laboratório clínico veterinário do HV, que incluíram hemácias, hemoglobina, hematócrito, VCM, CHCM, HCM, plaquetas, proteínas plasmáticas totais, leucócitos totais, neutrófilos, eosinófilos, linfócitos, monócitos, RDW, RDW, PCT, VPM, albumina, proteínas totais, globulinas, ALT, AST, FA, GGT, ureia, creatinina, triglicerídeos, colesterol, glicose, lactato, cálcio e fósforo, e urinálise que incluiu exame físico, químico com tiras reagentes, sedimentoscopia para detecção de hemácias, leucócitos, células epiteliais, cilindros, cristais, bactérias e outros achados, proteína, GGT, creatinina urinária, RGC e RPC. Em relação as variáveis hematológicas, na comparação entre grupos em T0, os animais não sobreviventes apresentaram valores menores de leucócitos totais e RDW; em T24 os não sobreviventes tiveram valores menores de plaquetas, leucócitos totais, PDW e PCT; Em relação as variáveis bioquímicas, na comparação entre grupos em T0, os animais não sobreviventes apresentaram valores maiores de ureia, triglicerídeos e fósforo; em T24 os não sobreviventes tiveram valores menores de albumina e proteínas totais, e valores maiores de FA, ureia e triglicerídeos. Em relação as variáveis urinárias, na comparação entre grupos em T0, valores maiores de cor, aspecto, proteína, GGT e GGT:C representaram mau prognóstico; em T24,

valores maiores de bilirrubina, proteína, células epiteliais de transição, cilindro granuloso fino e cristais de bilirrubina, GGT, proteína e GGT:C representaram mau prognóstico. Com isso, é possível concluir que existem variáveis hematológicas, bioquímicas e urinárias capazes de sugerir prognóstico nos animais sobreviventes e não sobreviventes, e devem ser utilizados pelos médicos veterinários como auxílio para o acompanhamento e terapia dos cães, a fim de reduzir o número de óbitos.

Palavras chave: protoparvovirose, hematologia, bioquímicas sérica, parâmetros urinários, prognóstico.

ABSTRACT

Gastroenteritis in dogs are multifactorial diseases responsible for mortality mainly in young animals. Among the etiological agents involved is canine Parvovirus type 2 (CPV-2). CPV-2 is a non-enveloped, environmentally resistant, highly transmissible, single-stranded DNA virus that has tropism and cytotoxic effect in tissues such as intestinal epithelium, lymphoid organs and bone marrow. Thus, ways to define reliable prognosis are important in accessing the animal's condition and allowing appropriate therapeutic management through available laboratory tests with rapid and accessible results. Therefore, the aim of this study was to determine the biochemical changes in the blood and urine of dogs naturally infected by CPV-2 and the associated prognostic importance. The study included 32 dogs treated at the Veterinary Hospital (HV) of the UFPR-Palotina Sector, hospitalized with gastroenteritis, diagnosed with CPV-2. Blood and urine samples were collected on the day of admission and every 24 hours for hematological, biochemical and urinary analyzes in the veterinary clinical laboratory of the HV, which included red blood cells, hemoglobin, hematocrit, MCV, CHCM, HCM, platelets, plasma proteins total, total leukocytes, neutrophils, eosinophils, lymphocytes, monocytes, RDW, RDW, PCT, MPV, albumin, total proteins, globulins, ALT, AST, FA, GGT, urea, creatinine, triglycerides, cholesterol, glucose, lactate, calcium and phosphorus, and urinalysis that included physical examination, chemical reagent strips, sediment for detection of red blood cells, leukocytes, epithelial cells, cylinders, crystals, bacteria and other findings, protein, GGT, urinary creatinine, RGC and RPC. Regarding the hematological variables, in the comparison between groups in T0, the non-surviving animals presented lower values of total leukocytes and RDW; in T24 the non-survivors had lower values of platelets, total leukocytes, PDW and PCT; Regarding the biochemical variables, in the comparison between groups in T0, the non-surviving animals presented higher values of urea, triglycerides and phosphorus; in T24 the non-survivors had lower values of albumin and total proteins, and higher values of FA, urea and triglycerides. Regarding urinary variables, in the comparison between groups in T0, higher values of color, aspect, protein, GGT and GGT: C represented poor prognosis; in T24, higher values of bilirubin, protein, transitional epithelial cells, fine granular cylinder and bilirubin crystals, GGT, protein and GGT: C represented poor prognosis. Thus, it is possible to conclude that there are hematological, biochemical and urinary variables capable of suggesting prognosis in surviving and

non-surviving animals and should be used by veterinarians as an aid to the monitoring and therapy of dogs in order to reduce the number of deaths.

Key words: protoparvovirosis, hematology, sérum biochemistry, urinary parameters, prognosis

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	10
2.1	ETIOLOGIA	10
2.2	EPIDEMIOLOGIA	11
2.3	PATOGENIA.....	12
2.4	ASPECTOS CLÍNICOS	13
2.5	DIAGNÓSTICO.....	13
2.6	TRATAMENTO	15
2.7	PROFILAXIA E CONTROLE	16
3	OBJETIVOS	17
3.1	OBJETIVO GERAL.....	17
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
	REFERÊNCIAS.....	17
	CAPÍTULO 1: PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS PREDITIVOS DE PROGNÓSTICO EM CÃES COM GASTROENTERITE DECORRENTE DO PROTOPARVOVIRUS CANINO.....	21
	CHAPTER 1: PROGNOSTIC PREDICTIVE HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN DOGS WITH GASTROENTERITIS DUE TO CANINE PROTOPARVOVIRUS	22
4	INTRODUÇÃO	23
5	MATERIAL E MÉTODOS.....	24
5.1	ANIMAIS E CRITÉRIO DE INCLUSÃO	24
5.2	ANÁLISES LABORATORIAIS	24
5.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	26
6	RESULTADOS	26
7	DISCUSSÃO	28
8	CONCLUSÃO.....	34
	REFERÊNCIAS.....	35
	CAPÍTULO 2: PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS PREDITIVOS DE PROGNÓSTICO EM CÃES COM GASTROENTERITE DECORRENTE DO PROTOPARVOVIRUS CANINO.....	39

CHAPTER 2: PROGNOSTIC PREDICTIVE BLOOD BIOCHEMICAL PARAMETERS IN DOGS WITH GASTROENTERITIS DUE TO CANINE <i>PROTOPARVOVIRUS</i>....		40
9	INTRODUÇÃO	41
10	MATERIAL E MÉTODOS.....	42
10.1	ANIMAIS E CRITÉRIO DE INCLUSÃO	42
10.2	ANÁLISES LABORATORIAIS	42
10.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	43
11	RESULTADOS	43
12	DISCUSSÃO	45
13	CONCLUSÃO.....	48
REFERÊNCIAS.....		49
CAPÍTULO 3: PARÂMETROS URINÁRIOS PREDITIVOS DE PROGNÓSTICO EM CÃES COM GASTROENTERITE DECORRENTE DO <i>PROTOPARVOVÍRUS</i> CANINO.		52
CHAPTER 3: PROGNOSTIC PREDICTIVE URINARY PARAMETERS IN DOGS WITH GASTROENTERITIS DUE TO CANINE <i>PROTOPARVOVIRUS</i>		53
14	INTRODUÇÃO	54
15	MATERIAL E MÉTODOS.....	55
15.1	ANIMAIS E CRITÉRIO DE INCLUSÃO	55
15.2	ANÁLISES LABORATORIAIS	56
15.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	56
16	RESULTADOS	57
17	DISCUSSÃO	58
18	CONCLUSÃO.....	62
REFERÊNCIAS.....		63
REFERÊNCIAS.....		66

1 INTRODUÇÃO

As gastroenterites em cães são doenças multifatoriais muito frequentes na clínica de pequenos animais e são responsáveis por mortalidade principalmente em animais jovens. Dentre os principais agentes etiológicos está o *Protoparvovírus* canino tipo 2 (CPV-2) (GLICKMAN *et al.*, 1985; KALLI *et al.*, 2017).

O CPV-2 é um vírus DNA fita simples, não envelopado, resistente no ambiente, que apresenta taxa de substituição genômica similar a vírus RNA (PAES, 2016; SHACKELTON *et al.*, 2005). A parvovirose é uma doença infectocontagiosa aguda, que possui tropismo e efeito citotóxico em tecidos com alta taxa de multiplicação, principalmente epitélio intestinal, órgãos linfoides e medula óssea (McCAW e HOSKINS, 2006).

No Brasil, os primeiros casos foram identificados em 1980 na cidade de Campinas-SP (PAES, 2016). Desde o seu reconhecimento, o CPV-2 passou por rápidas mutações, gerando dois novos tipos antigênicos, o CPV-2a e CPV-2b, e atualmente há uma terceira variante caracterizada CPV-2c, identificada primeiramente na Itália em 2000 e no Brasil em 2008 no Rio Grande do Sul, possibilitando, assim, a disseminação e prevalência dessa enfermidade na população susceptível (MIRANDA e THOMPSON, 2016; STRECK *et al.*, 2009). As vacinas disponíveis atualmente contêm a variante CPV-2 original ou a CPV-2b, e ainda não há vacina específica para o subtipo CPV-2c, gerando divergências sobre o efeito protetor contra as cepas heterólogas do CPV-2 (GODDARD e LEISEWITZ, 2010; WILSON *et al.*, 2014).

As manifestações clínicas incluem principalmente vômito e diarreia sanguinolenta, que resultam em desidratação grave e perda de componentes essenciais, como os eritrócitos por hemorragia intestinal além de nutrientes fornecidos pela dieta. A imunossupressão associada à perda da integridade da barreira intestinal predispõe os animais a infecções secundárias podendo causar, em alguns casos, sepse e choque séptico (GODDARD e LEISEWITZ, 2010).

Desta forma, o estudo do prognóstico através de exames laboratoriais é útil para identificar tais distúrbios e possibilitar melhor compreensão do curso da doença, além de fornecer informações sobre a provável evolução do quadro com maior confiabilidade, principalmente em procedimentos ambulatoriais de emergência que ocorrem em casos de graves de infecção pelo CPV-2 (MUNTWYLER *et al.*,

2002; RABELO *et al.*, 2007). Os exames laboratoriais envolvem principalmente hemograma, bioquímicos sanguíneos para acesso do funcionamento dos principais órgãos e urinálise, são técnicas acessíveis e rotineiras capazes de fornecer informações rápidas e importantes para o atendimento do animal. Portanto, o presente estudo tem objetivo de determinar as principais alterações no hemograma, bioquímicos sanguíneos e urinálise em cães hospitalizados por infecção natural do CPV-2, e com base nos resultados determinar o provável prognóstico dos animais.

2 REVISÃO DE LITERATURA

As gastroenterites virais estão entre as causas mais frequentes de diarreia em cães, principalmente em animais de 6 semanas a 6 meses de vida, e sua ocorrência está relacionada a taxas de alta morbidade e mortalidade. Nos casos mais graves, os animais necessitam de atendimento hospitalar rápido, pois geralmente morrem por choque hipovolêmico ou choque séptico após 24 horas da apresentação das manifestações clínicas (DECARO e BUONAVOGLIA, 2012).

2.1 ETIOLOGIA

O *Protoparvovirus* pertence à família *Parvoviridae*, composta por duas subfamílias: *Densovirinae* e *Parvovirinae*. A subfamília *Parvovirinae* é responsável por infectar vertebrados, e foi reclassificada com 8 gêneros incorporados. O gênero *Parvovirus* foi renomeado para *Protoparvovirus*, composto pela espécie *Protoparvovirus* dos carnívoros, dividida em quatro subespécies: o *Protoparvovirus* canino (CPV); *Protoparvovirus* dos felinos (VPF); vírus da enterite em marta (MEV) e o *Protoparvovirus* do guaxinim (COTMORE, 2013).

São vírus não envelopados que medem cerca de 25 nm de diâmetro, DNA fita simples com polaridade negativa. O capsídeo possui simetria icosaédrica e é composto por 60 unidades proteicas, e expressa três proteínas estruturais (VP1, VP2 e VP3) e duas não estruturais (NS1 e NS2) (NANDI e KUMAR, 2010). A replicação do CPV-2 ocorre principalmente no núcleo de células na fase S da mitose, portanto os tecidos com alta taxa de renovação celular são os mais susceptíveis, gerando grandes corpúsculos de inclusão intranuclear (MORAES e COSTA, 2012).

As mutações dos tipos de CPV-2 existentes estão localizadas no resíduo 426 da VP2 (BUONAVOGLIA *et al.*, 2001). O vírus possui alta resistência no ambiente, podendo permanecer viável por meses a anos, visto que é um vírus não envelopado e de estrutura compacta (GREENE e DECARO, 2012). Possui estabilidade em ampla faixa de pH de 3 a 9 e resiste a temperatura de 56°C por 60 minutos (PAES, 2016).

2.2 EPIDEMIOLOGIA

O *Protoparvovírus* foi reconhecido em 1967 como agente causador de doença gastroentérica e respiratória em cães, sendo chamado de *minute vírus of canines* (MVC), e posteriormente designado como CPV-1. No fim da década de 70, uma nova espécie foi isolada e chamada de CPV-2, e sugere-se que tenha originado do vírus da panleucopenia felina, responsável por uma grande epidemia entre a população canina e por acarretar episódios fatais de gastroenterite hemorrágica e miocardite em cães neonatos. O CPV e VPF possuem semelhança de 98% na sequência de DNA (TRUYEN *et al.*, 1996). Existem de 6 a 7 trocas de aminoácidos entre o VPF e o CPV-2, principalmente no domínio da VP2, responsável pela interação com os receptores de transferrina (TfR) das células do hospedeiro, além de conferir as propriedades antigênicas e hemaglutinantes virais (DECARO e BUONAVOGLIA, 2012). O CPV-2 foi responsável por grande morbidade e mortalidade, e só houve controle após a introdução da vacina. O CPV-2 mutou rapidamente gerando 2 novas cepas CPV-2a e CPV-2b, que substituíram completamente a cepa original e são responsáveis por causar a doença nos cães (DECARO e BUONAVOGLIA, 2012). Atualmente, há outra variante circulante, o CPV-2c. Primeiramente identificada na Itália em 2000 e no Brasil em 2008, é também conhecida como Glu426, pois possui uma substituição do aminoácido da posição 426, de um ácido aspártico para um ácido glutâmico, e uma alteração do sítio antigênico do capsídeo viral (KAHTRI *et al.*, 2017; PAES, 2016). A mutação para CPV-2c confere maior vantagem adaptativa ao vírus com propriedades antigênicas diferentes e possibilidade de não ser reconhecido pelo sistema imune em animais vacinados com cepas diferentes, portanto existem casos de cães imunizados apresentando a afecção (GODDARD e LEISEWITZ, 2010; TRUYEN, 2006).

2.3 PATOGENIA

A transmissão do CPV-2 ocorre via oral-fecal através de fezes contaminadas. O cão entra em contato com o agente e a primeira replicação viral ocorre em orofaringe, tecidos linfoides locais, linfonodos mesentéricos e timo, até 48 horas após o contato (GREENE e DECARO, 2012). Posteriormente à primeira replicação, há viremia por de três a quatro dias e, então, se instala nos órgãos de predileção, ou seja, tecidos com alta atividade mitótica, como as criptas do epitélio intestinal, tecidos linfoides, medula óssea e coração (CARR-SMITH *et al.*, 1997). A excreção do CPV-2 pelas fezes começa em três a quatro dias pós contato, geralmente antes do início das manifestações clínicas, com duração de no máximo 7 a 10 dias (PAES, 2016).

No epitélio do intestino delgado, o CPV-2 infecta o centro germinativo das células da cripta e causa destruição e colapso de todo o epitélio, de forma que compromete a renovação celular e causa diminuição das vilosidades, perdendo a sua capacidade absorptiva de nutrientes e aumentando a sua permeabilidade (GELBERG, 2013; GODDARD e LEISEWITZ, 2010; PARRISH, 1995). O quadro clínico de enterite hemorrágica, característico da parvovirose, ocorre em função da replicação do vírus no epitélio intestinal (PRITTIE, 2004). Infecções secundárias intestinais por bactérias Gram-negativas e microbiota anaeróbica, podem causar danos adicionais à parede intestinal e a perda da barreira intestinal com aumento da permeabilidade, permite translocação bacteriana, com sepse, septicemia, endotoxemia, que resultam em resposta inflamatória sistêmica (SIRS) e agravamento do quadro (GELBERG, 2013; SCHOEMAN *et al.*, 2013; GODDARD e LEISEWITZ, 2010).

Nos tecidos linfoides, o CPV-2 causa destruição nos centros germinativos de linfonodos e córtex do timo, com necrose generalizada no terceiro dia pós infecção. Após essa replicação em tecido linfoide, ocorre a primeira fase de viremia para chegada em medula óssea, tecido linfopoietico e epitélio intestinal de jejuno e íleo (GREENE e DECARO, 2012). Dessa forma, o CPV-2 causa destruição de precursores de leucócitos, hemácias, plaquetas e células linfoides. Em função disso, ocorre linfopenia nos primeiros dias pós infecção, acompanhada de neutropenia por

consumo em epitélio intestinal e destruição dos precursores mielóides (SCHOEMAN *et al.*, 2013). O CPV-2 faz uma segunda fase de viremia, quando uma alta carga viral decorrente da replicação é liberada de tecidos infectados para a corrente sanguínea, de três a quatro dias pós contato (HUEFFER e PARRISH, 2003).

O CPV-2 pode causar miocardite, quando cães neonatos entram em contato com o agente. Os miócitos possuem alta replicação durante a vida uterina até a segunda semana de idade, que favorecem a replicação viral. Atualmente, essa forma de apresentação é rara, em virtude da imunização da população canina e transferência passiva de anticorpos aos neonatos (CARR-SMITH *et al.*, 1997).

2.4 ASPECTOS CLÍNICOS

As manifestações clínicas em infecções pelo CPV2 variam em intensidade conforme a virulência do agente etiológico, a quantidade de inóculo e a capacidade de defesa do hospedeiro. As raças mais susceptíveis incluem o Doberman Pinscher, Rotweiler, Pitbull e Labrador Retriever. O CPV-2 possui predileção por células em mitose como as criptas intestinais e vai produzir colapso das vilosidades intestinais, diarreia, vômito, hemorragia intestinal e translocação bacteriana. No momento da consulta, os cães podem apresentar prostração, anorexia e vômito, sem diarreia, que geralmente está ausente nas primeiras 24 a 48 horas. O vômito pode ser grave o bastante para causar esofagite, a febre e o choque séptico podem estar presentes em quadros graves.

2.5 DIAGNÓSTICO

A presença de diarreia sanguinolenta de odor intenso e característico em cães jovens é indicativa de infecção pelo CPV-2. No entanto, outros agentes são capazes de gerar manifestações clínicas semelhantes, como o coronavírus, infecções bacterianas e endoparasitas. Por isso, técnicas laboratoriais tornam-se necessárias para detecção direta ou indireta do agente e confirmação do diagnóstico (GREENE e DECARO, 2012).

Atualmente, as técnicas utilizadas para detecção viral com maior sensibilidade e especificidade são o teste de hemaglutinação, ELISA e PCR, principalmente através de fezes de animais infectados na fase aguda (KHATRI *et al.*, 2017).

Os testes de imunocromatografia são testes de ELISA para detecção do antígeno viral nas fezes, amplamente utilizados em clínicas e hospitais veterinários por fornecerem resultados rápidos e de baixo custo (PRITTIE, 2004). São pouco sensíveis e altamente específicos, os resultados positivos são confirmatórios enquanto falsos negativos são possíveis e requerem outras técnicas para confirmação como o PCR (PAES, 2016). Os cães infectados possuem um pico de eliminação do agente entre quatro a seis dias pós infecção, período com eliminação de alta carga viral e detectável pelo ELISA, enquanto que a eliminação viral pode continuar até 12 dias pós infecção de forma intermitente, com baixos títulos virais e não ser detectado pelo teste (DESARIO *et al.*, 2005). Não há diferença na capacidade do ELISA em detectar os diferentes tipos de CPV-2, incluindo a variante 2c (DECARO e BUONAVOGLIA, 2012; PROKSCH *et al.*, 2015). Resultados falsos-positivos podem ocorrer em animais vacinados após quatro a oito dias com o vírus vivo atenuado (GODDARD e LEISEWITZ, 2010).

