

# Ribavirina e fase nervosa da cinomose: cura clínica, mas não esterilizante - Relato de dois casos\*

Kelvinson Fernandes Viana<sup>1+</sup> e Natália Soares Teixeira<sup>2</sup>

**ABSTRACT.** Viana K.F. & Teixeira N.S. [Ribavirin and nervous distemper phase: clinical cure, but not sterilizing- Report of two cases.] Ribavirina e fase nervosa da cinomose: cura clínica, mas não esterilizante - Relato de dois casos. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 37(1):29-32, 2015. Curso de Pós-Graduação em Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Av. Pres. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, Belo Horizonte, MG 31270-901, Brasil. E-mail: kelvinsonviana@yahoo.com.br

This paper reports the unconventional treatment of dogs infected with distemper virus. Two young dogs have entered a veterinary clinic with clinical signs of cinomose. Fez the diagnosis and started the treatment with ribavirin and unconventional IFN- $\alpha$ , and medication support. At the end of treatment, a dog was euthanized due to clinical worsening and other animal evolved well to chemoimmunotherapy. However, through the use of PCR Real time the urine sample was possible to confirm that the antiviral is not capable of generating curing sterilant. This report documents an unusual presentation for the treatment of CDV, since few studies have in vitro context only.

**KEY WORDS.** Canine distemper virus, ribavirin, treatment.

**RESUMO.** O presente trabalho relata o tratamento não convencional de cães infectados com o vírus da cinomose (CDV). Dois filhotes caninos deram entrada em uma clínica veterinária com sinais clínicos de cinomose. Fez-se o diagnóstico e iniciou-se o tratamento não convencional com ribavirina e IFN- $\alpha$ , além da medicação de suporte. Ao final do tratamento, um cão foi eutanasiado em decorrência da piora clínica e o outro animal evoluiu bem à quimioimunoterapia. No entanto, através da técnica Real Time-PCR de amostra de urina, foi possível confirmar que o antiviral não foi capaz de gerar cura esterilizante no cão que recebeu completo tratamento. Este relatório documenta uma apresentação incomum para o tratamento da cinomose canina, haja vista que, os poucos estudos na literatura baseiam-se, sobretudo, no contexto in vitro com antivirais contra CDV.

**PALAVAS-CHAVE.** Vírus da cinomose canina, ribavirina, tratamento.

## INTRODUÇÃO

A cinomose é uma doença infecciosa que ocorre em todo o mundo, sendo causada por um Morbillivirus da família Paramyxoviridae. O espectro de hospedeiros naturais do vírus da cinomose (CDV) compreende todas as famílias da ordem Carnivora (Deem et al. 2000). CDV é envelopado, de sentido negativo e cadeia simples de RNA, contendo seis proteínas estruturais (Lamb & Kolakofsky 2001).

Embora a doença tenha sido controlada através da vacinação, surtos de CDV ainda são relatados em todo o mundo (Martella et al. 2008). Até o momento, nenhum tratamento antiviral antiviral existe, embora haja crescente demanda por novos fármacos e opções de tratamento na espécie canina. Neste contexto, a ribavirina (1-b-D-ribofuranosil-1, 2, 4-triazol-3-carboxamida), também conhecida como Virazole<sup>®</sup>, um nucleosídeo sintético, apresentando amplo espectro antiviral contra DNA e RNA

\* Recebido em 10 de dezembro de 2012.

Aceito para publicação em 26 de fevereiro de 2014.

<sup>1</sup> Médico-veterinário, MSc. Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, Laboratório de Biologia das Interações Celulares (LABIC), Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Av. Pres. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, Belo Horizonte, MG 31270-901, Brasil. \*Autor para correspondência, E-mail: kelvinsonviana@yahoo.com.br

<sup>2</sup> Médica-veterinária, Clínica Veterinária Pet Center e Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), Alto Universitário, Alegre, ES 29500-000, Brasil. E-mail: tatyteixeira85@hotmail.com

vírus, podendo ser associada ao IFN- $\alpha$  para o tratamento de hepatite viral humana, apesar do sucesso nesta terapia ser limitada (Graci & Cameron 2006), vem sendo testado *in vitro* com células imortalizadas visando o tratamento canino.