O teste de hemaglutinação direta com hemácias de suínos é realizado com as fezes de cães doentes, fundamentado na capacidade do CPV-2 adsorver na superfície das hemácias (PAES, 2016). Quando isso acontece, as hemácias se repelem e não depositam no fundo dos tubos ou poços e formam um tapete celular. Caso as hemácias se depositem no fundo dos poços o resultado é negativo. A sensibilidade diminui quando realizado após o pico de excreção fecal do antígeno viral ou na presença de anticorpos neutralizantes no lúmen intestinal (PAES, 2016). Resultados falsos positivos ocorrem na presença de hemaglutinantes inespecíficos nas fezes, necessitando de outros testes confirmatórios como o PCR (GREENE e DECARO, 2012).

Os testes que envolvem a biologia molecular como a reação em cadeia polimerase (PCR) ou o RT-PCR são altamente sensíveis e específicos para detecção do CPV-2 (DESARIO *et al.*, 2005). O PCR é capaz de detectar baixos títulos virais e permite a diferenciação entre as variantes. O RT-PCR adicionalmente permite a quantificação de ácido nucleico de CPV-2, possui menor risco de contaminantes e possibilita diferenciar animais infectados por cepas de campo de cepas vacinais. Atualmente, esses exames são bastante factíveis e de custo acessível (DECARO *et al.*, 2005).

2.6 TRATAMENTO

O tratamento para infecções pelo CPV-2 é amplo com objetivo principal de correção do equilíbrio hidroeletrolítico, antibióticos, antieméticos, além de procedimentos para correção de choque hipovolêmico e sepse nos casos mais graves.

Os animais acometidos pelo CPV-2 manifestam quadros de vômito e diarreia graves, com perda massiva de líquidos, eletrólitos, proteínas e baixa perfusão tecidual, desidratação grave e baixo débito cardíaco (GODDARD E LEISEWITZ, 2010). A hipocalemia é comum e recomenda-se a reposição de potássio na fluidoterapia. Nesses casos, a fluidoterapia é necessária para reposição adequada das perdas, com o uso de cristaloides em conjunto com solução de glicose nos casos de deficiência de eletrólitos e necessidade de reposição energética, ou também o uso de colóides, sangue total ou plasma fresco, nos casos de choque hipovolêmico (KHATRI *et al.*, 2017).

Os antieméticos são amplamente utilizados em infecções pelo CPV-2, para combater os quadros graves de vômito (MANTIONE e OTTO, 2005). Os antieméticos de ação central são mais eficazes no controle, como a metoclopramida, clorpromazina e proclorperazina. Os animais devem permanecer em jejum até 24 horas após o último episódio de vômito, no entanto alguns autores sugerem que isso não é necessário, pois quando os cães são alimentados no início do tratamento via tubo nasoesofágico, o tempo de recuperação é menor e conseguem manter o peso corporal quando comparados a animais em jejum completo, e adicionalmente protetores da mucosa estomacal devem ser utilizados, como a ranitidina e cimetidina (KHATRI *et al.*, 2017 MOHR, 2003; WILL *et al.*, 2005).

Os antibióticos administrados possuem o objetivo de evitar infecções secundárias e sepse, que podem ser comuns em quadros graves de infecção pelo CPV-2, em virtude da imunossupressão e perda da barreira intestinal (PRITTIE, 2004). As bactérias mais comuns são *Escherichia coli* e *Clostridium perfringens* (GREENE e DECARO, 2012). Os antimicrobianos devem ser de amplo espectro e possuir grande difusão pelos tecidos. Pode-se utilizar, em ordem de eleição, o cloranfenicol, cefalosporinas, aminoglicosídeos, fluoroquinolonas e sulfonamidas (GREENE e DECARO, 2012; KHATRI *et al.*, 2017; PAES, 2016). As sulfonamidas já foram muito utilizadas no tratamento de infecções pelo CPV-2, no entanto tem

demonstrado baixa eficácia ultimamente em função do desenvolvimento de resistência bacteriana. As cefalosporinas e os aminoglicosídeos são boas opções em função do sinergismo quando administrados em conjunto. As fluoroquinolonas possuem amplo espectro, mas devem ser usadas com cautela em cães jovens, pois causam erosões na superfície de osso em crescimento (GREENE e DECARO, 2012).

Em casos de choque séptico, os corticoides possuem ação benéfica ao inibir a liberação de fator de necrose tumoral alfa (TNF α) e interleucina 1 (IL-1), inibe a produção de ácido nítrico e liberação de fator de agregação plaquetária. O corticoide de escolha é a hidrocortisona (GREENE e DECARO, 2012; KHATRI *et al.*, 2017).

2.7 PROFILAXIA E CONTROLE

A maneira mais eficaz de controle e profilaxia é a vacinação com o vírus do CPV-2 vivo atenuado, com imunidade de 20 meses ou vitalícia, segundo alguns autores (GREENE e DECARO, 2012; PAES, 2016). Inicialmente, a cepa original CPV-2 foi capaz de conferir imunidade contra todas as variantes, no entanto, em 1990 a cepa original foi substituída pela CPV-2a, já que não estava mais presente entre a população canina (DAY *et al.*, 2016). Em 2003, a cepa 2a foi substituída pela 2b por ser a cepa predominante na população canina do Brasil. Estudos revelaram que a vacinação com a cepa CPV-2 e CPV-2b conferem imunidade contra as cepas CPV-2b e CPV-2c (WILSON *et al.*, 2014), enquanto outros estudos apresentam divergência quanto a efetividade da imunização cruzada contra a variante CPV-2c, visto que cães imunizados chegaram a desenvolver a doença (MIRANDA e THOMPSON, 2016; TRUYEN, 2006).

A principal falha vacinal é a administração precoce em cães jovens com níveis altos de anticorpos colostrais, responsáveis por neutralizar o antígeno vacinal e não gerar imunidade à doença. A última dose da vacina deve ser aplicada entre a 15ª e 16ª semana de idade do animal para garantir que não haja interferência dos anticorpos adquiridos passivamente, sendo a primeira dose entre os 45-60 dias de vida num esquema de 3 doses com 30 dias de intervalo. Após o esquema inicial, recomenda-se a vacinação anual (GODDARD e LEISEWITZ, 2010; GREENE e DECARO, 2012; PAES, 2016; PRITTIE, 2004). As falhas vacinais também podem ocorrer caso a vacina não seja capaz de causar estímulo antigênico, em casos de

cepa viral inadequada, além do armazenamento e atenuação do vírus inadequados (PRITTIE, 2004). Além desses fatores, existem animais que não são responsivos à vacinação com CPV-2, estando susceptíveis a infecções naturais (DAVIS-WURZLER, 2014).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho é avaliar parâmetros laboratoriais capazes de prever prognóstico em cães naturalmente infectados pelo *Protoparvovirus* canino tipo 2.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar variáveis hematológicas em intervalos de 24 horas e identificar capacidade de prever o prognóstico.
- Avaliar variáveis bioquímicas em intervalos de 24 horas e identificar capacidade de prever o prognóstico.
- Avaliar variáveis urinárias em intervalos de 24 horas e identificar capacidade de prever o prognóstico.

REFERÊNCIAS

BUONAVOGLIA, C.; MARTELLA, V.; PRATELLI, A.; TEMPESTA, M.; CAVALLI, A.; BUONAVOGLIA, D.; BOZZO, G.; ELIA, G.; DECARO, N.; CARMICHAEL, L.

Evidence for evolution of Canine Parvovirus type 2 in Italy. **Journal of General Virology**, v.82, p.3021 – 3025, 2001.

CARR-SMITH, S.; MACINTIRE, D.K.; SWANGO, I.J. Canine Parvovirus: Part 1. **Pathogenesis and Vaccination Compendium of Continuous Education on Practice Veterinary**, v.19, p.125-133, 1997.

COTMORE, S.F.; AGBANDJE-MCKENNA, M.; CHIORINI, J.A.; MUKHA, D.V.; PINTEL, D.J.; QIU, J.; SODERLUND-VENERMO, M.; TATTERSTALL, P.; TIJSSEN, P. The family Parvoviridae. **Archives Of Virology**, v. 159, n. 5, p.1239-1247, 9 nov. 2013.

DAVIS-WÜRZLER, G.M. 2013 Update on Current Vaccination Strategies in Puppies and Kittens. **Veterinary Clinics of North America – Small Animals**, v.44, p.253-263, 2014.

DAY, M.; HORZINECK, M.; SCHULTZ, D.; SQUIRES, R.A. WSAVA Guidelines for the 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**, v. 57, p. E1-E45, 2016.

DECARO, N.; BUONAVOGLIA, C. Canine parvovirus – A review of epidemiologic and diagnostic aspects with emphasis on type 2c. **Veterinary Microbiology**, v.155, p.1-12, 2012.

DECARO, N.; DESARIO, C.; CAMPOLO, M.; ELIA, G.; MARTELLA, V.; RICCI, D.; LORUSSO, E.; BUONAVOGLIA, C. Clinical and virological findings in pups naturally infected by canine parvovirus type 2 Glu-426 mutant. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v.17, p.133-138, 2005.

DESARIO, C.; DECARO, N.; CAMPOLO, M.; CAVALLI, A.; CIRONE, F.; ELIA, G.; MARTELLA, V.; LORUSSO, E.; CAMERO, M.; BUONAVOGLIA, C. Canine parvovirus infection: Which diagnostic test for virus? **Journal of Virological Methods**, v.126, p.179-185, 2005.

GELBERG, H. B.. Sistema alimentar, peritônio, omento, mesentério e cavidade peritoneal. In: ZACHARY, J. F.; MCGAVIN, M. D.. **Bases da patologia em veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. Cap. 7. p. 324-406.

GLICKMAN, L. T.; DOMANSKI, L. M.; PATRONEK, G. J.; VISINTAINER, F.. Breed-related risk factors for canine parvovirus enteritis. **Journal Of The American Veterinary Medical Association**, v. 187, n. 6, p.589-594, set. 1985.

GODDARD, A.; LEISEWITZ, A. L.. Canine Parvovirus. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, v. 40, n. 6, p.1041-1053, nov. 2010.

GREENE, C. E.; DECARO, N.. Canine viral enteritis. In: GREENE, C. E.. **Infectious diseases of the dog and cat**. 4. ed. St. Louis: Elsevier, 2012. Cap. 8. p. 67-74.

HUEFFER K., PARRISH R.. Parvovirus host range, cell tropism and evolution. **Current Opinion in Microbiology**, v.6, p.392-398, 2003.

KALLI, I. V.; ADAMAMA-MORAITOU, K. K.; PATSIKAS, M. N.; PARDALI, D.; STEINER, J. M.; SUCHODOLSKI, J. S.; MENEXES, G.; BRELLOU, G. D.; RALLIS, T. S.. Prevalence of increased canine pancreas-specific lipase concentrations in young dogs with parvovirus enteritis. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 46, n. 1, p.111-119, 26 jan. 2017.

KHATRI, R.; POONAM; MOHAN, H. Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis and Treatment of Canine Parvovirus Disease in Dogs: A Mini Review. **Journal Of Veterinary Science & Medical Diagnosis**, v. 06, n. 03, p.21-27, 2017.

MANTIONE, N. L.; OTTO, C. M.. Characterization of the use of antiemetic agents in dogs with parvoviral enteritis treated at a veterinary teaching hospital: 77 cases (1997-2000). **Journal Of The American Veterinary Medical Association**, v. 227, n. 11, p.1787-1793, dez. 2005.

MIRANDA, C.; THOMPSON, G.. Canine parvovirus: the worldwide occurrence of antigenic variants. **Journal Of General Virology**, v. 97, n. 9, p.2043-2057, set. 2016.

MOHR, A. J.; LEISEWITZ, A. L.; JACOBSON, L. S.; RUAUX, C. G.; WILLIAMS, D. A.. Effect of Early Enteral Nutrition on Intestinal Permeability, Intestinal Protein Loss, and Outcome in Dogs with Severe Parvoviral Enteritis. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, n. 6, p.791-798, nov. 2003. Wiley-Blackwell.

MORAES, M. P.; COSTA, P. R. dos S.. Parvoviridae. In: FLORES, E. F.. **Virologia Veterinária**. 2. ed. Santa Maria: Ufsm, 2012. Cap. 15. p. 439-462.

MUNTWYLER, J.; ABETEL, G.; GRUNER, C.; FOLLATH, F. One year mortality among unselected outpatients with heart failure. **European Heart Journal**. v. 23, p. 1861- 1866, 2002.

NANDI, S.; KUMAR, M. Canine Parvovirus: Current Perspective. **Indian Journal Of Virology**, v. 21, n. 1, p.31-44, jun. 2010. Springer Nature.

DECARO, N.; BUONAVOGLIA, C. Canine parvovirus—A review of epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. **Veterinary Microbiology**, v. 155, n. 1, p.1-12, fev. 2012.

PAES, A. C.. Parvovirose Canina. In: MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C.. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. Rio de Janeiro: Roca, 2016. Cap. 72. p. 768-785.

PARRISH, C. R.. Pathogenesis of feline panleukopenia virus and canine parvovirus. **Bailliere's Clinical Haematology**, v. 8, n. 1, p.57-71, mar. 1995.

PRITTIE, J. Canine parvoviral enteritis: a review of diagnosis, management, and prevention. **Journal Of Veterinary Emergency And Critical Care**, v. 14, n. 3, p.167-176, set. 2004.

PROKSCH, A.L.; UNTERER, S.; SPECK, S.; TRUYEN, U.; HARTMANN, K. Influence of clinical and laboratory variables on faecal antigen ELISA results in dogs with canine parvovirus infection. **The Veterinary Journal**, v.204, p.304-308, 2015.

RABELO, R. C.; ARNOLD, C. F. RICO Score – Parâmetros clínico-laboratoriais de cães atendidos em sala de urgência (HV – Universidade Complutense de Madrid) e associação com a sobrevivência às 24 horas, 7 dias e 28 dias. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 35, n. 2, p. 686-688, 2007.

SCHOEMAN, J. P.; GODDARD, A.; LEISEWITZ, A. L. Biomarkers in canine parvovirus enteritis. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 61, n. 4, p.217-222, jul. 2013.

SHACKELTON, L.A.; PARRISH, C.R.; TRUYEN, U.; HOLMES, E.C. High rate of viral evolution associated with the emergence of carnivore parvovirus. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v.102, p. 379-384, 2005.

STRECK, A. F.; SOUZA, C. K. de; GONÇALVES, K. R.; ZANG, L.; PINTO, L. D.; CANAL, C. W.. First detection of canine parvovirus type 2c in Brazil. **Brazilian Journal Of Microbiology**, v. 40, n. 3, p.465-469, set. 2009.

TRUYEN, U. Evolution of canine parvovirus-A need for new vaccines? **Veterinary Microbiology**, v.117, p.9-13, 2006.

TRUYEN, U.; EVERMANN, J.F.; VIELER, E.; PARRISH, C.R. Evolution of Canine Parvovirus Involved Loss and Gain of Feline Host Range. **Virology**, v. 215, p. 186-189, 1996.

WILL, K.; NOLTE, I.; ZENTEK, J.. Early Enteral Nutrition in Young Dogs Suffering from Haemorrhagic Gastroenteritis. **Journal Of Veterinary Medicine Series A**, v. 52, n. 7, p.371-376, set. 2005. Wiley-Blackwell.

WILSON, S.; ILLAMBAS, J.; SIEDEK, E.; STIRLING, C.; THOMAS, A.; PLEVOVA, E.; STURE, G.; SALT, J.. Vaccination of dogs with canine parvovirus type 2b (CPV-2b) induces neutralising antibody responses to CPV-2a and CPV-2c. **Vaccine**, v. 32, n. 42, p.5420-5424, set. 2014

CAPÍTULO 1: PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS PREDITIVOS DE PROGNÓSTICO EM CÃES COM GASTROENTERITE DECORRENTE DO *PROTOPARVOVIRUS* CANINO

RESUMO

As gastroenterites em cães são doenças multifatoriais responsáveis por mortalidade principalmente em animais jovens. Dentre os agentes etiológicos envolvidos está o *Protoparvovírus* canino tipo 2 (CPV-2). O CPV-2 é um vírus DNA fita simples, não envelopado, resistente no ambiente, altamente transmissível que possui tropismo e efeito citotóxico em tecidos como epitélio intestinal, órgãos linfoides e medula óssea. Dessa forma, maneiras para definir o prognóstico confiável são importantes para acessar o estado do animal e permitir a conduta terapêutica adequada, através de exames laboratoriais disponíveis com resultados rápidos e acessíveis. Portanto, o objetivo desse trabalho foi determinar as alterações hematológicas de cães infectados naturalmente pelo CPV-2 e a importância prognóstica associada. O estudo incluiu 32 cães atendidos no Hospital Veterinário (HV) da UFPR- Setor Palotina, hospitalizados com quadros de gastroenterite, diagnosticados com CPV-2. Amostras sanguíneas foram coletas no dia da admissão e a cada 24 horas de internação, para análises hematológicas no laboratório clínico veterinário do HV, que incluíram hemácias, hemoglobina, hematócrito, VCM, CHCM, HCM, plaquetas, proteínas plasmáticas totais, leucócitos totais, neutrófilos, eosinófilos, linfócitos, monócitos, RDW, RDW, PCT e VPM. Na comparação entre grupos em T0, os animais não sobreviventes apresentaram valores menores de leucócitos totais e RDW; em T24 os não sobreviventes tiveram valores menores de plaquetas, leucócitos totais, PDW e PCT; Com isso, é possível concluir os valores hematológicos que sugeriram prognóstico nos animais sobreviventes e não sobreviventes, e devem ser utilizados pelos médicos veterinários como auxílio para o acompanhamento e terapia dos cães, a fim de reduzir o número de óbitos.

Palavras chave: protoparvovirose, hematologia, prognóstico,

CHAPTER 1: PROGNOSTIC PREDICTIVE HEMATOLOGICAL PARAMETERS IN DOGS WITH GASTROENTERITIS DUE TO CANINE PROTOPARVOVIRUS

ABSTRACT

Gastroenteritis in dogs are multifactorial diseases responsible for mortality mainly in young animals. Among the etiological agents involved is canine Protoparovirus type 2 (CPV-2). CPV-2 is a non-enveloped, environmentally resistant, highly transmissible, single-stranded DNA virus that has tropism and cytotoxic effect in tissues such as intestinal epithelium, lymphoid organs and bone marrow. Thus, ways to define reliable prognosis are important in accessing the animal's condition and allowing appropriate therapeutic management through available laboratory tests with rapid and accessible results. Therefore, the objective of this study was to determine the hematological changes of dogs naturally infected by CPV-2 and the associated prognostic importance. The study included 32 dogs attended at the Veterinary Hospital (HV) of the UFPR-Palotina Sector, hospitalized with gastroenteritis, diagnosed with CPV-2. Blood samples were collected on the day of admission and every 24 hours for hematological analysis in the veterinary clinical laboratory of the HV, which included red cells, hemoglobin, hematocrit, MCV, CHCM, HCM, platelets, total plasma proteins, total leukocytes, neutrophils, eosinophils, lymphocytes, monocytes, RDW, RDW, PCT and VPM. In the comparison between groups in T0, the non-surviving animals presented lower values of total leukocytes and RDW; in T24 the non-survivors had lower values of platelets, total leukocytes, PDW and PCT; Therefore, it is possible to conclude the hematological values that suggested prognosis in surviving and non-surviving animals and should be used by veterinarians as an aid in the monitoring and therapy of dogs in order to reduce the number of deaths.

Key words: Protoparvovirusis, hematology, prognosis

4 INTRODUÇÃO

As gastroenterites em cães são doenças multifatoriais muito frequentes na clínica de pequenos animais, responsáveis por mortalidade principalmente em animais jovens. Dentre os principais agentes etiológicos está o *Protoparvovirus* canino tipo 2 (CPV-2) (DECARO e BUONAVOGLIA, 2012).

O CPV-2 é um vírus DNA fita simples, não envelopado, resistente no ambiente, que apresenta taxa de substituição genômica similar a um vírus RNA (PAES, 2016). A protoparvovirose é uma doença infectocontagiosa aguda, que possui tropismo e efeito citotóxico em tecidos com alta taxa de multiplicação celular, principalmente epitélio intestinal, órgãos linfoides e medula óssea, afetando de forma intensa as linhagens sanguíneas (PRITTIE, 2004).

No Brasil, os primeiros casos foram identificados em 1980 na cidade de Campinas-SP (PAES, 2016). Desde o seu reconhecimento, o CPV-2 passou por rápidas mutações, gerando dois novos tipos antigênicos, o CPV-2a e CPV-2b, e atualmente há uma terceira variante caracterizada CPV-2c, identificada primeiramente na Itália em 2000 e no Brasil em 2008 no Rio Grande do Sul, possibilitando maior disseminação e prevalência dessa enfermidade na população susceptível (MIRANDA e THOMPSON, 2016; STRECK *et al.*, 2009). As vacinas disponíveis atualmente contêm a variante CPV-2 original ou a CPV-2b, e ainda não há vacina específica para o subtipo CPV-2c, gerando divergências sobre o efeito protetor contra as cepas heterólogas do CPV-2 (GODDARD e LEISEWITZ, 2010; WILSON *et al.*, 2014).

Os exames hematológicos consistem principalmente na avaliação das três linhagens sanguíneas, denominadas hemácias, leucócitos e plaquetas, que permitem avaliar processos patológicos, como anemia, desidratação, inflamação, imunossupressão e distúrbios hemostáticos, entre outros. O hemograma é uma ferramenta de auxílio no diagnóstico de doenças, quando em conjunto com outros dados clínicos e exames auxiliares, e fornece resultados rápidos de baixo custo. Além do diagnóstico, permite ao médico veterinário avaliar a progressão da doença, resposta ao tratamento instituído e determinar o provável prognóstico (SCHOEMAN *et al.*, 2013),.

O CPV-2 ainda está muito presente principalmente entre animais jovens com menos de 6 meses de idade, possui alta morbidade entre a população canina e atingi alta mortalidade quando o tratamento não é instituído (GLICKMAN *et al.*, 1985). Portanto, o objetivo desse trabalho é identificar as alterações hematológicas encontradas em cães infectados naturalmente pelo CPV-2 e com isso apresentar quais destes parâmetros poderiam ser capazes de predizer prognóstico.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 ANIMAIS E CRITÉRIO DE INCLUSÃO

Este estudo foi aprovado previamente pela Comissão de Ética no /uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Paraná – Setor Palotina, com número de protocolo 28/2016.

O estudo incluiu 32 cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná (UFPR)- Setor Palotina, independente de idade, raça, sexo, histórico de vacinação e tempo de apresentação clínica, com manifestações clínicas de diarreia, diarreia sanguinolenta e vômito. No momento do atendimento clínico, foi realizado teste imunocromatográfico para detecção do *Protoparvovirus* canino, e quando positivo, os animais foram incluídos no estudo e posteriormente divididos em dois grupos: animais com gastroenterite pelo *Protoparvovirus* canino sobreviventes (Grupo 1) com 27 cães; e animais com gastroenterite por *Protoparvovirus* canino não sobreviventes (Grupo 2) com cinco cães.

Amostras de sangue foram coletadas no momento do atendimento clínico, e a cada 24 horas de internação repetiam-se as coletas de sangue para acompanhamento da evolução diária da doença, até o animal receber alta médica ou ir a óbito, O protocolo terapêutico adotado foi de acordo com descrito na literatura para cães com gastroenterite decorrente do *Protoparvovirus* canino, que incluíram fluidoterapia, antieméticos, antibioticoterapia e nutrição microenteral até a remissão dos vômitos e diarreia ou óbito.

5.2 ANÁLISES LABORATORIAIS

As amostras de sangue foram coletadas por punção de veia jugular externa ou cefálica e acondicionadas em tubos contendo EDTA. As amostras foram

enviadas ao Laboratório Clínico Veterinário do Hospital Veterinário da UFPR- Setor Palotina onde foram processadas imediatamente após a coleta.

Para o hemograma, utilizou-se o tubo contendo sangue total com EDTA para determinação do número de eritrócitos ($10^6/\mu\text{L}$), concentração de hemoglobina (g/dL), hematócrito (%), volume corpuscular médio (VCM) (fL), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) (%), hemoglobina corpuscular média (HCM) (pg), *red cell distribution width* (RDW) (%), número de plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$), volume plaquetário médio (VPM) (fL), *platelet distribution width* (PDW) (%), Plaquetócrito (PCT) (%) e contagem de leucócitos totais ($10^3/\mu\text{L}$), por meio do contador de células automático BC2800 Vet Mindray®. Para o microhematócrito, tubos capilares foram preenchidos com sangue total com EDTA, centrifugados a 12000rpm e lidos em régua de hematócrito, e com o plasma obtido foram determinadas as proteínas plasmáticas totais (PPT) (g/dL) por refratometria.

A contagem diferencial leucocitária e a avaliação morfológica das células sanguíneas foram realizadas por microscopia óptica, com aumento de 1000x, de extensões sanguíneas coradas com kit panótico®. O diferencial leucocitário não foi realizado em animais com leucopenia grave, número de leucócitos totais menor que $1500/\mu\text{L}$. A concentração de fibrinogênio (g/dL) foi determinada pelo método de precipitação por calor, que consiste em repousar um tubo capilar já centrifugado em banho-maria a 56-58°C por 3 minutos, centrifugar novamente por um minuto, realizar leitura em refratômetro sendo, a concentração de fibrinogênio, a diferença entre as leituras pré e pós o tempo em banho-maria.

Para detecção do *Protoparvovirus* canino, foi realizado teste imunocromatográfico para antígeno viral fecal com kits comerciais®, de acordo com o indicado pela bula do fabricante.

Os tempos de coleta de amostras foram definidos conforme as horas de internação. O momento da admissão foi chamado de tempo zero (T0), com colheitas a cada 24 horas, denominadas T24, T48 e T72, sendo T72 no grupo 1 o último tempo de coleta, visto que após esse período a maioria dos animais recebeu alta. No grupo 2, animais não sobreviventes, o T24 foi definido como o último tempo, em função da ocorrência de óbito de quatro dos cinco cães deste grupo. Portanto, utilizou-se os tempos T0 e T24 de cada grupo para comparação dos dados e procedimento das análises estatísticas.

5.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para os dados paramétricos, foi realizado a análise de variância ANOVA seguido do teste t para comparação entre grupos, com nível de significância $p < 0,05$.

6 RESULTADOS

Em relação aos parâmetros eritrocitários no grupo 1 (tabela 1), a média do número hemácias foi próxima ao limite inferior de normalidade no dia da admissão, com média representando anemia em T24. A média da concentração de hemoglobina foi próxima ao limite inferior de normalidade na admissão, com média abaixo da normalidade em T24. A média de hematócrito foi próxima ao limite inferior de normalidade no dia da admissão, com anemia presente em T24. A média dos índices hematimétricos VCM, CHCM e HCM não apresentou variação entre os tempos, com normocitose e hipocromia em ambos os momentos. A média do número de plaquetas permaneceu dentro da normalidade em todos os tempos, com aumento dos valores em T24. Em relação aos valores do histograma, os valores de RDW e VPM apresentaram diminuição entre T0 e T24.

No grupo 2 (tabela 1), as hemácias, hemoglobina, hematócrito, plaquetas, PCT e VPM tiveram diminuição dos seus valores 24 horas após admissão, com todos os valores abaixo dos valores de referência. O VCM, CHCM, RDW e PDW não demonstraram diferenças dos valores entre os tempos, com as médias representando hemácias normocíticas e hipocrômicas, e valores aumentados de RDW.

Na comparação entre grupos (tabela 1), valores inferiores do número de plaquetas em T24 e RDW em T0 no grupo 2, com diferença significativa $p = 0,003$ e $p = 0,02$ respectivamente, representaram potencial indicador sugestivo de mau prognóstico.

TABELA 1- Distribuição da média e desvio padrão dos parâmetros eritrocitários e plaquetários de cães sobreviventes (grupo 1) e não sobreviventes (grupo 2) no momento da admissão (T0) e após 24 horas (T24) e comparação estatística entre grupos, com significância <0,05

Variáveis	Referência	Tempos de coleta	Grupo 1	Grupo 2	p
Hemácias ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	5,5-8,5	T0	5,55 \pm 1,14 ^A	5,0 \pm 2,0 ^A	0,38
		T24	4,89 \pm 0,88 ^A	4,1 \pm 1,0 ^A	0,11
Hemoglobina (g/dL)	12-18	T0	12,1 \pm 2,7 ^A	11,1 \pm 4,9 ^A	0,48
		T24	10,5 \pm 2,34 ^A	9,0 \pm 2,0 ^A	0,19
Hematócrito (%)	37-55	T0	39,5 \pm 8,0 ^A	36,0 \pm 15,2 ^A	0,87
		T24	34,3 \pm 6,7 ^A	29,6 \pm 7,5 ^A	0,16
VCM (fL)	60-77	T0	71,3 \pm 4,8 ^A	71,0 \pm 4,5 ^A	0,88
		T24	70,3 \pm 5,3 ^A	70,9 \pm 4,1 ^A	0,81
CHCM (%)	32-36	T0	30,6 \pm 1,3 ^A	30,7 \pm 1,4 ^A	0,89
		T24	30,6 \pm 1,4 ^A	30,9 \pm 1,6 ^A	0,63
Plaquetas ($10^3/\mu\text{L}$)	200-500	T0	331 \pm 128 ^A	268 \pm 155 ^A	0,33
		T24	372 \pm 151 ^A	140 \pm 109 ^B	0,003
RDW (%)	12-15	T0	16,0 \pm 0,4 ^A	15,2 \pm 0,7 ^B	0,02
		T24	15,6 \pm 1,7 ^A	15,3 \pm 0,6 ^A	0,57
PDW (%)	19,7-20,8	T0	16,0 \pm 0,4 ^A	16,4 \pm 0,5 ^A	0,08
		T24	16,1 \pm 0,4 ^A	16,6 \pm 0,2 ^B	0,006
PCT (%)	0,31-0,44	T0	0,334 \pm 0,122 ^A	0,281 \pm 0,162 ^A	0,4
		T24	0,349 \pm 0,132 ^A	0,129 \pm 0,106 ^B	0,002
VPM (%)	6,7-11,1	T0	10,0 \pm 0,9 ^A	10,3 \pm 0,6 ^A	0,42
		T24	9,3 \pm 0,7 ^A	8,8 \pm 0,3 ^A	0,11

FONTE- O autor (2017).

Letras sobrescritas maiúsculas iguais indicam igualdade estatística entre as colunas (p<0,05)

VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; RDW: *Red cell Distribution Width*; PDW: *Platelet Distribution Width*; PCT: Plaquetócrito; VPM: Volume Plaquetário Médio

Em relação ao número de leucócitos totais no grupo 1 (tabela 2), as médias alcançaram valores menores em T0, com decréscimo em T24. Em relação ao número de neutrófilos, as médias alcançaram valores menores em T24. Em relação ao número de linfócitos, as médias alcançaram valores menores em T0 com recuperação nos tempos seguintes. A média de PPT foi próxima ao limite inferior de normalidade no dia da admissão, com hipoproteïnemia em T24.

No grupo 2 (tabela 2), a contagem diferencial de leucócitos foi inviabilizada nesses animais, pois apresentaram leucopenia intensa em ambos os tempos.

Ambos tiveram média de número de leucócitos totais abaixo da normalidade, sendo a leucopenia mais intensa no grupo 2 com significância de $p=0,006$.

TABELA 2- Distribuição da média e desvio padrão dos parâmetros leucocitários, proteínas plasmáticas totais e fibrinogênio de cães sobreviventes (grupo 1) e cães não sobreviventes (grupo 2) no momento da admissão (T0) e após 24 horas (T24), e comparação estatística entre grupos, com significância $<0,05$

Variáveis	Referência	Tempos de coleta	Grupo 1	Grupo 2	p
Leucócitos totais ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	6,0-17,0	T0	5,7 \pm 3,8 ^A	1,0 \pm 0,7 ^B	0,006
		T24	4,4 \pm 3,1 ^A	0,6 \pm 0,1 ^B	0,001
Bastonetes (/ μL)	0-300	T0	60,8 \pm 112,1	-	-
		T24	16,5 \pm 29,1	-	-
Neutrófilos (/ μL)	3000-11500	T0	4521 \pm 3439	-	-
		T24	2557 \pm 2507	-	-
Eosinófilos (/ μL)	100-1250	T0	196 \pm 346	-	-
		T24	281 \pm 447	-	-
Linfócitos (/ μL)	1000-4800	T0	1156 \pm 734	-	-
		T24	1664 \pm 817	-	-
Monócitos (/ μL)	150-1350	T0	396 \pm 363	-	-
		T24	547 \pm 488	-	-
PPT (g/dL)	6,0-8,0	T0	6,0 \pm 0,9 ^A	6,0 \pm 1,5 ^A	0,85
		T24	5,2 \pm 0,7 ^A	4,7 \pm 0,7 ^A	0,18
Fibrinogênio (g/dL)	0,1-0,5	T0	0,7 \pm 0,3 ^A	0,8 \pm 0,2 ^A	0,35
		T24	0,6 \pm 0,3 ^A	0,6 \pm 0,2 ^A	0,97

FONTE- O autor (2017)

Letras sobrescritas maiúsculas iguais indicam igualdade estatística entre as colunas ($p<0,05$)

PPT: Proteínas Plasmáticas Totais;

7 DISCUSSÃO

Em infecções naturais pelo CPV-2, os animais atendidos podem se apresentar em diversos estágios e gravidade da doença, em função de fatores como patogenicidade da cepa, susceptibilidade do hospedeiro, tempo de espera para atendimento ambulatorial e tratamento instituído, entre outros. Dessa maneira, o estudo do prognóstico em infecções naturais inclui a avaliação de parâmetros laboratoriais principalmente no momento do atendimento dos animais, assim como no momento da alta médica ou óbito. No presente estudo 5 animais apresentaram com evolução desfavorável, 4 foram a óbito após 24 horas da admissão, enquanto a maioria dos animais sobreviventes receberam alta médica após 72 horas definindo, assim, os tempos do estudo. A alta mortalidade após 24 horas foi descrita por outros

autores, principalmente em animais com manifestações clínicas graves, como desidratação intensa e choque hipovolêmico ou séptico, apesar do tratamento instituído (APPEL *et al.*, 1979; BHAT *et al.*, 2013). Com isso, exames laboratoriais permitem a identificação precoce desses animais, e são ferramentas para intensificar a terapia e possivelmente reduzir a mortalidade.

No grupo 1, foi possível observar anemia discreta através do número de hemácias e hematócrito, pois estes animais apresentaram hemorragia intestinal de menor intensidade com perda discreta de eritrócitos e componentes sanguíneos. Cães infectados pelo CPV-2 geralmente apresentam algum grau de anemia em função da hemorragia intestinal, que varia conforme a patogenicidade viral e susceptibilidade do hospedeiro (FERREIRA *et al.*, 2004; PRITTIE, 2004; SCHOEMAN *et al.*, 2013). No grupo 2, a série vermelha não demonstrou diferença entre o dia do atendimento e o óbito, entretanto com valores no número de hemácias, concentração de hemoglobina e hematócrito menores em comparação aos sobreviventes, evidenciando hemorragia intestinal mais intensa e persistente em cães não sobreviventes. Apesar disso, os valores da série vermelha não diferiram significativamente entre os grupos e por isso não podem ser utilizados como preditores de prognóstico.

A anemia é um achado comum na parvovirose e varia conforme a intensidade da hemorragia intestinal e pode ser influenciada pela fluidoterapia associada (JACOBS *et al.*, 1980; SCHOEMAN *et al.*, 2013; SHAH *et al.*, 2013), e apesar do vírus infectar e causar mielossupressão nos precursores eritróides da medula óssea, é improvável que esta seja a causa da diminuição da linhagem eritrocitária, já que as hemácias possuem meia vida longa quando comparada com o tempo de mielossupressão do vírus (POTGIETER *et al.*, 1981; PARRISH, 1995; FERREIRA *et al.*, 2004; GODDARD e LEISEWITZ, 2010).

Sabe-se que o vírus interfere na produção medular de megacariócitos e de outras linhagens, e a replicação viral e destruição em epitélio intestinal resulta em consumo plaquetário associado à hemorragia, no entanto, nos animais sobreviventes essas apresentações são mais brandas (PARRISH, 1995; FERREIRA, 2004; GODDARD e LEISEWITS, 2010; MENDES *et al.*, 2011). No grupo 2, houve trombocitopenia em T24, associada ao momento do óbito desses cães, portanto considerado indicativo de mau prognóstico. A trombocitopenia ocorre por associação de fatores, como depressão medular intensa, ação direta do vírus ou componentes

imunológicos em plaquetas ou endotélio vascular e consumo intenso na parede intestinal lesionada. A trombocitopenia também afeta a permeabilidade vascular, facilitando a saída do vírus para fora dos vasos e disseminação no organismo (GODDARD e LEISEWITZ, 2010). Em casos mais graves de destruição do epitélio intestinal também há maior consumo de plaquetas, a fim de inibir o sangramento e reparar o dano tecidual, em conjunto com a supressão de megacariócitos na medula óssea a diminuição do número de plaquetas torna-se mais intensa (MENDES *et al.*, 2011; SCHOEMAN *et al.*, 2013). A comparação entre grupos demonstrou que cães não sobreviventes possuem número de plaquetas significativamente inferior aos sobreviventes ($p=0,003$) e estão trombocitopênicos, sendo considerada variável com potencial preditor de prognóstico mau. Outro fator que pode exacerbar a trombocitopenia é o fato do CPV-2 também predispor estados de hipercoagulabilidade e consequentemente consumo exacerbado de plaquetas, visto que há alta prevalência clínica de trombose e flebite observada em cães infectados (OTTO *et al.*, 2000).

No grupo 1, os resultados indicaram que o pico da leucopenia ocorre em 24 horas após a admissão. Portanto, a normalização do número de leucócitos após 24 horas pode ser considerado como índice de bom prognóstico. A leucopenia é um achado comum na protoparvovirose, evidente nos primeiros quatro a cinco dias após contato com o agente (APPEL *et al.*, 1978). A recuperação da leucopenia indica a resolução da mielossupressão causada pelo CPV-2, demanda tecidual por leucócitos menos intensa, e também maior resistência desses hospedeiros frente à infecção (GODDARD *et al.*, 2008). Esses fatores permitem que a regeneração medular supere o consumo no epitélio intestinal, e sugere bom prognóstico.

No grupo 1, a neutropenia esteve presente após 24 horas da admissão. Os neutrófilos são os leucócitos predominantes no cão e constituem a primeira linha de defesa, principalmente contra bactérias, portanto a mudança no seu número altera diretamente a contagem total de leucócitos (JACOBS *et al.*, 1980; OTTO *et al.*, 1997). A reserva medular de neutrófilos é capaz de suprir o organismo por 5 dias, tempo de latência para a neutropenia ocorrer após o contato com o agente. A neutropenia na infecção pelo CPV-2 é atribuída ao consumo intenso pela parede intestinal, destruição dos mieloblastos na medula óssea e marginação de neutrófilos devido à endotoxemia (SCHOEMAN *et al.*, 2013; SHAH *et al.*, 2013). O desvio a esquerda degenerativo também foi descrito por Goddard *et al.* (2008) em cães

sobreviventes à infecção pelo *Protoparvovirus*, demonstrando capacidade de regeneração medular frente à infecção.

No grupo 1, o número médio de linfócitos permaneceu próximo aos limites inferiores dos parâmetros de referência em ambos os tempos, porém, sem chegar à linfopenia, contudo, a linfopenia estava presente em vários animais individualmente. A ausência de linfopenia pode ser atribuída a fatores como tempo de evolução da doença antes do encaminhamento ao atendimento médico veterinário, vacinação, infecções concomitantes, duração da viremia, todos fatores relacionados à natureza clínica do trabalho com animais que sofreram infecção natural pelo *Protoparvovirus*, visto que em infecções experimentais a primeira alteração observada é a diminuição do número de linfócitos (O'SULLIVAN *et al.*, 1984). Cães recém infectados que demonstram manifestações clínicas podem ainda não demonstrar leucopenia no momento do atendimento, vindo a apresentar nos dias seguintes.

A linfopenia é um dos achados hematológicos mais comuns na protoparvovirose (POTGIETER *et al.*, 1981; CASTRO *et al.*, 2013; SCHOEMAN *et al.*, 2013), em consequência da predileção do vírus por órgãos linfoproliferativos, responsável pela destruição de linfócitos e consequente imunossupressão.

No grupo 1, os monócitos apresentaram os menores valores no dia da admissão. Os monócitos compõem o sistema fagocitário mononuclear como macrófagos, responsáveis por fagocitose de debris celulares, micro-organismos, secreção de mediadores inflamatórios e apresentação de antígenos aos linfócitos, sendo a monocitose um achado comum em processos inflamatórios agudos e crônicos (WEISS e SOUZA, 2010). Os monócitos compartilham do mesmo precursor medular que os neutrófilos, e antecedem o aparecimento de novos neutrófilos já que o seu tempo de produção de três dias é menor do que o dos neutrófilos (STOCKHAM e SCOTT, 2011). Portanto, é uma variável importante como monitoramento da recuperação do estado leucopênico (GODDARD *et al.*, 2008).