O único estudo *in vivo* em que a ribavirina foi utilizada no tratamento de cães com a fase nervosa da doença (Mangia 2008), deixou algumas lacunas, entre eles, se o uso deste antiviral em cães poderia ser capaz de gerar cura esterilizante. Todavia, o estudo abriu perspectivas positivas quanto à implantação deste antiviral nos protocolos terapêuticos. Assim, o presente relato de caso traz uma avaliação clínica e laboratorial de dois cães infectados com CDV através da intervenção quimioterápica com ribavirina, bem como o fechamento do caso com o diagnóstico molecular pela técnica de PCR em tempo real.

## HISTÓRICO

Dois cães da raça Basset Hound, fêmeas, com 60 dias de vida foram recebidas no Pet Center Clínica Veterinária, Espírito Santo, Brasil. O tutor relatou que os animais foram adquiridos em 45 dias de vida em uma exposição de animais de estimação, tendo recebido apenas uma dose da vacina dectupla (Vanguard<sup>®</sup>) no momento da venda. Os cães apresentavam vômitos e diarreia. Foram solicitados exames sorológicos para *Ehrlichia*, *Babesia*, parvovirose e cinomose, sendo que, os três primeiros foram negativos e o último, positivo (Ig-M), respectivamente. Trimetoprim-sulfametoxazol, ranitidina, e escopolamina foi administrada durante todo o período de tratamento (quatro semanas) e vitamina A (20.000 UI / Sid / PO / durante seis dias). No entanto, na segunda semana de tratamento, foi incluída no protocolo ribavirina (Virazole<sup>®</sup>), que foi manipulada de modo a que as doses foram administradas a 60 mg / kg / PO / Sid / durante 15 dias. Todavia, os dois animais apresentaram efeitos colaterais com acentuação de vômitos e diarreia acompanhada de desidratação. Neste sentido, a partir do terceiro dia de tratamento, a dose de ribavirina foi reduzida para 30 mg / kg / PO / Sid / por mais 12 dias. Neste contexto, os cães apresentaram melhora clínica; as fezes haviam endurecido, os vômitos reduziram e a desidratação foi sanada. É importante ressaltar que, nenhum dos pacientes mostraram alterações nas contagens de células do sangue, hemogramas solicitados a cada cinco dias de tratamento com o antiviral.

A partir do dia 9º dia de tratamento com o antiviral, um dos cães apresentou sinais neurológicos, como choro noturno e mioclonia. Neste sentido, no dia 10 foi incluído no protocolo de tratamento o IFN- $\alpha$  (10UI/kg/Sid). O interferon foi mantido até o final do tratamento em ambos os pacientes. No entanto, o animal que apresentou sinais neurológicos, não houve melhora do quadro clínico, evoluindo os sinais neurológicos com paralisia total dos membros posteriores, além de intenso choro

noturno e mioclonia. Desta forma, tendo em vista o quadro em que o cão se encontrava, foi decidida a eutanásia, haja vista a ineficácia do tratamento. No entanto, a outra paciente apresentou significativa evolução da melhora clínica. É importante salientar que este paciente não apresentou qualquer sinal neurológico durante o tratamento com o antiviral. No final do tratamento (15 dias), a urina foi coletada e submetida ao laboratório para análise pela técnica de PCR em tempo real, visando detectar o vírus da cinomose canina. Após a conclusão dos resultados, o teste de PCR em tempo real foi positivo a partir da amostra de urina. Neste contexto, o cão foi monitorado durante 30 dias, sendo que, neste período não foi encontrada qualquer alteração clínica na paciente.

## DISCUSSÃO

A cinomose é uma doença infecciosa de canídeos que ocorre em todo o mundo, causada por um morbillivírus, estando intimamente relacionado com o vírus do sarampo e o vírus peste bovina (Beincke et al. 2009). A gama de hospedeiros naturais do vírus da cinomose canina (CDV) compreende todas as famílias da ordem Carnivora (Deem et al. 2000). A disseminação do vírus entre o tecido epitelial e sistema nervoso central (SNC) ocorre dentro de 8-10 dias após a infecção, por meio de fluido cerebrospinal ou hematogênica, dependendo da resposta imune humoral ou celular do animal (Greene & Appel 2006). Segundo Elia et al. (2007), a ribavirina provoca mutações no vírus da cinomose canina, acarretando erros catastróficos no genoma do RNA viral. Pode-se especular que a ribavirina interfere com a RNA polimerase por competição com os nucleósidos naturais e produz erro na terminação da cadeia do vírus (Mangia 2008).