No grupo 1, muitos cães apresentaram eosinopenia ($<0,100$ céls/ μ L) em T0, com a média do número de eosinófilos em T0 próxima ao limite inferior dos parâmetros de referência. A eosinopenia é atribuída a fatores dependentes da patogenicidade viral como liberação endógena de cortisol em processos infecciosos, números baixos de linfócitos T e mielossupressão (O'SULLIVAN *et al.*, 1984; YOUNG e MEADOWS, 2010; CASTRO *et al.*, 2013). A ausência de eosinopenia é um bom indicador prognóstico, pois Goddard *et al.* (2008) relatou que animais

gravemente acometidos possuem eosinopenia significativa durante todo o período de internamento.

No grupo 2, a leucopenia grave observada com ausência de sinais de regeneração medular foi um potencial indicador sugestivo de mau prognóstico, como resultado da demanda intensa pela parede intestinal somado à mielossupressão intensa causada pelo CPV-2 nesses animais (JACOBS *et al.*, 1980; RAJAMANICKAM *et al.*, 2017). A alta mortalidade em cães com leucopenia pode ser atribuída a infecções secundárias levando à sepse e à resposta inflamatória sistêmica. O dano causado pelo CPV-2 no epitélio intestinal permite translocação bacteriana, principalmente de *Escherichia coli*, com consequente septicemia por coliformes e, estas bactérias colonizando sobretudo o fígado e os pulmões (PRITTIE, 2004; GODDARD *et al.*, 2008). Outros agentes como *Salmonella spp.*, *Clostridium spp.* e *Campylobacter spp.* também podem estar envolvidos. A resposta inflamatória sistêmica é mediada pela liberação de citocinas pró-inflamatórias como o fator de necrose tumoral (TNF), com aumento significativo da atividade em cães gravemente acometidos (OTTO *et al.*, 1997).

A leucopenia, principalmente por neutropenia e linfopenia, também foi associada como fator de risco de morte dos cães acometidos pelo *Protoparvovirus* por O'Sullivan *et al.* (1984), Potgieter *et al.* (1981) e Goddard *et al.* (2008). Os autores são divergentes ao descrever a relevância do número de neutrófilos e linfócitos em relação ao risco de evoluir de maneira desfavorável, sendo essa diferença atribuída à variedade de cepas circulantes (CPV2a, 2b e 2c) e suas diferentes patogenicidades (GODDARD *et al.*, 2008).

No grupo 1, houve hiperfibrinogenemia em T0 e T24, atribuída ao processo inflamatório em conjunto com a desidratação. A diminuição significativa das concentrações de fibrinogênio nos dias seguintes é atribuída à capacidade do organismo em combater e eliminar o CPV-2, sendo considerado então como indicador de bom prognóstico. O fibrinogênio é uma proteína de fase aguda positiva, e as concentrações plasmáticas aumentam em resposta às citocinas pró-inflamatórias em processos infecciosos, inflamatórios ou trauma (ECKERSALL e BELL, 2010).

No grupo 1, o RDW apresentou-se elevado no momento da admissão. No grupo 2, os valores de RDW não diferiram entre os dias e apresentaram valores

significativamente menores ($p=0,02$) quando comparados com grupo 1 em T24. Portanto, no grupo 1 os valores mais elevados foram determinantes indicadores sugestivos de um bom prognóstico. O RDW é um valor calculado que determina a variação existente no tamanho dos eritrócitos, e o seu aumento está relacionado à presença de macrocitose (STOCKHAM e SCOTT, 2011). É utilizado para detectar e classificar anemias, e para desordens eritrocitárias quando analisado em conjunto com o VCM. Os valores maiores encontrados em animais sobreviventes são indicativos de capacidade de regeneração medular de eritrócitos frente a supressão causada pelo vírus. Um alto RDW em conjunto com baixo VCM são indicadores de doenças hemorrágicas, principalmente quando associados a baixo hematócrito (LIPPI *et al.*, 2009). Essa variável também se relaciona com marcadores inflamatórios como a interleucina-6 e fator de necrose tumoral, já que as citocinas atuam na supressão da maturação na medula óssea e reduzem a meia vida dos eritrócitos, sendo útil no prognóstico de cães com enterite hemorrágica (ARZLAN *et al.*, 2017).

Na comparação dos grupos após 24 horas, os valores de PDW maior e PCT menor no grupo 2 indicam que são variáveis indicadoras sugestivas de mau prognóstico. O PCT, VPM e PDW são importantes indicadores de função e ativação plaquetária, e podem também ser utilizados como marcadores inflamatórios indiretos, já que após as plaquetas serem ativadas, liberam-se substâncias quimiotáticas que facilitam a ligação dos leucócitos na parede do endotélio (ARSLAN *et al.*, 2017). O PDW representa a variação do tamanho plaquetário existente e o seu aumento indica liberação de macroplaquetas pela medula óssea em razão da grande demanda, que ocorre em repostas inflamatórias agudas (BOMMER *et al.*, 2008). O PCT representa a porcentagem de plaquetas em relação ao volume sanguíneo e também é utilizado para avaliar ativação plaquetária. A endotoxemia em cães infectados afeta o valor do PCT, pois em um estudo feito por Yilmaz *et al.* (2008), as endotoxinas diminuíram os valores de PCT e número de plaquetas possivelmente por adesão e agregação plaquetária aumentada pela liberação de grânulos plaquetários pós estimulação. Portanto, o PDW aumentado e PCT diminuído são representativos de mau prognóstico para animais infectados pelo CPV-2.

8 CONCLUSÃO

Na comparação entre grupos em T0, valores menores do número de leucócitos totais e RDW representaram mau prognóstico. Na comparação entre os grupos em T24, valores menores do número de plaquetas, número de leucócitos totais, PDW e PCT representaram mau prognóstico.

Com os resultados obtidos nesse trabalho, foi possível inferir que as análises do hemograma que são capazes de prever prognóstico em cães não sobreviventes são o volume plaquetário médio (VPM), número de leucócitos totais, Red Cell Distribution Width (RDW), plaquetas, Platelet Distribution Width (PDW) e o plaquetócrito (PCT), e podem ser utilizados pelos médicos veterinários a fim de promover um atendimento melhor, com mais acurácia e utilizar meios terapêuticos para reverter as principais alterações, aumentando as chances de sobrevivência dos animais.

REFERÊNCIAS

- APPEL, M. J.; COOPER, B. J.; GREISEN, H.; SCOTT, F.; CARMICHAEL, L. E.. Canine viral enteritis. I. Status report on corona- and parvo-like viral enteritides. **Cornell Veterinary**, v. 69, n. 3, p.123-133, 1979.
- ARSLAN, H. H.; GUZEL, M.; MERAL, Y.; DALGIN, D.; GOKALP, G.; OZCAN, U.. A new approach to blood parameters in dogs with hemorrhagic enteritis. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, p. 01-06, julho 2017. ISSN 1679-9216.
- BERBEE, J. F. P.; HAVEKES, L. M.; RENSEN, P. C. N.. Apolipoproteins modulate the inflammatory response to lipopolysaccharide. **Journal Of Endotoxin Research**, v. 11, n. 2, p.97-103, 1 abr. 2005.
- BOMMER, N. X.; SHAW, D. J.; MILNE, E. M.; RIDYARD, A. E.. Platelet distribution width and mean platelet volume in the interpretation of thrombocytopenia in dogs. **Journal Of Small Animal Practice**, v. 49, n. 10, p.518-524, out. 2008. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-5827.2008.00636.x>.
- BHAT, A.; WADHWA, D.; SINGH, S.; SINGH, I.. Haematological and biochemical analysis in canine enteritis. **Veterinary World**, v. 6, n. 7, p.380-383, 2013.
- BROEK, A. H. M. V. D.. Serum protein electrophoresis in canine parvovirus enteritis. **British Veterinary Journal**, v. 146, n. 3, p.255-259, maio 1990.
- CASTRO, T. X.; GARCIA, R. de C. N. C.; GONÇALVES, L. P. S.; COSTA, E. M.; MARCELLO, G. C. G.; LABARTHE, N. V.; ALMEIDA, F. M. de.. Clinical, hematological, and biochemical findings in puppies with coronavirus and parvovirus enteritis. **Canadian Veterinary Journal**, v. 54, n. 9, p.885-888, set. 2013.
- CERON, J. J.; ECKERSALL, P. D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S.. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n. 2, p.85-99, jun. 2005.
- CHRUSCH, C.; BANDS, C.; BOSE, D; LI, X.; JACOBS, H.; DUKE, K.; BAUTISTA, E.; ESCHUN, G.; LIGHT, R. B.; MINK, S. N.. Impaired Hepatic Extraction and Increased Splanchnic Production Contribute to Lactic Acidosis in Canine Sepsis. **American Journal Of Respiratory And Critical Care Medicine**, v. 161, n. 2, p.517-526, fev. 2000.
- ECKERSALL, P.D.; BELL, R.. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **The Veterinary Journal**, v. 185, n. 1, p.23-27, jul. 2010.
- FERREIRA, R.; BARBOSA, P. R.; GODINHO, E.; COSTA, U. M.; GONZÁLEZ, F. H. D.; FERREIRO, L.. Alterações hemato-bioquímicas em cães jovens com gastroenterite viral: relato de 18 casos. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, v. 2, p.159-163, 2004.

GLICKMAN, L. T.; DOMANSKI, L. M.; PATRONEK, G. J.; VISINTAINER, F.. Breed-related risk factors for canine parvovirus enteritis. **Journal Of The American Veterinary Medical Association**, v. 187, n. 6, p.589-594, set. 1985.

GODDARD, A.; LEISEWITZ, A.I.; CHRISTOPHER, M.M.; DUNCAN, N. M.; BECKER, P. J.. Prognostic Usefulness of Blood Leukocyte Changes in Canine Parvoviral Enteritis. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 2, p.309-316, mar. 2008.

GODDARD, A.; LEISEWITZ, A. L.. Canine Parvovirus. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, v. 40, n. 6, p.1041-1053, nov. 2010.

JACOBS, R. M.; WEISER, M. G.; HALL, R. L.; KOWALSKI, J. J. Clinicopathologic features of canine parvoviral enteritis. **Journal Of The American Animal Hospital Association**, v. 16, n. 1, p.809-814, 1980.

KOCATURK, M.; MARTINEZ, S.; ERALP, O.; TVARIJONAVICIUTE, A.; CERON, J.; YILMAZ, Z... Prognostic value of serum acute-phase proteins in dogs with parvoviral enteritis. **Journal Of Small Animal Practice**, v. 51, n. 9, p.478-483, set. 2010.

KRAUSS, R. M.; GRUNFELD, C.; DOERRLER, W. T.; FEINGOLD, K. R.. Tumor Necrosis Factor Acutely Increases Plasma Levels of Very Low Density Lipoproteins of Normal Size and Composition. **Endocrinology**, v. 127, n. 3, p.1016-1021, set. 1990.

LIPPI, G.; TARGHER, G.; MONTAGNANA, M.; SALVAGNO, G. L.; ZOPPINI, G.; GUIDI, G. C.. Relation Between Red Blood Cell Distribution Width and Inflammatory Biomarkers in a Large Cohort of Unselected Outpatients. **Archive Of Pathology Laboratory Medicine**, v. 133, n. 3, p.628-632, abr. 2009

MACINTIRE, D. K.; SMITH-CARR, S.. Canine Parvovirus.Part II.Clinical Signs, Diagnosis, and Treatment. **Continuing Education Article**, v. 19, n. 3, p.291-302, mar. 1997.

MENDES, R. de S.; SOUZA, A. P. de; SILVA, R. M. N. da; BORGES, O. M. M.; TORRES, L. M.; DANTAS, A. K. F. P.. Perfil hematológico e bioquímico de cães com gastroenterite hemorrágica por parvovirus diagnosticados pelo método de imunocromatografia **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 5, n. 3, p.278-283, 2011.

NAPPERT G., DUNPHY E., RUBEN D., MANN F. A.. Determination of serum organic acids in puppies with naturally acquired parvoviral enteritis. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 66, n. 1, p.15-18. 2002.

O'SULLIVAN, G.; DURHAM, P. J. K.; SMITH, J. R.; CAMPBELL, R. S. F.. Experimentally induced severe canine parvoviral enteritis. **Australian Veterinary Journal**, v. 61, n. 1, p.1-4, jan. 1984.

OTTO, C. M.; DROBATZ, K. J.; SOTER, C.. Endotoxemia and Tumor Necrosis Factor Activity in Dogs With Naturally Occurring Parvoviral Enteritis. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, v. 11, n. 2, p.65-70, mar. 1997.

OTTO, C. M.; RIESER, T. M.; BROOKS, M. B.; RUSSELL, M. W.. Evidence of hypercoagulability in dogs with parvoviral enteritis. **Journal Of The American Veterinary Medical Association**, v. 217, n. 10, p.1500-1504, nov. 2000.

PARRISH, C. R.. Pathogenesis of feline panleukopenia virus and canine parvovirus. **Bailliere's Clinical Haematology**, v. 8, n. 1, p.57-71, mar. 1995.

POTGIETER, L. N. D.; JONES, J. B.; PATTON, C. S; WEBB-MARTIN, T. A. Experimental Parvovirus Infection in Dogs. **Canadian Journal Of Comparative Medicine**, v. 45, n. 1, p.212-216, jul. 1981.

PRITTIE, J. Canine parvoviral enteritis: a review of diagnosis, management, and prevention. **Journal Of Veterinary Emergency And Critical Care**, v. 14, n. 3, p.167-176, set. 2004.

RAJAMANICKAM, K.; KUMAR, RA R.; GOGOI, J.; LEELA, V.; GOWRISHANKAR, S.; PANDIYAN, A. S. S.. Evaluation of hemato-biochemical profile in different age group of dogs affected with haemorrhagic gastroenteritis. **International Journal Of Chemical Studies**, v. 5, n. 4, p.781-783, 2017.

SILVA, I. N. G.; GUEDES, M. I. F.; ROCHA, M. F. G.; MEDEIROS, C. M. O.; OLIVEIRA, L. C.; MOREIRA, O. C.; TEIXEIRA, M. F. S.. Perfil hematológico e avaliação eletroforética das proteínas séricas de cães com cinomose. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 1, p.136-139, fev. 2005.

SCHOEMAN, J. P.; GODDARD, A.; LEISEWITZ, A. L. Biomarkers in canine parvovirus enteritis. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 61, n. 4, p.217-222, jul. 2013.

SHAH, S. A.; SOOD, N.K.; WANI, N.; GUPTA, K.; SINGH, A. Haemato-biochemical changes in canine parvoviral infection. **Indian J Vet Pathol**, v. 37, n. 2, p.131-133, 2013.

STEVENSON, C. K.; KIDNEY, B. A.; DUKE, T; SNEAD, E. C. R.; MAINAR-JAIME, R. C.; JACKSON, M. L.. Serial blood lactate concentrations in systemically ill dogs. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 36, n. 3, p.234-239, set. 2007.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A.. Leucócitos. In: STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A.. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. Cap. 2. p. 45-89.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A.. Eletrólitos monovalentes e osmolalidade. In: STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A.. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. Cap. 9. p. 412-466.

WEISS, D. J.; SOUZA, C. D.. Monocytes and Macrophages and Their Disorders. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J.. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6. ed. Iowa: Wiley-blackwell, 2010. Cap. 45. p. 298-306.

YILMAZ, Z.; ERALP, O.; ILCOL, Y. O.. Evaluation of platelet count and its association with plateletcrit, mean platelet volume, and platelet size distribution width in a canine model of endotoxemia. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 37, n. 2, p.159-163, jun. 2008. Wiley-Blackwell.

YILMAZ, Z.; SENTURK, S.. Characterisation of lipid profiles in dogs with parvoviral enteritis. **Journal Of Small Animal Practice**, v. 48, n. 11, p.643-650, nov. 2007.

YOUNG, K. M.; MEADOWS, R. L.. Eosinophils and Their Disorders. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J.. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6. ed. Iowa: Wiley-blackwell, 2010. Cap. 43. p. 281-289.

CAPÍTULO 2: PARÂMETROS BIOQUÍMICOS SANGUÍNEOS PREDITIVOS DE PROGNÓSTICO EM CÃES COM GASTROENTERITE DECORRENTE DO PROTOPARVOVIRUS CANINO

RESUMO

As gastroenterites em cães são doenças multifatoriais muito frequentes na clínica de pequenos animais, responsáveis por mortalidade principalmente em animais jovens. Dentre os principais agentes etiológicos está o parvovírus canino tipo 2. O CPV-2 é um vírus DNA fita simples, não envelopado, resistente no ambiente, altamente transmissível que possui tropismo e efeito citotóxico em tecidos como epitélio intestinal, órgãos linfoides e medula óssea. Dessa forma, maneiras para definir um prognóstico confiável são importantes para acessar o estado crítico do animal e permitir alterações na conduta terapêutica a tempo, através de exames laboratoriais que são técnicas disponíveis com resultados rápidos e acessíveis. Portanto, o objetivo desse trabalho foi determinar as alterações bioquímicas de cães infectados naturalmente pelo CPV-2 e a importância prognóstica associada. O estudo incluiu 32 cães atendidos no hospital veterinário da UFPR- setor Palotina, hospitalizados com quadros de gastroenterite e diagnosticados com CPV-2 pelo teste imunocromatográfico. Amostras sanguíneas foram coletas no dia da admissão e a cada 24 horas de internação, para análises bioquímicas no laboratório clínico veterinário da mesma instituição, que incluíram albumina, proteínas totais, globulinas, ALT, AST, FA, GGT, ureia, creatinina, triglicerídeos, colesterol, glicose, lactato, cálcio e fósforo. Na comparação entre grupos em T0, os animais não sobreviventes apresentaram valores maiores de ureia, triglicerídeos e fósforo; em T24 os não sobreviventes tiveram valores menores de albumina e proteínas totais, e valores maiores de FA, ureia e triglicerídeos. Com isso, é possível concluir que as diferenças nos valores bioquímicos no prognóstico de animais sobreviventes e não sobreviventes, que devem ser utilizados pelos médicos veterinários como auxílio para o acompanhamento e tratamento dos cães, a fim de reduzir o número de óbitos.

Palavras chave: Protoparvovirose, bioquímica sérica, prognóstico

CHAPTER 2: PROGNOSTIC PREDICTIVE BLOOD BIOCHEMICAL PARAMETERS IN DOGS WITH GASTROENTERITIS DUE TO CANINE *PROTOPARVOVIRUS*

ABSTRACT

Gastroenteritis in dogs are very frequent multifactorial diseases in the small animal clinic, responsible for mortality mainly in young animals. Among the major etiological agents is canine *Protoparvovirus* type 2. CPV-2 is a non-enveloped, environmentally resistant, highly transmissible, single-stranded DNA virus that has tropism and cytotoxic effect in tissues such as intestinal epithelium, lymphoid organs and bone marrow. In more severe cases, the animals require rapid hospital care, since they usually die from hypovolemic shock or septic shock after 24 hours of clinical signs. Thus, ways to define a reliable prognosis are important in accessing the critical condition of the animal and allowing changes in therapeutic management in time, through laboratory tests that are available techniques with fast and accessible results. Therefore, the aim of this study was to determine the biochemical alterations of dogs naturally infected by CPV-2 and the associated prognostic importance. The study included 32 dogs attended at the UFPR-Palotina veterinary hospital, hospitalized with gastroenteritis and diagnosed with CPV-2 by the immunochromatographic test. Blood samples were collected on the day of admission and every 24 hours for biochemical analyzes in the veterinary clinical laboratory of the same institution, which included albumin, total proteins, globulins, ALT, AST, FA, GGT, urea, creatinine, triglycerides, cholesterol, glucose, lactate, calcium and phosphorus. In the comparison between groups in T0, the non-surviving animals had higher values of urea, triglycerides and phosphorus; in T24 the non-survivors had lower values of albumin and total proteins, and higher values of FA, urea and triglycerides; Thus, it is possible to conclude that differences in biochemical values in the prognosis of surviving and non-surviving animals, which should be used by veterinarians as an aid to the monitoring and treatment of dogs, in order to reduce the number of deaths.

Key words: Protoparvovirus, biochemistry, prognostic

9 INTRODUÇÃO

As gastroenterites em cães são doenças multifatoriais muito frequentes na clínica de pequenos animais, responsáveis por mortalidade principalmente em animais jovens. Dentre os principais agentes etiológicos está o parvovírus canino tipo 2 (CPV-2) (DECARO e BUONAVOGLIA, 2012).

O CPV-2 é um vírus DNA fita simples, não envelopado, resistente no ambiente, que apresenta taxa de substituição genômica similar a um vírus RNA (PAES, 2016). A parvovirose é uma doença infectocontagiosa aguda de origem viral, que possui tropismo e efeito citotóxico em tecidos com alta taxa de multiplicação, principalmente epitélio intestinal, órgãos linfoides e medula óssea, afetando de forma intensa as linhagens sanguíneas (PRITTIE, 2004).

No Brasil, os primeiros casos foram identificados em 1980 na cidade de Campinas-SP (PAES, 2016). Desde o seu descobrimento, o CPV-2 passou por rápidas mutações, gerando dois novos tipos antigênicos, o CPV-2a e CPV-2b, e atualmente há uma terceira variante caracterizada CPV-2c, identificada primeiramente na Itália em 2000 e no Brasil em 2008 no Rio Grande do Sul, permitindo uma maior disseminação e prevalência dessa enfermidade na população susceptível (MIRANDA e THOMPSON, 2016; STRECK *et al.*, 2009). As vacinas disponíveis atualmente contem a variante CPV-2 original ou a CPV-2b, e ainda não há uma vacina específica para o subtipo CPV-2c, gerando divergências sobre o efeito protetor contra as cepas heterólogas do CPV-2 (GODDARD e LEISEWITZ, 2010; WILSON *et al.*, 2014).

Os bioquímicos séricos são análises que permitem a avaliação de alterações em diversos sistemas, e por isso constitui uma ferramenta de auxílio no diagnóstico de doenças, quando em conjunto com outros dados clínicos e exames auxiliares, capaz de fornecer resultados rápidos de baixo custo. Além de diagnóstico, permite ao veterinário avaliar a progressão da doença, resposta ao tratamento instituído e determinar um provável prognóstico.

Apesar de haver muitos estudos, o CPV-2 ainda esta muito presente principalmente entre animais jovens com menos de 6 meses, possui alta morbidade entre a população canina e atinge alta mortalidade quando o tratamento não é instituído (GLICKMAN *et al.*, 1985). Portanto, o objetivo desse trabalho é determinar

as alterações em exames bioquímicos séricos em cães infectados naturalmente pelo CPV-2 e com isso apresentar quais parâmetros são capazes de predizer prognóstico.

10 MATERIAL E MÉTODOS

10.1 ANIMAIS E CRITÉRIO DE INCLUSÃO

Este estudo foi aprovado previamente pelo Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Paraná – setor Palotina, com número de protocolo 28/2016.

O estudo incluiu 32 cães atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal do Paraná (UFPR)- setor Palotina, independente de idade, raça, sexo, histórico de vacinação e tempo de apresentação clínica, com manifestações clínicas de diarreia, diarreia sanguinolenta e vômito, que necessitavam de hospitalização imediata. No momento do atendimento clínico, era realizado um teste imunocromatográfico para detecção do *Protoparvovírus* canino, e quando positivo, os animais foram incluídos no estudo e posteriormente divididos em dois grupos: animais com gastroenterite pelo *Protoparvovírus* canino sobreviventes (Grupo 1) e gastroenterite pelo *Protoparvovirus* canino não sobreviventes (Grupo 2).

Amostras de sangue no momento do atendimento clínico, e a cada 24 horas de internação repetiam-se as coletas de sangue para um acompanhamento da evolução diária da doença, até o animal receber alta médica ou ir a óbito.

10.2 ANÁLISES LABORATORIAIS

As amostras de sangue foram coletadas por punção de veia jugular externa ou cefálica, acondicionadas em tubos sem anticoagulante. As amostras foram enviadas ao Laboratório Clínico Veterinário da UFPR- Setor Palotina onde foram processadas imediatamente após a coleta.

Para as análises bioquímicas, o tubo contendo sangue com ativador de coágulo foi centrifugado a 3000 rpm por 5 minutos, e o soro resultante separado e armazenados em tubos Eppendorf. As mensurações de Proteínas Plasmáticas (PT) (g/dL), albumina (g/dL), alanina aminotransferase (ALT) (UI/L), aspartato

aminotransferase (AST) (UI/L), fosfatase alcalina (FA) (UI/L), gama glutamiltranspeptidase (GGT) (UI/L), ureia (mg/dL), creatinina (mg/dL), glicose (mg/dL), triglicerídeos (mg/dL), colesterol (mg/dL), cálcio (mg/dL), fósforo (mg/dL) e lactato (mmol/L) foram determinadas de acordo com a bula de kits comerciais LabTest® em espectrofotômetro automático BS-120 Mindray®. As globulinas (g/dL) foram determinadas pela subtração da concentração de albumina da concentração das proteínas totais.

Para detecção do *Protoparvovírus* canino, foi realizado teste imunocromatográfico para antígeno viral fecal com kits comerciais®, de acordo com o indicado na bula do fabricante.

O protocolo terapêutico adotado foi de acordo com descrito na literatura para cães com gastroenterite decorrente do *Protoparvovírus* canino, que incluíram fluidoterapia, antieméticos, antibioticoterapia e nutrição microenteral até a remissão dos vômitos e diarreia ou óbito.

Os tempos de coleta foram definidos conforme as horas de internação. O momento da admissão foi admitido como T0, com colheitas a cada 24 horas, denominadas T24, T48 e T72, com T72 sendo o último tempo de coleta no grupo 1, visto que após esse período a maioria dos animais recebeu alta. No grupo 2, o T24 foi definido como o último tempo de coleta, em função da ocorrência de óbito em 4 dos 5 cães incluídos. Portanto, utilizou-se os tempos T0 e T24 de cada grupo para padronização dos dados e procedimento das análises estatísticas. Portanto, utilizou-se os tempos T0 e T24 de cada grupo para padronização dos dados e procedimento das análises estatísticas.

10.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para os dados paramétricos foi realizada a análise de variância ANOVA. Após a análise de variância, em seguida para a comparação entre grupos, utilizou-se o teste t com nível de significância $p < 0,05$.

11 RESULTADOS

TABELA 3- Distribuição da média e desvio padrão das variáveis bioquímicas em cães sobreviventes e não sobreviventes no momento da admissão (T0) e após 24 horas (T24) e comparação entre os grupos com significância <0,05

Variáveis	Referência	Tempos de coleta	Grupo 1	Grupo 2	p
Albumina (g/dL)	2,6-3,3	T0	2,3±0,5 ^A	2,0±0,7 ^A	0,25
		T24	2,1±0,5 ^A	1,4±0,3 ^B	0,01
Proteína total (g/dL)	5,4-7,1	T0	4,8±0,8 ^A	4,4±1,5 ^A	0,73
		T24	4,4±0,7 ^A	4,1±1,1 ^B	0,04
Globulinas (g/dL)	2,7-4,4	T0	2,5±0,5	2,4±0,8	0,77
		T24	2,3±0,5	2,7±0,7	0,24
ALT (UI/L)	21-73	T0	64,9±32,5	67,5±40,5	0,33
		T24	54,4±62,9	74,7±75,1	0,51
AST (UI/L)	21-45	T0	60,2±34,5	54±14,1	0,7
		T24	36,2±16,2	50±28,4	0,37
FA (UI/L)	20-156	T0	169,2±76,9 ^A	237±137,1 ^A	0,34
		T24	199,5±140 ^A	510,8±501,7 ^B	0,002
GGT (UI/L)	1,2-6,4	T0	5,9±1,0	7,4±2,3	0,16
		T24	6,6±1,6	6,2±1,9	0,59
Ureia (mg/dL)	21,4-59,9	T0	27,5±15,8 ^A	72,8±34,3 ^B	0,003
		T24	18,8±7,8 ^A	82,8±52,5 ^B	0,04
Creatinina (mg/dL)	0,5-1,5	T0	0,5±0,1 ^A	1,2±0,4 ^B	0,002
		T24	0,5±0,1 ^A	1,1±0,9 ^A	0,48
Triglicerídeos (mg/dL)	20-112	T0	75,6±26,9 ^A	150,8±69,6 ^B	0,008
		T24	81,1±28,9 ^A	209,2±87,2 ^B	<0,001
Colesterol (mg/dL)	135-270	T0	212,1±68,1	209,6±109,8	0,94
		T24	204,5±54,2	225,6±53,1	0,43
Glicose (mg/dL)	70-110	T0	158,3±110,1	117±66	0,06
		T24	128,3±56,4	101,8±67,6	0,05
Lactato (mmol/L)	0,2-1,4	T0	2,8±1,0 ^A	4,3±1,6 ^B	0,02
		T24	2,6±0,9 ^A	2,2±0,5 ^A	0,75
Cálcio (mg/dL)	9,0-11,3	T0	9,3±1,1	8,6±1,1	0,23
		T24	9,2±1,0	9,4±1,2	0,82
Fósforo (mg/dL)	2,6-6,2	T0	7,12±1,59 ^A	9,55±3,38 ^B	0,02
		T24	6,58±1,99 ^A	7,99±3,76 ^A	0,25

FONTE- O autor (2017).

ALT: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase; FA: fosfatase alcalina; GGT: gama glutamiltranspeptidase

Letras sobrescritas maiúsculas iguais indicam igualdade estatística entre as colunas (p<0,05);

No grupo 1 (Tabela 3), a concentração de albumina decaiu conforme o tempo após a admissão, estando hipoalbuminemia presente em T24. Em relação as concentrações de proteínas totais, houve hipoproteinemia em ambos os tempos.

Hipoglobulinemia esteve presente em todos os momentos. A atividade sérica da ALT apresentou valores dentro da normalidade em todos os tempos. A atividade sérica da AST apresentou média acima da normalidade em T0. A atividade sérica de FA apresentou atividade acima do valor de referência em todos os momentos. A ureia teve diminuição, com as médias abaixo da normalidade em T24, e a creatinina com a média das concentrações dentro da normalidade. O colesterol demonstrou diminuição das suas concentrações, e as concentrações dentro da normalidade. Verificou-se hiperglicemia em T0 e T24.

No grupo 2 (tabela 3), a hipoalbuminemia foi marcante em todos os momentos. A proteína total demonstrou intensa hipoproteinemia em ambos os momentos. Em relação a atividade das enzimas hepáticas, a média de ALT acima do valor de referência em T24 e aumento de AST e FA em ambos os tempos. As concentrações de ureia e creatinina mantiveram-se acima do valor de referência em ambos os momentos. A concentração média de triglicerídeos teve um aumento após 24 horas, com os valores acima do valor de referência em ambos os tempos. O colesterol apresentou resultados dentro do valor de referência. A glicose obteve média em T0 levemente acima do valor de referência. O cálcio apresentou hipocalcemia leve em T0. O fósforo apresentou hiperfosfatemia em T0 e T24.

Na comparação dos animais sobreviventes e não sobreviventes no momento da admissão (T0) (tabela 3), a ureia e creatinina ($p=0,003$ e $p=0,002$, respectivamente); a concentração média de triglicerídeos ($p=0,008$); os níveis de lactato ($p=0,026$) e a concentração média de fósforo ($p=0,02$) apresentaram resultados mais elevados no grupo 2.

Na comparação dos animais sobreviventes e não sobreviventes após 24 horas da admissão (T24) (tabela 3), os cães não sobreviventes apresentaram valores significativamente menores nas concentrações de albumina ($p=0,01$) e proteína total ($p=0,04$), e valores significativamente maiores de FA ($p=0,002$), ureia ($p=0,04$) e triglicerídeos ($p<0,001$).

12 DISCUSSÃO

A hipoalbuminemia e hipoproteinemia após 24 horas da admissão foram indicativas de mau prognóstico. A perda proteica foi mais evidente no grupo 2 após 24 horas. Isso indica que nesses animais as perdas são mais intensas e ocorrem em

menor tempo, enquanto que no grupo 1 continuam a perder proteínas mesmo após 72 horas, no entanto de uma forma mais leve. Enteropatias graves geralmente estão associadas a hipoproteïnemia, hipoalbuminemia e hipoglobulinemia (BROEK, 1990; PARRISH, 1995; SILVA *et al.*, 2005). A perda proteica nos casos de gastroenterite viral está associada à inflamação causada pelo CPV-2 na mucosa intestinal, que compromete a absorção de proteínas, assim como pela perda por hemorragia intestinal e anorexia, além da influência da rehidratação obtida durante a terapia do animal (GODDARD e LEISEWITZ, 2010; JACOBS *et al.*, 1980; RAJAMANICKAM *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2005). Portanto, a hipoalbuminemia intensa após 24 horas da admissão é um marcador potencial indicador de mau prognóstico. A lesão de hepatócitos por hipóxia e a liberação das enzimas persiste aumentada no grupo 2, enquanto diminui no grupo 1. Portanto, este fato é representativo de hipóxia hepática mais grave e persistente, em função da patogenicidade mais intensa e não responsiva ao tratamento instituído (SHAH *et al.*, 2013; RAJAMANICKAM *et al.*, 2017).

No grupo 2, a concentração mais elevada de ureia e creatinina representa desidratação mais intensa não responsiva à correção volêmica com taxa de filtração glomerular permanecendo reduzida (FERREIRA *et al.*, 2004; GODDARD e LEISEWITZ, 2010; MENDES *et al.*, 2011). A concentração de ureia aumentada sem aumento concomitante da concentração de creatinina é observada em casos de catabolismo proteico exacerbado, presente em estados febris, em conjunto com a taxa de filtração glomerular reduzida em função da desidratação (BHAT *et al.*, 2013). Portanto, valores altos de ureia são potenciais indicadores de mau prognóstico, principalmente quando persistem aumentados durante os dias de internamento. A creatinina mais elevada no grupo 2 no momento da admissão é um indicativo sugestivo de mau prognóstico. A desidratação em conjunto com taxa de filtração glomerular reduzida é responsável por elevar as concentrações de creatinina (PRITTIE, 2004).

As médias da concentração de triglicerídeos dentro dos parâmetros de referência em T0 no grupo 1, tiveram aumento leve após 24 horas, em contraste com as concentrações maiores acima da normalidade no grupo 2, sugerindo alteração no metabolismo lipídico nesses cães. A mudança mais comum em processos inflamatórios infecciosos agudos no metabolismo lipídico é a

hipertrigliceridemia (BERBEE *et al.*, 2005; BHAT *et al.*, 2013). Os valores de triglicerídeos acima da normalidade foram indicativos de mau prognóstico no dia da admissão e após 24 horas. Em infecções pelo CPV-2, a hipertrigliceridemia é resultado do estímulo hepático para síntese de ácidos graxos e supressão da oxidação dos mesmos pelo fator de necrose tumoral α (TNF α), diminuição da ação lipase em tecido adiposo e diminuição da utilização de triglicerídeos em resposta às endotoxinas (KRAUSS *et al.*, 1990; PRITTIE, 2004; YILMAZ e SENTURK, 2007).

No grupo 2, os níveis da concentração de colesterol apresentaram um leve aumento após 24 horas. Concentrações maiores de colesterol, após 24 horas da admissão, foram indicativos significativos de mau prognóstico. Esses resultados foram diferentes no estudo realizado por Yilmaz e Senturk (2007), onde a concentração de colesterol apresentou quedas significativas em cães não sobreviventes acometidos pelo CPV-2. Segundo esse estudo, o colesterol total possui um papel importante em cães gravemente acometidos. A hipocolesterolemia, em condições inflamatórias com ocorrência de sepse, septicemia e endotoxemia, é resultante da capacidade das lipoproteínas em ligar-se a porção bioativa das endotoxinas (LPS) e neutralizarem seus efeitos tóxicos regulando, dessa forma, a resposta inflamatória sistêmica e a liberação de TNF α (CASTRO *et al.*, 2013; OTTO *et al.*, 1997). Os resultados divergentes podem ser explicados pelo número pequeno de animais presentes no grupo 2 no período deste estudo; pelo caráter agudo da apresentação da afecção ou pela diferença de patogenicidade das cepas de CPV-2 existentes, levando portanto, à necessidade de maior número de estudos para elucidação do comportamento desta variável.

Os resultados demonstram que cães acometidos por CPV-2 podem apresentar leve hiperglicemia no momento da admissão. Os valores da concentração de glicose são influenciados por aumento do cortisol endógeno em processos infecciosos, pois o cortisol cria um estado de resistência à insulina por reduzir o número de transportadores de glicose na membrana das células. Nos casos iniciais de sepse, pode haver hiperglicemia devido a resistência à insulina gerada pelas endotoxinas (FERREIRA *et al.*, 2004; STOCKHAM e SCOTT, 2011). Após T0, as concentrações de glicose diminuíram e sua utilidade como prognóstico não foi significativa.

A concentração sérica de lactato apresentou-se como variável capaz de prever prognóstico em T0, com hiperlactatemia significativa no grupo 2, enquanto que no grupo 1 os valores permaneceram dentro da normalidade, Stevenson *et al.* (2007) também relataram que cães que apresentam hiperlactatemia estão mais propensos a prognóstico mau. A hiperlactatemia pode ocorrer em casos de distribuição inadequada de oxigênio, pois em condições anaeróbicas o catabolismo do piruvato é desviado para produzir lactato, assim, a concentração de lactato aumentada reflete o grau da desidratação dos cães acometido pela parvovirose (CASTRO *et al.*, 2013; STOCKHAM e SCOTT, 2011). Condições como o choque elevam a concentração de lactato, pela má perfusão dos tecidos periféricos (ALLEN e HOLM, 2008). A sepse também pode ser responsável pela elevação da concentração de lactato por reduzir sua metabolização hepática e outros tecidos em função da endotoxemia (CHRUSCH *et al.*, 2000). Um estudo feito por Nappert *et al.* (2002) relatou que as concentrações de D-lactato, produzidos pelas bactérias intestinais, não tem influência sobre a acidose em cães acometidos pelo CPV-2.

A hiperfosfatemia esteve presente em todos os tempos em ambos os grupos, com maior intensidade no grupo 2. Assim como a ureia e creatinina, a hiperfosfatemia está ligada à baixa taxa de filtração glomerular secundária a desidratação (GODDARD e LEISEWITZ, 2010; JACOBS *et al.*, 1980). A hiperfosfatemia em conjunto com as outras alterações sistêmicas causadas pelo CPV-2, acarreta evolução desfavorável, de forma que a terapia para correção da hiperfosfatemia deve ser considerada no momento da admissão, para obtenção de maior índice de sucesso no tratamento destes animais.

13 CONCLUSÃO

Na comparação entre grupos em T0, valores maiores de ureia, triglicerídeos e fósforo representaram potencial indicador de mau prognóstico. Em T24, valores menores de albumina e proteínas totais, e valores maiores de FA, ureia e triglicerídeos representaram potencial indicador de mau prognóstico.

Com os resultados obtidos nesse trabalho, foi possível inferir as análises bioquímicas que são capazes de prever prognóstico em cães acometidos pelo CPV-2, que podem ser utilizados pelos veterinários a fim de promover um

atendimento melhor, com mais acurácia e utilizar meios terapêuticos para reverter as principais alterações, aumentando as chances de sobrevivência dos animais.

REFERÊNCIAS

ALLEN, S. E.; HOLM, J. L.. Lactate physiology and clinical utility. **Journal Of Veterinary Emergency And Critical Care**, v. 18, n. 2, p.123-132, abr. 2008.

ARSLAN, H. H.; GUZEL, M.; MERAL, Y.; DALGIN, D.; GOKALP, G.; OZCAN, U.. A new approach to blood parameters in dogs with hemorrhagic enteritis. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, p. 01-06, julho 2017. ISSN 1679-9216.

BERBEE, J. F. P.; HAVEKES, L. M.; RENSEN, P. C. N.. Apolipoproteins modulate the inflammatory response to lipopolysaccharide. **Journal Of Endotoxin Research**, v. 11, n. 2, p.97-103, 1 abr. 2005.

BOMMER, N. X.; SHAW, D. J.; MILNE, E. M.; RIDYARD, A. E.. Platelet distribution width and mean platelet volume in the interpretation of thrombocytopenia in dogs. **Journal Of Small Animal Practice**, v. 49, n. 10, p.518-524, out. 2008. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-5827.2008.00636.x>.

BHAT, A.; WADHWA, D.; SINGH, S.; SINGH, I.. Haematological and biochemical analysis in canine enteritis. **Veterinary World**, v. 6, n. 7, p.380-383, 2013.

BROEK, A. H. M. V. D.. Serum protein electrophoresis in canine parvovirus enteritis. **British Veterinary Journal**, v. 146, n. 3, p.255-259, maio 1990.

CASTRO, T. X.; GARCIA, R. de C. N. C.; GONÇALVES, L. P. S.; COSTA, E. M.; MARCELLO, G. C. G.; LABARTHE, N. V.; ALMEIDA, F. M. de.. Clinical, hematological, and biochemical findings in puppies with coronavirus and parvovirus enteritis. **Canadian Veterinary Journal**, v. 54, n. 9, p.885-888, set. 2013.