Mangia (2008) demonstraram que a utilização de ribavirina em cães naturalmente infectados apresentando sinais de doença neurológica foi eficaz no tratamento, no contexto da melhora clínica, com 70% dos animais tratados com ribavirina e 80% dos cães tratados com ribavirina associada ao (Dimetil sulfóxido) DMSO (Mangia 2008). O efeito antiviral de ribavirina contra CDV foi demonstrada *in vitro* (Scagliarini et al. 2006). A titulação do vírus revelou que os maiores efeitos inibitórios sobre o crescimento viral ocorram com 40 e 20 ug / ml após 24 horas após a infecção, enquanto que, após 48 e 72 horas pós-infecção, apenas 40 ug / ml foi capaz de inibir a replicação viral por 1 log em comparação com o controle não tratado (Scagliarini et al. 2006). Da mesma forma, Elia et al. (2008) em outro estudo *in vitro* também obteve resultados significativos na infecção de células VERO, indicando que o antiviral tem fortes efeitos inibitórios sobre

a replicação do CDV. Por outro lado, Dal-Pozzo et al. (2010) obtiveram melhores resultados com o antiviral 5-etinil-1-b-D-ribofuranosylimidazole-4-carboxamida (EICAR), sendo mais eficaz contra a replicação viral *in vitro* em comparação com a ribavirina.

A concentração celular sanguínea permanece em níveis estáveis por até três semanas, após o tratamento com ribavirina, quando há uma diminuição da hemoglobina. Curiosamente, as mudanças na concentração celular de ribavirina estão inversamente relacionadas com alterações na hemoglobina (Inoue et al. 2004). Da mesma forma Mangia (2008) encontrada no 15º dia de administração da droga havia uma diferença significativa entre os dois grupos (ribavirina e ribavirina + DMSO), apresentando uma diminuição acentuada na concentração de hemoglobina no grupo tratado somente com ribavirina. Por outro lado, no presente relato não foi encontrado nenhuma alteração hematológica nos animais até o fim do tratamento.

Cinomose é uma doença que ainda causa muito dano para a saúde animal, causando grande temor entre os proprietários, principalmente devido à sintomatologia nervosa e morte do animal. Infelizmente, ainda não há um protocolo de tratamento bem definido contra cinomose, sendo o tratamento convencional baseado em medicações de suporte. No entanto, o trabalho desenvolvido por Mangia (2008) foi importante para a utilização de ribavirina *in vivo* em cães naturalmente infectados com o vírus da cinomose. De fato, embora os resultados sejam preliminares, abriram perspectivas para a implementação de novos protocolos na prática clínica. A citocina IFN- $\alpha$  já vem sendo utilizado no tratamento de doenças virais em felinos, tratando-se de um importante fator de ativação de macrófagos, bem como no bloqueio de partículas virais. Além disso, existem evidências para a modulação direta do IFN- $\alpha$  na atividade antiviral, haja vista seu efeito tende a ser potencializado em temperaturas elevadas, no contexto *in vitro* (Hirai et al. 1984).

Neste sentido, a adição de um fator imunoterápico ao tratamento da cinomose pode atuar como adjuvante durante o tratamento. No entanto, mesmo que a ribavirina seja um promissor antiviral, especialmente se for aplicado na fase inicial da infecção, sua ação parece não surtir substanciais efeitos diretos no vírus quando este já se encontra disseminado no SNC. Neste relato de caso, um animal não evoluiu bem para a melhora clínica, mas o outro paciente não apresentou sintomas neurológicos, no entanto, mesmo após o tratamento do cão per-

maneceu, o teste de Real Time-PCR detectou RNA viral na urina.

A amostra de urina é importante para a detecção do vírus da cinomose canina por RT-PCR, especialmente em animais que apresentam sintomatologia clínica nervosa (Gebara et al. 2004, Amaral et al. 2008). Da mesma forma, Del Puerto et al. (2010) obteve importantes resultados com a técnica de PCR em tempo real na identificação do CDV em amostras de sangue de cães na fase inicial da infecção, tratando-se de uma boa ferramenta no diagnóstico precoce, visando rápida intervenção terapêutica. A otimização de ferramentas moleculares que permitem o diagnóstico conclusivo de laboratório *anti mortem* de CDV, tais como a técnica utilizada neste relato de caso, é de grande fundamental importância clínica. No entanto, deve-se observar o tipo de amostra clínica a ser submetida para análise, haja vista que o material pode também influenciar significativamente na sensibilidade da técnica (Negrão et al. 2007).