CHRUSCH, C.; BANDS, C.; BOSE, D; LI, X.; JACOBS, H.; DUKE, K.; BAUTISTA, E.; ESCHUN, G.; LIGHT, R. B.; MINK, S. N.. Impaired Hepatic Extraction and Increased Splanchnic Production Contribute to Lactic Acidosis in Canine Sepsis. **American Journal Of Respiratory And Critical Care Medicine**, v. 161, n. 2, p.517-526, fev. 2000.

FERREIRA, R.; BARBOSA, P. R.; GODINHO, E.; COSTA, U. M.; GONZÁLEZ, F. H. D.; FERREIRO, L.. Alterações hemato-bioquímicas em cães jovens com gastroenterite viral: relato de 18 casos. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, v. 2, p.159-163, 2004.

GODDARD, A.; LEISEWITZ, A. L.. Canine Parvovirus. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, v. 40, n. 6, p.1041-1053, nov. 2010.

JACOBS, R. M.; WEISER, M. G.; HALL, R. L.; KOWALSKI, J. J. Clinicopathologic features of canine parvoviral enteritis. **Journal Of The American Animal Hospital Association**, v. 16, n. 1, p.809-814, 1980.

KRAUSS, R. M.; GRUNFELD, C.; DOERRLER, W. T.; FEINGOLD, K. R.. Tumor Necrosis Factor Acutely Increases Plasma Levels of Very Low Density Lipoproteins of Normal Size and Composition. **Endocrinology**, v. 127, n. 3, p.1016-1021, set. 1990.

MACINTIRE, D. K.; SMITH-CARR, S.. Canine Parvovirus.Part II.ClinicalSigns, Diagnosis, and Treatment. **Continuing Education Article**, v. 19, n. 3, p.291-302, mar. 1997.

MENDES, R. de S.; SOUZA, A. P. de; SILVA, R. M. N. da; BORGES, O. M. M.; TORRES, L. M.; DANTAS, A. K. F. P.. Perfil hematológico e bioquímico de cães com gastroenterite hemorrágica por parvovirus diagnosticados pelo método de imunocromatografia **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 5, n. 3, p.278-283, 2011.

NAPPERT G., DUNPHY E., RUBEN D., MANN F. A.. Determination of serum organic acids in puppies with naturally acquired parvoviral enteritis. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 66, n. 1, p.15-18. 2002.

O'SULLIVAN, G.; DURHAM, P. J. K.; SMITH, J. R.; CAMPBELL, R. S. F.. Experimentally induced severe canine parvoviral enteritis. **Australian Veterinary Journal**, v. 61, n. 1, p.1-4, jan. 1984.

OTTO, C. M.; DROBATZ, K. J.; SOTER, C.. Endotoxemia and Tumor Necrosis Factor Activity in Dogs With Naturally Occurring Parvoviral Enteritis. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, v. 11, n. 2, p.65-70, mar. 1997.

PARRISH, C. R.. Pathogenesis of feline panleukopenia virus and canine parvovirus. **Bailliere's Clinical Haematology**, v. 8, n. 1, p.57-71, mar. 1995.

POTGIETER, L. N. D.; JONES, J. B.; PATTON, C. S; WEBB-MARTIN, T. A. Experimental Parvovirus Infection in Dogs. **Canadian Journal Of Comparative Medicine**, v. 45, n. 1, p.212-216, jul. 1981.

PRITTIE, J. Canine parvoviral enteritis: a review of diagnosis, management, and prevention. **Journal Of Veterinary Emergency And Critical Care**, v. 14, n. 3, p.167-176, set. 2004.

RAJAMANICKAM, K.; KUMAR, RA R.; GOGOI, J.; LEELA, V.; GOWRISHANKAR, S.; PANDIYAN, A. S. S.. Evaluation of hemato-biochemical profile in different age group of dogs affected with haemorrhagic gastroenteritis. **International Journal Of Chemical Studies**, v. 5, n. 4, p.781-783, 2017.

SILVA, I. N. G.; GUEDES, M. I. F.; ROCHA, M. F. G.; MEDEIROS, C. M. O.; OLIVEIRA, L. C.; MOREIRA, O. C.; TEIXEIRA, M. F. S.. Perfil hematológico e avaliação eletroforética das proteínas séricas de cães com cinomose. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 1, p.136-139, fev. 2005.

SCHOEMAN, J. P.; GODDARD, A.; LEISEWITZ, A. L. Biomarkers in canine parvovirus enteritis. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 61, n. 4, p.217-222, jul. 2013.

SHAH, S. A.; SOOD, N.K.; WANI, N.; GUPTA, K.; SINGH, A. Haemato-biochemical changes in canine parvoviral infection. **Indian J Vet Pathol**, v. 37, n. 2, p.131-133, 2013.

STEVENSON, C. K.; KIDNEY, B. A.; DUKE, T; SNEAD, E. C. R.; MAINAR-JAIME, R. C.; JACKSON, M. L.. Serial blood lactate concentrations in systemically ill dogs. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 36, n. 3, p.234-239, set. 2007.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A.. Eletrólitos monovalentes e osmolalidade. In: STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A.. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. Cap. 9. p. 412-466.

YILMAZ, Z.; SENTURK, S.. Characterisation of lipid profiles in dogs with parvoviral enteritis. **Journal Of Small Animal Practice**, v. 48, n. 11, p.643-650, nov. 2007.

CAPÍTULO 3: PARÂMETROS URINÁRIOS PREDITIVOS DE PROGNÓSTICO EM CÃES COM GASTROENTERITE DECORRENTE DO *PROTOPARVOVÍRUS* CANINO.

RESUMO

As gastroenterites em cães são doenças multifatoriais muito frequentes na clínica de pequenos animais, responsáveis por mortalidade principalmente em animais jovens. Dentre os principais agentes etiológicos está o *Protoparvovírus* canino tipo 2. O CPV-2 é um vírus DNA fita simples, não envelopado, resistente no ambiente, altamente transmissível que possui tropismo e efeito citotóxico em tecidos como epitélio intestinal, órgãos linfoides e medula óssea. Dessa forma, maneiras para definir um prognóstico confiável são importantes para acessar o estado crítico do animal e permitir alterações na conduta terapêutica a tempo, através de exames laboratoriais que são técnicas disponíveis com resultados rápidos e acessíveis. Portanto, o objetivo desse trabalho foi determinar as alterações bioquímicas de cães infectados naturalmente pelo CPV-2 e a importância prognóstica associada. O estudo incluiu 32 cães atendidos no hospital veterinário da UFPR- setor Palotina, hospitalizados com quadros de gastroenterite e diagnosticados com CPV-2 pelo teste imunocromatográfico. Amostras de urina foram coletas no dia da admissão e a cada 24 horas de internação, para realização da urinálise e bioquímicos urinários no laboratório clínico veterinário da mesma instituição, que incluíram exame físico, químico com tiras reagentes, sedimentoscopia para detecção de hemácias, leucócitos, células epiteliais, cilindros, cristais, bactérias e outros achados, proteína, GGT, creatinina urinária, RGC e RPC. Na comparação entre grupos em T0, valores maiores de cor, aspecto, proteína, GGT e GGT:C representaram mau prognóstico; em T24, valores maiores de bilirrubina, proteína, células epiteliais de transição, cilindro granuloso fino e cristais de bilirrubina, GGT, proteína e GGT:C representaram mau prognóstico. Com isso, é possível concluir que existem diferenças observadas nos valores urinários no prognóstico de animais sobreviventes e não sobreviventes, e devem ser utilizados pelos médicos veterinários como auxílio para o acompanhamento e tratamento dos cães, a fim de reduzir o número de óbitos.

Palavras chave: Protoparvovirose, urinálise, prognóstico

CHAPTER 3: PROGNOSTIC PREDICTIVE URINARY PARAMETERS IN DOGS WITH GASTROENTERITIS DUE TO CANINA *PROTOPARVOVIRUS*

ABSTRACT

Gastroenteritis in dogs are very frequent multifactorial diseases in the small animal clinic, responsible for mortality mainly in young animals. Among the major etiological agents is canine *Protoparvovirus* type 2. CPV-2 is a non-enveloped, environmentally resistant, highly transmissible, single-stranded DNA virus that has tropism and cytotoxic effect in tissues such as intestinal epithelium, lymphoid organs and bone marrow. Thus, ways to define a reliable prognosis are important in accessing the critical condition of the animal and allowing changes in therapeutic management in time, through laboratory tests that are available techniques with fast and accessible results. Therefore, the aim of this study was to determine the biochemical alterations of dogs naturally infected by CPV-2 and the associated prognostic importance. The study included 32 dogs attended at the UFPR-Palotina veterinary hospital, hospitalized with gastroenteritis and diagnosed with CPV-2 by the immunochromatographic test. Urine samples were collected on the day of admission and every 24 hours for urinalysis and urinary biochemistry in the veterinary clinical laboratory of the same institution, which included physical examination, chemical reagent strips, sediment for the detection of red blood cells, leukocytes, epithelial cells, cylinders, crystals, bacteria and other findings, protein, GGT, urinary creatinine, WCR and RPC. In the comparison between groups in T0, higher values of color, appearance, protein, GGT and GGT: C represented poor prognosis; in T24, greater values of bilirubin, protein, transitional epithelial cells, fine granular cylinder and bilirubin crystals, GGT, protein and GGT: C represented poor prognosis. Thus, it is possible to conclude that there are observed differences in urinary values in the prognosis of surviving and non-surviving animals and should be used by veterinarians as an aid in the monitoring and treatment of dogs in order to reduce the number of deaths.

Key words: Protoparvovirus, urinalysis, prognosis

14 INTRODUÇÃO

As gastroenterites em cães são doenças multifatoriais muito frequentes na clínica de pequenos animais, responsáveis por mortalidade principalmente em animais jovens. Dentre os principais agentes etiológicos está o parvovírus canino tipo 2 (CPV-2) (DECARO e BUONAVOGLIA, 2012).

O CPV-2 é um vírus DNA fita simples, não envelopado, resistente no ambiente, que apresenta taxa de substituição genômica similar a um vírus RNA (PAES, 2016). A parvovirose é uma doença infectocontagiosa aguda de origem viral, que possui tropismo e efeito citotóxico em tecidos com alta taxa de multiplicação, principalmente epitélio intestinal, órgãos linfoides e medula óssea, afetando de forma intensa as linhagens sanguíneas (PRITTIE, 2004).

No Brasil, os primeiros casos foram identificados em 1980 na cidade de Campinas-SP (PAES, 2016). Desde o seu descobrimento, o CPV-2 passou por rápidas mutações, gerando dois novos tipos antigênicos, o CPV-2a e CPV-2b, e atualmente há uma terceira variante caracterizada CPV-2c, identificada primeiramente na Itália em 2000 e no Brasil em 2008 no Rio Grande do Sul, permitindo uma maior disseminação e prevalência dessa enfermidade na população susceptível (MIRANDA e THOMPSON, 2016; STRECK *et al.*, 2009). As vacinas disponíveis atualmente contem a variante CPV-2 original ou a CPV-2b, e ainda não há uma vacina específica para o subtipo CPV-2c, gerando divergências sobre o efeito protetor contra as cepas heterólogas do CPV-2 (GODDARD e LEISEWITZ, 2010; WILSON *et al.*, 2014).

A urinálise consiste na avaliação de alterações em aspectos físicos, como cor, aspecto, densidade; aspectos químicos, como pH, bilirrubina, urobilinogênio, corpos cetônicos, ácido ascórbico, glicose, proteína e sangue oculto; e sedimentoscopia, para detectar hemácias, leucócitos, células epiteliais, cristais, cilindros, bactérias e outros achados (CALLENS e BARTGES, 2015).

A urinálise é uma ferramenta de auxílio no diagnóstico de doenças em diferentes sistemas, quando em conjunto com outros dados clínicos e exames auxiliares, capaz de fornecer resultados rápidos de baixo custo. Através da mensuração de solutos como atividade da GGT urinária e proteína urinária, os bioquímicos urinários também são ferramentas úteis no diagnóstico de lesões

glomerulares e tubulares. Além de diagnóstico, essas técnicas permitem ao veterinário avaliar a progressão da doença, lesões renais, alterações em diferentes sistemas, resposta ao tratamento instituído e determinar um provável prognóstico.

O CPV-2 ainda está muito presente principalmente entre animais jovens com menos de 6 meses, possui alta morbidade entre a população canina e atinge alta mortalidade quando o tratamento não é instituído (GLICKMAN *et al.*, 1985). Portanto, o objetivo desse trabalho é identificar as alterações urinárias encontradas em cães infectados naturalmente pelo CPV-2 e com isso apresentar quais desses parâmetros poderiam ser capazes de prever prognóstico.

15 MATERIAL E MÉTODOS

15.1 ANIMAIS E CRITÉRIO DE INCLUSÃO

Este estudo foi aprovado previamente pela Comissão de Ética no uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Paraná – setor Palotina, com número de protocolo 28/2016.

O estudo incluiu 32 cães atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal do Paraná (UFPR)- setor Palotina, independente de idade, raça, sexo, histórico de vacinação e tempo de apresentação clínica, com manifestações clínicas de diarreia, diarreia sanguinolenta, vômito. No momento do atendimento clínico, foi teste imunocromatográfico para detecção do *Protoparvovírus* canino, e quando positivo, os animais foram incluídos em 2 grupos: animais com gastroenterite pelo *Protoparvovírus* canino sobreviventes (grupo 1) com 27 cães; e gastroenterite pelo *Protoparvovírus* canino não sobreviventes (grupo 2) com 5 cães.

Amostras de urina coletadas no momento do atendimento clínico, e a cada 24 horas de internação repetiam-se as coletas de sangue e urina para um acompanhamento da evolução diária da doença, até o animal receber alta médica ou vir à óbito, sendo que, todos os animais receberam tratamento de acordo com descrito na literatura para cães com gastroenterite decorrente do parvovírus canino, que incluíam fluidoterapia, antieméticos, antibioticoterapia e nutrição microenteral até o cessar dos vômitos.

15.2 ANÁLISES LABORATORIAIS

As amostras de urina foram obtidas por cistocentese guiada por ultrassom, sondagem uretral ou micção espontânea, armazenadas em frascos estéreis para urinálise e bioquímicos urinários. As amostras foram enviadas ao Laboratório Clínico Veterinário da UFPR- Setor Palotina onde as análises foram realizadas imediatamente após a coleta.

Para a urinálise, mensurou-se a densidade, pH, proteína, glicose, bilirrubina, para sedimentoscopia, 5 mL de urina foram centrifugados em tubo cônico por 5 minutos a 1500 rpm, e após descartar o sobrenadante e ressuspender o sedimento, depositou-se 1 gota entre lâmina e lamínula para visualização sob microscopia óptica em aumento de 400x. Uma parcela da amostra foi acondicionada em tubo eppendorf para mensuração bioquímica de proteína (mg/dL), creatinina (mg/dL) e GGT urinária (UI/L), de acordo com a bula de kits reagentes Labtest®, em espectrofotômetro automático BC 200 vet Mindray®. Através dos resultados bioquímicos, foram determinadas a relação proteína:creatinina urinária (RPC) e a relação GGT:creatinina urinária (RGC).

Para detecção do *Protoparvovírus* canino, foi realizado um teste imunocromatográfico para antígeno viral fecal com kits comerciais®, de acordo com o indicado na bula do fabricante.

Os tempos de coleta de amostras foram definidos conforme as horas de internação. O momento da admissão foi admitido como T0, com colheitas a cada 24 horas, denominadas T24, T48 e T72, sendo T72 o último tempo de coleta no grupo 1, visto que após esse período a maioria dos animais recebeu alta. No grupo 2, o T24 foi definido como o último tempo, em função da ocorrência de óbito em quatro dos cinco cães deste grupo. Portanto, utilizou-se os tempos T0 e T24 de cada grupo para padronização dos dados e procedimento das análises estatísticas.

15.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para os dados não paramétricos, realizou-se a análise de variância ANOVA. Após análise de variância, para comparação entre grupos utilizou-se o teste de Mann Whitney, sempre com $p < 0,05$. Para os dados paramétricos, para comparação entre os grupos utilizou-se o teste t, sempre com $p < 0,05$.

16 RESULTADOS

No grupo 1 (tabela 4), os valores da densidade permaneceram dentro da normalidade nos tempos, sendo mais concentrada em T0. Os cães apresentaram proteinúria em ambos os tempos, com concentrações maiores em T0. Em relação ao pH, urina estava mais ácida em T0, com aumento dos valores em T24. No grupo 2 houve proteinúria (T0 e T24), bilirrubinúria (T24), acidúria (T0 e T24), cilindro granuloso fino (T24) e cristais de bilirrubina (T24).

Na comparação do grupo 1 e grupo 2 no momento da admissão (T0) (tabela 4), houve diferença estatística significativa nos parâmetros de GGT ($p=0,01$), proteína por espectofotometria ($p=0,01$) e relação GGT:Creatinina urinária ($p=0,02$). Os cães não sobreviventes apresentaram predominantemente proteinúria e enzímúria evidentes, quando comparados com os cães sobreviventes que demonstraram urina com proteinúria e enzímúria discreta.

Na comparação do grupo 1 com o grupo 2 após 24 horas da admissão (T24) (tabela 4), houve diferença estatística significativa nos parâmetros de bilirrubina ($p=0,01$), proteína ($p=0,02$), células epiteliais de transição ($p=0,03$), cilindro granuloso fino ($p=0,03$) e granuloso grosso ($p=0,02$), cristal de bilirrubina ($p<0,001$), GGT ($p=0,03$), proteína (sensiprot) ($p=0,01$) e relação GGT:Creatinina urinária ($p=0,04$). Os cães não sobreviventes apresentaram predominantemente em T24, urina com bilirrubinúria, proteinúria, células epiteliais de transição, cilindrúria, cristais de bilirrubina e enzímúria evidente, enquanto os cães sobreviventes demonstraram proteinúria leve, raras células epiteliais de transição e enzímúria discreta.

TABELA 4- Relação da média, mediana e desvio padrão na urinálise de cães sobreviventes e não sobreviventes, em T0 e T24 e comparação estatística entre os grupos com significância <0,05

Variáveis	Referência	Tempos de coleta	Grupo 1	Grupo 2	p
Densidade	1,015-1,045	T0	1043±21	1042±19	0,92
		T24	1036±19	1036±12	0,96
Bilirrubina (mg/dL)	Neg-1+	T0	0±0,6	0,0±0,8	0,61
		T24	0±0,8 ^A	3,0±1,6 ^B	0,01
Glicose (mg/dL)	Neg	T0	0,0±1,4	0,0±0,4	0,65
		T24	0,0±0,9	0,0±0,8	0,41
Proteína (mg/dL)	Neg-1+	T0	2,0±0,9	2,0±0,8	0,34
		T24	2,0±0,9 ^A	3,0±0,5 ^B	0,02
pH	5,5-7,5	T0	5,9±1,0	5,7±0,6	0,88
		T24	6,0±0,9	5,4±0,5	0,17
Leucócitos	<5 /campo	T0	1±1,6	0,6±0,8	0,67
		T24	0,7±0,8	0,6±0,5	0,85
Células epiteliais	Ausente a raras	T0	1,0±0,7	1,0±1,1	0,34
		T24	1,0±0,9 ^A	2,0±0,8 ^B	0,03
Gr fino	Neg	T0	0,0±0,4	0,0±0,8	0,12
		T24	0,0±0,7 ^A	1,0±1,5 ^B	0,03
Gr grosso	Neg	T0	0,0±0,2	0,0±0,4	0,43
		T24	0,0±0,0 ^A	0,0±0,8 ^B	0,02
Cr bilirrubina	Neg	T0	0,0±0,6	0,0±0,0	0,57
		T24	0,0±0,1 ^A	2,0±1,3 ^B	<0,001
GGT (UI/L)	-	T0	138±144 ^A	316±139 ^B	0,01
		T24	125±113 ^A	264±118 ^B	0,03
Pt (mg/dL)	Traços	T0	37±24 ^A	66±17 ^B	0,01
		T24	37±32 ^A	72±25 ^B	0,01
GGT:C	0,1-0,7	T0	2,2±1,7 ^A	4,3±1,9 ^B	0,02
		T24	1,8±1,3 ^A	3,1±1,0 ^B	0,04
Pt:C	<0,5	T0	0,7±0,4	1,2±1,3	0,5
		T24	0,5±0,3	1,0±0,5	0,09

FONTE- O autor (2017).

Cél epiteliais: células epiteliais de transição; Gr grosso: cilindro granuloso grosso; Gr fino: cilindro granuloso fino Cr bilirrubina: cristal bilirrubina; GGT: gama glutamiltranspeptidase; Pt: proteína urinária; GGT:C: relação gama glutamiltranspeptidase creatinina urinária; Pt:C: relação proteína creatinina urinária.

17 DISCUSSÃO

Em relação ao grupo 2, os animais apresentaram pH abaixo da normalidade mesmo após 24 horas da admissão, que demonstrou diferença estatística significativa com o valor do pH do grupo 1, representados por um pH dentro da

normalidade. No grupo 1, houve aumento gradual do pH ao longo dos dias, enquanto no grupo 2 houve queda do valor após 24 horas, sugerindo prognóstico desfavorável. Normalmente a urina é ácida em animais carnívoros (FETTMAN e REBAR, 2006; STOCKHAM e SCOTT, 2011). A acidúria fora da normalidade pode ocorrer em distúrbios gastrointestinais com vômito e diarreia grave, conforme o quadro apresentado pelos animais do grupo 2 acometidos pela forma mais grave da doença (OSBORNE e STEVENS, 1999). Outros parâmetros como pH sanguíneo, TCO_2 , bicarbonato sérico seriam necessários para uma interpretação completa do pH urinário, contudo os rins têm como função a excreção de íons de hidrogênio em animais com acidemia (OSBORNE e STEVENS, 1999).

Em relação a densidade, o grupo 1 apresentou valores maiores, no entanto, ambos os grupos demonstraram normoestenúria. Inicialmente, no grupo 1, a densidade urinária estava próxima aos valores do grupo 2, mas com o passar dos dias houve diminuição secundária à reposição volêmica hidroeletrolítica e, portanto resposta ao tratamento instituído e reversão do quadro. A densidade urinária representa a capacidade renal em concentrar ou diluir a urina, e depende da quantidade de solutos na urina (KANDULA e KARLAPUDI, 2015; WALDROP, 2008). Em distúrbios diarreicos, há disfunção nos processos absorptivos e secretórios do intestino, com perda intensa de água através das fezes, resultando em desidratação (REINEKE *et al.*, 2013). A desidratação diminui a perfusão renal e a taxa de filtração glomerular resultando, desta forma, em urina mais densa. Com isso, a diminuição do fluxo sanguíneo nos rins resulta em isquemia, azotemia e insuficiência renal aguda (KHAN e KHAN, 2015).

A bilirrubinúria foi marcante no grupo 2, principalmente após 24 horas da admissão, e assim, foi indicativa sugestiva de mau prognóstico. O limiar de reabsorção renal de bilirrubina nos cães é baixo, sendo comum encontrar uma ou duas cruzes de positividade em urinas densas de animais sadios, portanto, e por isso os cães podem apresentar bilirrubinúria antes de hiperbilirrubinemia ou icterícia (DIAL, 1995). Em infecções pelo CPV-2, a concentração anormal de bilirrubina provavelmente se deve a obstrução extra-hepática do ducto biliar secundária a pancreatite. A colestase acarreta, também, o aumento da atividade sérica de FA e da concentração sanguínea de colesterol (LAWRENCE e STEINER, 2017). Os cristais de bilirrubina são formados quando a bilirrubinúria está presente e em quantidade elevada. Outra causa provável da bilirrubinúria é a lesão dos hepatócitos

secundária a hipóxia por hipovolemia, de forma a comprometer a captação, conjugação e liberação da bilirrubina.

No grupo 2, houve proteinúria quando comparados com o grupo 1 em ambos os tempos. O grupo 2 também apresentou relação proteína:creatinina urinária igual ou acima de 1 em todos os tempos, em comparação com o grupo 1, que atingiu valores máximos de 0,7 mg/dL. A proteinúria ou perda de proteínas através da urina, pode ser secundária a diversas desordens renais (KANDULA e KARLAPUDI, 2015). A urina de cães saudáveis tipicamente contém pequenas quantidades de proteína, principalmente quando possuem densidade elevada como em casos de desidratação, no entanto, quantidades excessivas representam estados anormais de funcionamento renal (CALLENS e BARTGES, 2015).

A proteína na urina pode ter origem pré renal, renal e pós renal, sendo importante a distinção e exclusão das causas extras renais para considerar como lesão renal (LEES *et al.*, 2005). Entre diversas causas, a febre é um dos fatores responsáveis por levar à proteinúria de forma transitória (EQUILINO *et al.*, 2015; LEES *et al.*, 2005). A diminuição da taxa de filtração glomerular secundária à desidratação intensa pode acarretar lesões em glomérulo, que aumentam a permeabilidade da barreira de filtração glomerular e permite a passagem de grande quantidade de proteína para a urina; ou também acarretar em lesões tubulares que são acompanhadas de discreta proteinúria (CIANCIOLO *et al.*, 2016; HOKAMP e NABITY, 2016). A relação proteína:creatinina é um indicador mais sensível para definir perda significativa de proteína através de lesões renais, sendo capaz de detectar injúrias renais precoces e valores maiores que um são sugestivos de insuficiência renal (LEES *et al.*, 2005; WALDROP, 2008). Quando os valores da relação proteína:creatinina são menores que dois sugerem que a proteinúria pode ser de origem mista ou tubular e possuir um papel importante no prognóstico, pois contribuem para a hipoproteinemia marcante e aumentam as chances de crise urêmica e óbito (GIUNTI *et al.*, 2014; HARVEY e LANGSTON, 2012; JACOB *et al.*, 2005). Possivelmente, a intensa gravidade da lesão renal no grupo 2 resultou em insuficiência renal aguda.

As células epiteliais de transição tiveram presença significativa no grupo 2, quando comparados os grupos após 24 horas, e dessa forma foi uma variável com valor prognóstico. Elas se originam do trato urinário, incluindo pelve renal, ureteres,

bexiga e parte proximal da uretra, e sua descamação aumentada representa distúrbios ou processos inflamatórios nestas regiões (OSBORNE e STEVENS, 1999). É normal encontrar uma pequena quantidade de células epiteliais de transição na urina de cães saudáveis. No entanto, devido à ampla origem das células, esta contagem celular não deve ser interpretada sozinha para identificar distúrbios com precisão, visto que outros testes estão disponíveis para identificar lesões em sistema urinário com mais acurácia (CALLENS e BARTGES, 2015; REINE e LANGSTON, 2005).

Em T24, os animais do grupo 2 apresentaram diferença estatística na presença de cilindros granulosos finos, quando comparados com o grupo 1 após 24 horas. Os cilindros granulosos estão associados a doenças, como processos isquêmicos, e representam degeneração e necrose das células epiteliais tubulares. Os grânulos são compostos por debris de células epiteliais degeneradas, que permaneceram por tempo prolongado nos túbulos renais e permitem inferir estase no néfron, associada ao fluxo sanguíneo e taxa de filtração glomerular diminuída (SCHREINER, 1957). Dessa forma, a presença de cilindros granulosos finos na urina indica mau prognóstico.

Os animais do grupo 2 apresentaram valores significativamente maiores de GGT urinária e da relação GGT:Creatinina urinária, em relação aos animais do grupo 1. A enzímúria foi uma variável indicativa de mau prognóstico, e deve ser levada em consideração no atendimento de cães acometidos pelo CPV-2, pois o acesso a essas informações permite ao médico veterinário determinar se outras medidas terapêuticas serão necessárias, a fim de reverter o quadro.

A enzímúria já foi descrita em várias desordens renais e reflete lesão nas células dos túbulos renais, de forma mais precoce que outras análises como a concentração de creatinina sérica, que se eleva apenas quando 75% dos néfrons foram perdidos (NIVY *et al.*, 2017; WALDROP, 2008). A GGT está presente na borda em escova das células dos túbulos renais proximais, com liberação na urina quando há lesão destas células (HOKAMP e NABITY, 2016). A enzima está presente no sangue mas não é capaz de passar pelo ultrafiltrado glomerular em função do seu tamanho e, quando liberadas pelas células tubulares lesadas, não é reabsorvida, portanto, sua presença em grande quantidade na urina é representativa de lesão nas células tubulares (GRAUER, 2005).

A taxa de depuração da creatinina plasmática é regular e contínua, de forma que, após ser filtrada pelos glomérulos, não é reabsorvida pelos túbulos sendo eliminada pela urina, e esta excreção é inversamente proporcional à taxa de fluxo urinário. Por isso, aumentos ou diminuições na relação GGT:Creatinina urinária representam maior ou menor excreção do soluto, com maior sensibilidade em determinar enzímúria em 24 horas, por sofrer menor influência de outras variáveis como o volume urinário (GRAUER *et al.*, 1995).

Muitos estudos envolvem a determinação das enzimas urinárias, em função da sua sensibilidade em detectar estágios iniciais de injúria renal, pela melhor disponibilidade e custo baixos dos testes, além de serem análises não invasivas. Contudo, existem divergências entre os autores sobre a real utilidade no diagnóstico de lesões agudas, no entanto, o aumento da atividade da GGT urinária foi identificado em casos de piometra, leishmaniose e nefrotoxicidade induzida por gentamicina (FIGUEIREDO *et al.*, 2017; GRAUER *et al.*, 1995; IBBA *et al.*, 2016). A atividade enzimática de GGT na urina pode sofrer influência de fatores como a flutuação da excreção enzimática ao longo do dia, mesmo quando corrigido com a creatinina, a presença de piúria e hematúria e a presença de acidúria, além de fatores como estágio, duração e extensão da doença renal (CLEMO, 1998, GOSSET *et al.*, 1987). A interpretação dos resultados em conjunto com a urinálise e mensurações seriadas é capaz de fornecer resultados mais confiáveis.

18 CONCLUSÃO

Na comparação dos grupos em T0, valores maiores no escore de cor, aspecto, proteína por espectrofotometria, GGT e GGT:C representaram mau prognóstico. Em T24, valores significativamente maiores de bilirrubina, proteína, células epiteliais de transição, cilindro granuloso fino e cristais de bilirrubina, GGT, proteína urinária e GGT:C representaram mau prognóstico.

Assim, com os resultados obtidos nesse trabalho, foi possível inferir as alterações urinárias que são capazes de prever prognóstico em cães acometidos pelo CPV-2, que podem ser utilizados pelos médicos veterinário a fim de promover um atendimento melhor, com mais acurácia e utilizar meios terapêuticos para reverter as principais alterações, aumentando as chances de sobrevivência dos animais.

REFERÊNCIAS

- CALLENS, A. J.; BARTGES, J. W.. Urinalysis. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, v. 45, n. 4, p.621-637, jul. 2015.
- CIANCIOLO, R.; HOKAMP, J.; NABITY, M.. Advances in the evaluation of canine renal disease. **The Veterinary Journal**, v. 215, p.21-29, set. 2016.
- CLEMO, F. A. S.. Urinary Enzyme Evaluation of Nephrotoxicity in the Dog. **Toxicologic Pathology**, v. 26, n. 1, p.29-32, jan. 1998.
- DIAL, S. M.. Clinicopathologic Evaluation of the Liver. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, v. 25, n. 2, p.257-273, mar. 1995.
- EQUILINO, M.; THÉODOLOZ, V.; GORGAS, D.; DOHERR, M. G.; HEILMANN, R. M.; SUCHODOLSKI, J. S.; STEINER, J. M.; BURGNER, I. A.. Evaluation of serum biochemical marker concentrations and survival time in dogs with protein-losing enteropathy. **Journal Of The American Veterinary Medical Association**, v. 246, n. 1, p.91-99, jan. 2015.
- FETTMAN, M. J.; REBAR, A.. Avaliação laboratorial da função renal. In: THRALL, M. A.. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Roca, 2006. Cap. 21. p. 285-310.
- FIGUEIREDO, M. da S.; MALM, C.; MAMÃO, L. D; OLIVEIRA, J.; VEADO, J. C. C.; COSTA, M. P.; VALENTE, P. C. L. G.; HORTA, R. dos S.; CASTRO, M. L.; CASTRO, A. G.; SBARAINI, L.; SOUZA, E. M.. Renal injury in female dogs with pyometra. **Ciência Rural**, v. 47, n. 5, p.1-7, 2017.
- GIUNTI, M.; TROIA, R.; BERGAMINI, P. F.; DONDI, F.. Prospective evaluation of the acute patient physiologic and laboratory evaluation score and an extended clinicopathological profile in dogs with systemic inflammatory response syndrome. **Journal Of Veterinary Emergency And Critical Care**, v. 25, n. 2, p.226-233, 26 nov. 2014.
- GOSSET, K. A.; TURNWALD, G. H.; KEARNEY, M. T.; GRECO, D. S.; CLEGHORN, B.. Evaluation of gamma-glutamyl transpeptidase-to-creatinine ratio from spot samples of urine supernatant, as an indicator of urinary enzyme excretion in dogs. **American Journal Veterinary Research**, v. 48, n. 3, p.455-457, mar. 1987.
- GRAUER, G. F.. Early Detection of Renal Damage and Disease in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, v. 35, n. 3, p.581-596, maio 2005.
- GRAUER, G. F.; GRECO, D. S.; BEHREND, E. N.; MANI, I.; FETTMAN, M. J.; ALLEN, T. A.. Estimation of Quantitative Enzymuria in Dogs With Gentamicin-

Induced Nephrotoxicosis Using Urine Enzyme/Creatinine Ratios From Spot Urine Samples. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, v. 9, n. 5, p.324-327, set. 1995.

HARVEY, L.; LANGSTON, C.. Proteinuria in dogs and cats. **Canadian Veterinary Journal**, v. 53, n. 1, p.631-638, 2012.

HOKAMP, J. A.; NABITY, M. B.. Renal biomarkers in domestic species. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 45, n. 1, p.28-56, 26 fev. 2016.

IBBA, F.; MANGIAGALLI, G.; PALTRINIERI, S.. Urinary gamma-glutamyl transferase (GGT) as a marker of tubular proteinuria in dogs with canine leishmaniasis, using sodium dodecylsulphate (SDS) electrophoresis as a reference method. **The Veterinary Journal**, v. 210, p.89-91, abr. 2016.

JACOB, F.; POLZIN, D. J.; OSBORNE, C. A.; NEATON, J. D.; KIRK, C. A.; ALLEN, T. A.; SWANSON, L. L.. Evaluation of the association between initial proteinuria and morbidity rate or death in dogs with naturally occurring chronic renal failure. **Journal Of The American Veterinary Medical Association**, v. 226, n. 3, p.393-400, fev. 2005.

KANDULA, S.; KARLAPUDI, S. K.. Urinalysis: a critical laboratory test for diagnosis of renal insufficiency in dogs. **Animal Science Reporter**, v. 9, n. 2, p.75-80, abr. 2015.

KHAN, T. M.; KHAN, K. N. M.. Acute Kidney Injury and Chronic Kidney Disease. **Veterinary Pathology**, v. 52, n. 3, p.441-444, 23 jan. 2015.

LAWRENCE, Y. A.; STEINER, J. M.. Laboratory Evaluation of the Liver. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, v. 47, n. 3, p.539-553, maio 2017.

LEES, G. E.; BROWN, S. A.; ELLIOTT, J.; GRAUER, G. F.; VADEN, S. L.. Assessment and Management of Proteinuria in Dogs and Cats. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, v. 19, n. 3, p.377-385, maio 2005.

NIVY, R.; AVITAL, Y.; AROCH, I.; SEGEV, G. . Utility of urinary alkaline phosphatase and γ -glutamyl transpeptidase in diagnosing acute kidney injury in dogs. **The Veterinary Journal**, v. 220, p.43-47, fev. 2017.

OSBORNE, C. A.; STEVENS, J. B.. Biochemical analysis of urine: indications, methods, interpretation. In: OSBORNE, C. A.; STEVENS, J. B.. **Urinalysis: A clinical guide to Compassionate Patient Care**. Leverkusen: Bayer, 1999. Cap. 10. p. 86-124.

OSBORNE, C. A.; STEVENS, J. B.. Urine sediment: under the microscope. In: OSBORNE, C. A.; STEVENS, J. B.. **Urinalysis: A clinical guide to Compassionate Patient Care**. Leverkusen: Bayer, 1999. Cap. 11. p. 125-150.

REINE, N. J.; LANGSTON, C. E.. Urinalysis interpretation. **Clinical Techniques In Small Animal Practice**, v. 20, n. 1, p.2-10, fev. 2005.

REINEKE, E. L.; WALTON, K.; OTTO, C. M.. Evaluation of an oral electrolyte solution for treatment of mild to moderate dehydration in dogs with hemorrhagic diarrhea. **Journal Of The American Veterinary Medical Association**, v. 243, n. 6, p.851-857, 15 set. 2013. American Veterinary Medical Association (AVMA).

SCHREINER, G. E.. The Identification and Clinical Significance of Casts. **Archives Of Internal Medicine**, v. 99, n. 3, p.356-369, mar. 1957.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A.. Sistema urinário. In: STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A.. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. Cap. 8. p. 342-411.

WALDROP, J. E.. Urinary Electrolytes, Solutes, and Osmolality. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, v. 38, n. 3, p.503-512, maio 2008.

REFERÊNCIAS

- APPEL, M. J.; COOPER, B. J.; GREISEN, H.; SCOTT, F.; CARMICHAEL, L. E.. Canine viral enteritis. I. Status report on corona- and parvo-like viral enteritides. **Cornell Veterinary**, v. 69, n. 3, p.123-133, 1979.
- ARSLAN, H. H.; GUZEL, M.; MERAL, Y.; DALGIN, D.; GOKALP, G.; OZCAN, U.. A new approach to blood parameters in dogs with hemorrhagic enteritis. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 45, p. 01-06, julho 2017. ISSN 1679-9216.
- BERBEE, J. F. P.; HAVEKES, L. M.; RENSEN, P. C. N.. Apolipoproteins modulate the inflammatory response to lipopolysaccharide. **Journal Of Endotoxin Research**, v. 11, n. 2, p.97-103, 1 abr. 2005.
- BHAT, A.; WADHWA, D.; SINGH, S.; SINGH, I.. Haematological and biochemical analysis in canine enteritis. **Veterinary World**, v. 6, n. 7, p.380-383, 2013.
- BOMMER, N. X.; SHAW, D. J.; MILNE, E. M.; RIDYARD, A. E.. Platelet distribution width and mean platelet volume in the interpretation of thrombocytopenia in dogs. **Journal Of Small Animal Practice**, v. 49, n. 10, p.518-524, out. 2008. Wiley-Blackwell. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-5827.2008.00636.x>.
- BROEK, A. H. M. V. D.. Serum protein electrophoresis in canine parvovirus enteritis. **British Veterinary Journal**, v. 146, n. 3, p.255-259, maio 1990.
- BUONAVOGLIA, C.; MARTELLA, V.; PRATELLI, A.; TEMPESTA, M.; CAVALLI, A.; BUONAVOGLIA, D.; BOZZO, G.; ELIA, G.; DECARO, N.; CARMICHAEL, L. Evidence for evolution of Canine Parvovirus type 2 in Italy. **Journal of General Virology**, v.82, p.3021 – 3025, 2001.
- CALLENS, A. J.; BARTGES, J. W.. Urinalysis. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, v. 45, n. 4, p.621-637, jul. 2015.
- CASTRO, T. X.; GARCIA, R. de C. N. C.; GONÇALVES, L. P. S.; COSTA, E. M.; MARCELLO, G. C. G.; LABARTHE, N. V.; ALMEIDA, F. M. de.. Clinical, hematological, and biochemical findings in puppies with coronavirus and parvovirus enteritis. **Canadian Veterinary Journal**, v. 54, n. 9, p.885-888, set. 2013.
- CARR-SMITH, S.; MACINTIRE, D.K.; SWANGO, I.J. Canine Parvovirus: Part 1. **Pathogenesis and Vaccination Compendium of Continuous Education on Practice Veterinary**, v.19, p.125-133, 1997.
- CERON, J. J.; ECKERSALL, P. D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S.. Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 34, n. 2, p.85-99, jun. 2005.

CHRUSCH, C.; BANDS, C.; BOSE, D.; LI, X.; JACOBS, H.; DUKE, K.; BAUTISTA, E.; ESCHUN, G.; LIGHT, R. B.; MINK, S. N.. Impaired Hepatic Extraction and Increased Splanchnic Production Contribute to Lactic Acidosis in Canine Sepsis. **American Journal Of Respiratory And Critical Care Medicine**, v. 161, n. 2, p.517-526, fev. 2000.

CIANCIOLO, R.; HOKAMP, J.; NABITY, M.. Advances in the evaluation of canine renal disease. **The Veterinary Journal**, v. 215, p.21-29, set. 2016.

CLEMO, F. A. S.. Urinary Enzyme Evaluation of Nephrotoxicity in the Dog. **Toxicologic Pathology**, v. 26, n. 1, p.29-32, jan. 1998.