Tendo em vista que, embora a terapia antiviral possa fornecer resultados promissores no tratamento da cinomose canina, os dados disponíveis na literatura ainda são muito incipientes, sobretudo quanto à sua dose, toxicidade e, principalmente, em referência ao seu efeito esterilizante. Neste sentido, é fundamental que novos estudos inerentes à intervenção antiviral na fase inicial da infecção sejam desenvolvidos. Todavia, a vacinação correta ainda é o principal método de prevenção desta enfermidade.

## REFERÊNCIAS

- Amaral H.A., Cortez A., Richtzenhain L.J., Funada M.R., Soares R.M., Durigon E.L. & Larsson M.H.M.A. PCR detection of canine distemper virus from biological fluids. *J. Vet. Res.*, 12:70-75, 2008.
- Beineke A., Puff C., Seehusen F. & Baumgärtner W. Pathogenesis and Immunopathology systemic and nervous canine distemper. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 127:1-18, 2009.
- Deem S.L., Spelman L.H., Yates R.A. & Montali R.J. Canine distemper in terrestrial carnivores: a review. *J. Zoo Wildl. Med.*, 31:441-451, 2000.
- Dal Pozzo F., Galligioni V., Vaccari F., Gallina L., Battilani M. & Scagliarini A. Antiviral efficacy of EICAR against canine distemper virus (CDV) *in vitro*. *Res. Vet. Sci.*, 88:339-344, 2010.
- Del Puerto H.L., Vasconcelos A.C., Moro L., Alves F., Braz G.F. & Martins A.S. Canine distemper virus detection in asymptomatic and non vaccinated dogs. *Pes. Vet. Bras.*, 30:139-144, 2010.
- Elia G., Belloli C., Cirone F., Lucente M.S., Caruso M., Martella V., Decaro N., Buonavoglia C. & Ormas P. In vitro efficacy of ribavirin against canine distemper virus. *Antiviral Res.*, 77:108-113, 2008.
- Gebara C.M.S., Wosiacki S.R., Negrão F.J., de Oliveira D.B., Beloni S.N.E., Alfieri A.A. & Alfieri A.F. Detecção do gene da nucleoproteína do vírus da cinomose canina por RT-PCR em urina de cães com sinais clínicos de cinomose. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 56:480-487, 2004.
- Graci J.D. & Cameron C.E. Mechanisms of action of ribavirin against distinct viruses. *Rev. Med. Virol.*, 16:37-48, 2006.

- Greene C.E. & Appel M. Canine distemper, p.25-41. In: Greene C.E. (Ed.), *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 3<sup>rd</sup> ed. Elsevier, 2006.
- Hirai N., Hill N.O. & Osther K. Temperature influences on different human alpha interferon activities. *J. Interferon Res.*, 4:507-516, 1984.
- Lamb R.A. & Kolakofsky D. *Paramyxoviridae: the viruses and their replication*, p.1305-1443. In: Knipe D.M. & Howley P.M. (Eds), *Fields of Virology*. 4<sup>th</sup> ed. vol. 1. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2001.
- Mangia S.H. *Tratamento experimental de cães naturalmente infectados com o vírus da cinomose na fase neurilógica com o uso de ribavirina e Dimetil Sulfoxido (DMSO)*. Dissertação, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, 2008. 137f.
- Scagliarini A., Vaccari F., Gallina L., Dal Pozzo F. & Prospero S. In vitro evaluation of antiviral activity of ribavirin against canine distemper virus. *Vet. Res. Commun*, 30(Suppl 1):269-272, 2006.
- Martella V., Elia G. & Buonavoglia C. Canine distemper virus. *The Veterinary Clinics of North America. Small Anim. Pract.*, 38:787-797, 2008.
- Negrão F.J., Alfieri A.A. & Alfieri A.F. Evaluation of the urine and leucocytes as biological samples for ante mortem detection of canine distemper virus by RT-PCR assay in naturally infected dogs. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 59:53-57, 2007.