COTMORE, S.F.; AGBANDJE-MCKENNA, M.; CHIORINI, J.A.; MUKHA, D.V.; PINTEL, D.J.; QIU, J.; SODERLUND-VENERMO, M.; TATTERSTALL, P.; TIJSSEN, P. The family Parvoviridae. **Archives Of Virology**, v. 159, n. 5, p.1239-1247, 9 nov. 2013.

DAVIS-WÜRZLER, G.M. 2013 Update on Current Vaccination Strategies in Puppies and Kittens. **Veterinary Clinics of North America – Small Animals**, v.44, p.253-263, 2014.

DAY, M.; HORZINECK, M.; SCHULTZ, D.; SQUIRES, R.A. WSAVA Guidelines for the 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**, v. 57, p. E1-E45, 2016.

DECARO, N.; BUONAVOGLIA, C. Canine parvovirus – A review of epidemiologic and diagnostic aspects with emphasis on type 2c. **Veterinary Microbiology**, v.155, p.1-12, 2012.

DECARO, N.; DESARIO, C.; CAMPOLO, M.; ELIA, G.; MARTELLA, V.; RICCI, D.; LORUSSO, E.; BUONAVOGLIA, C. Clinical and virological findings in pups naturally infected by canine parvovirus type 2 Glu-426 mutant. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v.17, p.133-138, 2005.

DESARIO, C.; DECARO, N.; CAMPOLO, M.; CAVALLI, A.; CIRONE, F.; ELIA, G.; MARTELLA, V.; LORUSSO, E.; CAMERO, M.; BUONAVOGLIA, C. Canine parvovirus infection: Which diagnostic test for virus? **Journal of Virological Methods**, v.126, p.179-185, 2005.

DIAL, S. M.. Clinicopathologic Evaluation of the Liver. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, v. 25, n. 2, p.257-273, mar. 1995.

ECKERSALL, P.D.; BELL, R.. Acute phase proteins: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine. **The Veterinary Journal**, v. 185, n. 1, p.23-27, jul. 2010.

EQUILINO, M.; THÉODOLOZ, V.; GORGAS, D.; DOHERR, M. G.; HEILMANN, R. M.; SUCHODOLSKI, J. S.; STEINER, J. M.; BURGNER, I. A.. Evaluation of serum biochemical marker concentrations and survival time in dogs with protein-losing

enteropathy. **Journal Of The American Veterinary Medical Association**, v. 246, n. 1, p.91-99, jan. 2015.

FERREIRA, R.; BARBOSA, P. R.; GODINHO, E.; COSTA, U. M.; GONZÁLEZ, F. H. D.; FERREIRO, L.. Alterações hemato-bioquímicas em cães jovens com gastroenterite viral: relato de 18 casos. **Revista Científica de Medicina Veterinária**, v. 2, p.159-163, 2004.

FETTMAN, M. J.; REBAR, A.. Avaliação laboratorial da função renal. In: THRALL, M. A.. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. São Paulo: Roca, 2006. Cap. 21. p. 285-310.

FIGUEIREDO, M. da S.; MALM, C.; MAMÃO, L. D; OLIVEIRA, J.; VEADO; J. C. C.; COSTA, M. P.; VALENTE, P. C. L. G.; HORTA, R. dos S.; CASTRO, M. L.; CASTRO, A. G.; SBARAINI, L.; SOUZA, E. M.. Renal injury in female dogs with pyometra. **Ciência Rural**, v. 47, n. 5, p.1-7, 2017.

GELBERG, H. B.. Sistema alimentar, peritônio, omento, mesentério e cavidade peritoneal. In: ZACHARY, J. F.; MCGAVIN, M. D.. **Bases da patologia em veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. Cap. 7. p. 324-406.

GIUNTI, M.; TROIA, R.; BERGAMINI, P. F.; DONDI, F.. Prospective evaluation of the acute patient physiologic and laboratory evaluation score and an extended clinicopathological profile in dogs with systemic inflammatory response syndrome. **Journal Of Veterinary Emergency And Critical Care**, v. 25, n. 2, p.226-233, 26 nov. 2014.

GLICKMAN, L. T.; DOMANSKI, L. M.; PATRONEK, G. J.; VISINTAINER, F.. Breed-related risk factors for canine parvovirus enteritis. **Journal Of The American Veterinary Medical Association**, v. 187, n. 6, p.589-594, set. 1985.

GODDARD, A.; LEISEWITZ, A.I.; CHRISTOPHER, M.M.; DUNCAN, N. M.; BECKER, P. J.. Prognostic Usefulness of Blood Leukocyte Changes in Canine Parvoviral Enteritis. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, v. 22, n. 2, p.309-316, mar. 2008.

GODDARD, A.; LEISEWITZ, A. L.. Canine Parvovirus. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, v. 40, n. 6, p.1041-1053, nov. 2010.

GOSSET, K. A.; TURNWALD, G. H.; KEARNEY, M. T.; GRECO, D. S.; CLEGHORN, B.. Evaluation of gamma-glutamyl transpeptidase-to-creatinine ratio from spot samples of urine supernatant, as an indicator of urinary enzyme excretion in dogs. **American Journal Veterinary Research**, v. 48, n. 3, p.455-457, mar. 1987.

GRAUER, G. F.. Early Detection of Renal Damage and Disease in Dogs and Cats. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, v. 35, n. 3, p.581-596, maio 2005.

GRAUER, G. F.; GRECO, D. S.; BEHREND, E. N.; MANI, I.; FETTMAN, M. J.; ALLEN, T. A.. Estimation of Quantitative Enzymuria in Dogs With Gentamicin-

Induced Nephrotoxicosis Using Urine Enzyme/Creatinine Ratios From Spot Urine Samples. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, v. 9, n. 5, p.324-327, set. 1995.

GREENE, C. E.; DECARO, N.. Canine viral enteritis. In: GREENE, C. E.. **Infectious diseases of the dog and cat**. 4. ed. St. Louis: Elsevier, 2012. Cap. 8. p. 67-74.

HARVEY, L.; LANGSTON, C.. Proteinuria in dogs and cats. **Canadian Veterinary Journal**, v. 53, n. 1, p.631-638, 2012.

HOKAMP, J. A.; NABITY, M. B.. Renal biomarkers in domestic species. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 45, n. 1, p.28-56, 26 fev. 2016.

HUEFFER K., PARRISH R.. Parvovirus host range, cell tropism and evolution. **Current Opinion in Microbiology**, v.6, p.392-398, 2003.

IBBA, F.; MANGIAGALLI, G.; PALTRINIERI, S.. Urinary gamma-glutamyl transferase (GGT) as a marker of tubular proteinuria in dogs with canine leishmaniasis, using sodium dodecylsulphate (SDS) electrophoresis as a reference method. **The Veterinary Journal**, v. 210, p.89-91, abr. 2016.

JACOB, F.; POLZIN, D. J.; OSBORNE, C. A.; NEATON, J. D.; KIRK, C. A.; ALLEN, T. A.; SWANSON, L. L.. Evaluation of the association between initial proteinuria and morbidity rate or death in dogs with naturally occurring chronic renal failure. **Journal Of The American Veterinary Medical Association**, v. 226, n. 3, p.393-400, fev. 2005.

JACOBS, R. M.; WEISER, M. G.; HALL, R. L.; KOWALSKI, J. J. Clinicopathologic features of canine parvoviral enteritis. **Journal Of The American Animal Hospital Association**, v. 16, n. 1, p.809-814, 1980.

KALLI, I. V.; ADAMAMA-MORAITOU, K. K.; PATSIKAS, M. N.; PARDALI, D.; STEINER, J. M.; SUCHODOLSKI, J. S.; MENEXES, G.; BRELLOU, G. D.; RALLIS, T. S.. Prevalence of increased canine pancreas-specific lipase concentrations in young dogs with parvovirus enteritis. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 46, n. 1, p.111-119, 26 jan. 2017.

KANDULA, S.; KARLAPUDI, S. K.. Urinalysis: a critical laboratory test for diagnosis of renal insufficiency in dogs. **Animal Science Reporter**, v. 9, n. 2, p.75-80, abr. 2015.

KHAN, T. M.; KHAN, K. N. M.. Acute Kidney Injury and Chronic Kidney Disease. **Veterinary Pathology**, v. 52, n. 3, p.441-444, 23 jan. 2015.

KHATRI, R.; POONAM; MOHAN, H. Epidemiology, Pathogenesis, Diagnosis and Treatment of Canine Parvovirus Disease in Dogs: A Mini Review. **Journal Of Veterinary Science & Medical Diagnosis**, v. 06, n. 03, p.21-27, 2017.

KOCATURK, M.; MARTINEZ, S.; ERALP, O.; TVARIJONAVICIUTE, A.; CERON, J.; YILMAZ, Z... Prognostic value of serum acute-phase proteins in dogs with parvoviral enteritis. **Journal Of Small Animal Practice**, v. 51, n. 9, p.478-483, set. 2010.

KRAUSS, R. M.; GRUNFELD, C.; DOERRLER, W. T.; FEINGOLD, K. R.. Tumor Necrosis Factor Acutely Increases Plasma Levels of Very Low Density Lipoproteins of Normal Size and Composition. **Endocrinology**, v. 127, n. 3, p.1016-1021, set. 1990.

LAWRENCE, Y. A.; STEINER, J. M.. Laboratory Evaluation of the Liver. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, v. 47, n. 3, p.539-553, maio 2017.

LEES, G. E.; BROWN, S. A.; ELLIOTT, J.; GRAUER, G. F.; VADEN, S. L.. Assessment and Management of Proteinuria in Dogs and Cats. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, v. 19, n. 3, p.377-385, maio 2005.

LIPPI, G.; TARGHER, G.; MONTAGNANA, M.; SALVAGNO, G. L.; ZOPPINI, G.; GUIDI, G. C.. Relation Between Red Blood Cell Distribution Width and Inflammatory Biomarkers in a Large Cohort of Unselected Outpatients. **Archive Of Pathology Laboratory Medicine**, v. 133, n. 3, p.628-632, abr. 2009

MACINTIRE, D. K.; SMITH-CARR, S.. Canine Parvovirus.Part II.Clinical Signs, Diagnosis, and Treatment. **Continuing Education Article**, v. 19, n. 3, p.291-302, mar. 1997.

MANTIONE, N. L.; OTTO, C. M.. Characterization of the use of antiemetic agents in dogs with parvoviral enteritis treated at a veterinary teaching hospital: 77 cases (1997-2000). **Journal Of The American Veterinary Medical Association**, v. 227, n. 11, p.1787-1793, dez. 2005.

MENDES, R. de S.; SOUZA, A. P. de; SILVA, R. M. N. da; BORGES, O. M. M.; TORRES, L. M.; DANTAS, A. K. F. P.. Perfil hematológico e bioquímico de cães com gastroenterite hemorrágica por parvovirus diagnosticados pelo método de imunocromatografia **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 5, n. 3, p.278-283, 2011.

MIRANDA, C.; THOMPSON, G.. Canine parvovirus: the worldwide occurrence of antigenic variants. **Journal Of General Virology**, v. 97, n. 9, p.2043-2057, set. 2016.

MOHR, A. J.; LEISEWITZ, A. L.; JACOBSON, L. S.; RUAUX, C. G.; WILLIAMS, D. A.. Effect of Early Enteral Nutrition on Intestinal Permeability, Intestinal Protein Loss, and Outcome in Dogs with Severe Parvoviral Enteritis. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, v. 17, n. 6, p.791-798, nov. 2003. Wiley-Blackwell.

MORAES, M. P.; COSTA, P. R. dos S.. Parvoviridae. In: FLORES, E. F.. **Virologia Veterinária**. 2. ed. Santa Maria: Ufsm, 2012. Cap. 15. p. 439-462.

MUNTWYLER, J.; ABETEL, G.; GRUNER, C.; FOLLATH, F. One year mortality among unselected outpatients with heart failure. **European Heart Journal**. v. 23, p. 1861- 1866, 2002.

NANDI, S.; KUMAR, M. Canine Parvovirus: Current Perspective. **Indian Journal Of Virology**, v. 21, n. 1, p.31-44, jun. 2010. Springer Nature.

NAPPERT G., DUNPHY E., RUBEN D., MANN F. A.. Determination of serum organic acids in puppies with naturally acquired parvoviral enteritis. **Canadian Journal of Veterinary Research**, v. 66, n. 1, p.15-18. 2002.

NIVY, R.; AVITAL, Y.; AROCH, I.; SEGEV, G. . Utility of urinary alkaline phosphatase and γ -glutamyl transpeptidase in diagnosing acute kidney injury in dogs. **The Veterinary Journal**, v. 220, p.43-47, fev. 2017.

O'SULLIVAN, G.; DURHAM, P. J. K.; SMITH, J. R.; CAMPBELL, R. S. F.. Experimentally induced severe canine parvoviral enteritis. **Australian Veterinary Journal**, v. 61, n. 1, p.1-4, jan. 1984.

OSBORNE, C. A.; STEVENS, J. B.. Biochemical analysis of urine: indications, methods, interpretation. In: OSBORNE, C. A.; STEVENS, J. B.. **Urinalysis: A clinical guide to Compassionate Patient Care**. Leverkusen: Bayer, 1999. Cap. 10. p. 86-124.

OSBORNE, C. A.; STEVENS, J. B.. Urine sediment: under the microscope. In: OSBORNE, C. A.; STEVENS, J. B.. **Urinalysis: A clinical guide to Compassionate Patient Care**. Leverkusen: Bayer, 1999. Cap. 11. p. 125-150.

OTTO, C. M.; DROBATZ, K. J.; SOTER, C.. Endotoxemia and Tumor Necrosis Factor Activity in Dogs With Naturally Occurring Parvoviral Enteritis. **Journal Of Veterinary Internal Medicine**, v. 11, n. 2, p.65-70, mar. 1997.

OTTO, C. M.; RIESER, T. M.; BROOKS, M. B.; RUSSELL, M. W.. Evidence of hypercoagulability in dogs with parvoviral enteritis. **Journal Of The American Veterinary Medical Association**, v. 217, n. 10, p.1500-1504, nov. 2000.

PAES, A. C.. Parvovirose Canina. In: MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C.. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. Rio de Janeiro: Roca, 2016. Cap. 72. p. 768-785.

PARRISH, C. R.. Pathogenesis of feline panleukopenia virus and canine parvovirus. **Bailliere's Clinical Haematology**, v. 8, n. 1, p.57-71, mar. 1995.

POTGIETER, L. N. D.; JONES, J. B.; PATTON, C. S; WEBB-MARTIN, T. A. Experimental Parvovirus Infection in Dogs. **Canadian Journal Of Comparative Medicine**, v. 45, n. 1, p.212-216, jul. 1981.

PRITTIE, J. Canine parvoviral enteritis: a review of diagnosis, management, and prevention. **Journal Of Veterinary Emergency And Critical Care**, v. 14, n. 3, p.167-176, set. 2004.

PROKSCH, A.L.; UNTERER, S.; SPECK, S.; TRUYEN, U.; HARTMANN, K. Influence of clinical and laboratory variables on faecal antigen ELISA results in dogs with canine parvovirus infection. **The Veterinary Journal**, v.204, p.304-308, 2015.

RABELO, R. C.; ARNOLD, C. F. RICO Score – Parâmetros clínico-laboratoriais de cães atendidos em sala de urgência (HV – Universidade Complutense de Madrid) e associação com a sobrevivência às 24 horas, 7 dias e 28 dias. **Acta Scientiae Veterinariae**. v. 35, n. 2, p. 686-688, 2007.

RAJAMANICKAM, K.; KUMAR, RA R.; GOGOI, J.; LEELA, V.; GOWRISHANKAR, S.; PANDIYAN, A. S. S.. Evaluation of hemato-biochemical profile in different age group of dogs affected with haemorrhagic gastroenteritis. **International Journal Of Chemical Studies**, v. 5, n. 4, p.781-783, 2017.

REINE, N. J.; LANGSTON, C. E.. Urinalysis interpretation. **Clinical Techniques In Small Animal Practice**, v. 20, n. 1, p.2-10, fev. 2005.

REINEKE, E. L.; WALTON, K.; OTTO, C. M.. Evaluation of an oral electrolyte solution for treatment of mild to moderate dehydration in dogs with hemorrhagic diarrhea. **Journal Of The American Veterinary Medical Association**, v. 243, n. 6, p.851-857, 15 set. 2013. American Veterinary Medical Association (AVMA).

SCHREINER, G. E.. The Identification and Clinical Significance of Casts. **Archives Of Internal Medicine**, v. 99, n. 3, p.356-369, mar. 1957.

SILVA, I. N. G.; GUEDES, M. I. F.; ROCHA, M. F. G.; MEDEIROS, C. M. O.; OLIVEIRA, L. C.; MOREIRA, O. C.; TEIXEIRA, M. F. S.. Perfil hematológico e avaliação eletroforética das proteínas séricas de cães com cinomose. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 57, n. 1, p.136-139, fev. 2005.

SCHOEMAN, J. P.; GODDARD, A.; LEISEWITZ, A. L. Biomarkers in canine parvovirus enteritis. **New Zealand Veterinary Journal**, v. 61, n. 4, p.217-222, jul. 2013.

SHACKELTON, L.A.; PARRISH, C.R.; TRUYEN, U.; HOLMES, E.C. High rate of viral evolution associated with the emergence of carnivore parvovirus. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. v.102, p. 379-384, 2005.

SHAH, S. A.; SOOD, N.K.; WANI, N.; GUPTA, K.; SINGH, A. Haemato-biochemical changes in canine parvoviral infection. **Indian J Vet Pathol**, v. 37, n. 2, p.131-133, 2013.

STEVENSON, C. K.; KIDNEY, B. A.; DUKE, T; SNEAD, E. C. R.; MAINAR-JAIME, R. C.; JACKSON, M. L.. Serial blood lactate concentrations in systemically ill dogs. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 36, n. 3, p.234-239, set. 2007.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A.. Leucócitos. In: STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A.. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. Cap. 2. p. 45-89.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A.. Eletrólitos monovalentes e osmolalidade. In: STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A.. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. Cap. 9. p. 412-466.

STRECK, A. F.; SOUZA, C. K. de; GONÇALVES, K. R.; ZANG, L.; PINTO, L. D.; CANAL, C. W.. First detection of canine parvovirus type 2c in Brazil. **Brazilian Journal Of Microbiology**, v. 40, n. 3, p.465-469, set. 2009.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A.. Sistema urinário. In: STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A.. **Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. Cap. 8. p. 342-411.

TRUYEN, U. Evolution of canine parvovirus-A need for new vaccines? **Veterinary Microbiology**, v.117, p.9-13, 2006.

TRUYEN, U.; EVERMANN, J.F.; VIELER, E.; PARRISH, C.R. Evolution of Canine Parvovirus Involved Loss and Gain of Feline Host Range. **Virology**, v. 215, p. 186-189, 1996.

WALDROP, J. E.. Urinary Electrolytes, Solutes, and Osmolality. **Veterinary Clinics Of North America: Small Animal Practice**, v. 38, n. 3, p.503-512, maio 2008.

WEISS, D. J.; SOUZA, C. D.. Monocytes and Macrophages and Their Disorders. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J.. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6. ed. Iowa: Wiley-blackwell, 2010. Cap. 45. p. 298-306.

WILL, K.; NOLTE, I.; ZENTEK, J.. Early Enteral Nutrition in Young Dogs Suffering from Haemorrhagic Gastroenteritis. **Journal Of Veterinary Medicine Series A**, v. 52, n. 7, p.371-376, set. 2005. Wiley-Blackwell.

WILSON, S.; ILLAMBAS, J.; SIEDEK, E.; STIRLING, C.; THOMAS, A.; PLEVOVA, E.; STURE, G.; SALT, J.. Vaccination of dogs with canine parvovirus type 2b (CPV-2b) induces neutralising antibody responses to CPV-2a and CPV-2c. **Vaccine**, v. 32, n. 42, p.5420-5424, set. 2014

YILMAZ, Z.; ERALP, O.; ILCOL, Y. O.. Evaluation of platelet count and its association with plateletcrit, mean platelet volume, and platelet size distribution width in a canine model of endotoxemia. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 37, n. 2, p.159-163, jun. 2008. Wiley-Blackwell.

YILMAZ, Z.; SENTURK, S.. Characterisation of lipid profiles in dogs with parvoviral enteritis. **Journal Of Small Animal Practice**, v. 48, n. 11, p.643-650, nov. 2007.

YOUNG, K. M.; MEADOWS, R. L.. Eosinophils and Their Disorders. In: WEISS, D. J.; WARDROP, K. J.. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6. ed. Iowa: Wiley-blackwell, 2010. Cap. 43. p. 281-289.