

DIAGNÓSTICO DE INFECÇÕES CONCOMITANTES POR *Cystoisospora ohioensis* E O VÍRUS DA CINOMOSE - RELATO DE DOIS CASOS*

DIAGNOSTIC OF AN CONCOMITANT INFECTIONS DUE TO *Cystoisospora ohioensis* AND CANINE DISTEMPER VIRUS - REPORT OF TWO CASES*

Paulo Daniel Sant'Anna Leal¹, Patrícia Rocha Pontes², Walter Flausino³
e Carlos Wilson Gomes Lopes⁴

ABSTRACT. Leal P.D.S., Pontes, P.R., Flausino, W. & Lopes C.W.G. [Diagnostic of concomitant infections due to *Cystoisospora ohioensis* and canine distemper virus – Report of two cases]. Diagnóstico de infecções concomitantes por *Cystoisospora ohioensis* e o vírus da cinomose -Relato de dois casos. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 33(3): 184-188, 2011. Curso de Pós-Graduação de Ciências Veterinárias. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. BR 465 km 7. Seropédica, 23.890-000, RJ. Brasil. E-mail: pauloleal@ctiveterinario.com.br

In routine clinical diagnosis is based, with attention to developments and laboratory findings which intercurrent infections have been observed frequently. We report two cases of clinical laboratory diagnosis in *Cystoisospora ohioensis* infection associated with canine distemper virus in dogs. Thereby proving the value of visualization of viral inclusions (Lentz corpuscles) in red blood cells and antibodies in the diagnosis of canine distemper, need to find oocysts in stool, measurement of the oocysts, and sporozoites in their respective cistisporose by *C. ohioensis*.

KEY WORDS. Enteritis, canine distemper, coccidiosis, concomitant infections.

RESUMO. Na rotina clínica o diagnóstico é fundamental, com atenção para a evolução e em achados laboratoriais onde as infecções intercorrentes têm sido observadas com frequência. Relata-se dois caso de diagnóstico clínico laboratorial na infecção por *Cystoisospora ohioensis* associado ao vírus da cinomose em cães. Comprovando assim, o valor do exame clínico, da visualização de inclusões virais (Corpúsculo de Lentz) em hemácias e detecção de anticorpos no diagnóstico da cinomose, necessidade de encontro de oocistos nas fezes, mensuração dos oocistos esporulados, e seus

respectivos esporozoítos na cistisporose por *C. ohioensis*.

PALAVRAS-CHAVE. Enterite, cinomose, coccidiose, infecções concomitantes.

INTRODUÇÃO

Cystoisospora ohioensis, espécie do gênero *Cystoisospora* (Frenkel & Smith 2003), parasito do intestino de cães, associado a sinais intestinais de diarreia pastosa e/ou líquida (Olson 1985, Dauschies et al. 2000), afeta frequentemente os cães jovens submetidos à aglomeração e manejo inadequado

* Recebido em 14 de dezembro de 2011.

Aceito para publicação em 24 de maio de 2011.

¹ Médico-veterinário, M. MV. Curso de Pós-Graduação de Ciências Veterinárias. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). BR 465 km 7. Seropédica, 23.890-000, RJ. E-mail: pauloleal@ctiveterinario.com.br

² Médica-veterinária. Centro de Terapia Intensiva e Emergência Veterinária. Av. das Américas, 3939, Bloco 2, Loja I. Barra da Tijuca, 22.631-003, RJ. E-mail: ctivet@ctiveterinario.com.br

³ Biólogo, PhD. Departamento em Parasitologia Animal (DPA), Instituto de Veterinária (IV), UFRRJ. BR 465 km 7. Seropédica, 23.890-000, RJ. E-mail: flausino@ufrj.br

⁴ Médico-veterinário, PhD, LD. DPA, IV, UFRRJ. BR 465 km 7. Seropédica, 23.890-000, RJ. E-mail: lopescw@ufrj.br

com higiene insuficiente, favorecendo a disseminação dos oocistos que, quando esporulados passam a ser infectantes (Rodrigues & Menezes 2003), o que faz com que ocorram surtos em cães de criação ou se manifestando após a troca de ambiente pelo estresse. O diagnóstico preliminar desta parasitose, que se restringe ao gênero, se faz com a observação de oocistos nas fezes. Para o diagnóstico específico é necessária a mensuração dos oocistos esporulados, e seus respectivos esporocistos (Olson 1985, Oliveira et al. 2000, Teixeira Filho et al. 2010).

Apesar de se manifestar com moderada patogenicidade, principalmente em cães jovens, podem ser predisponentes para doenças virais, que possuem tropismo pelo epitélio intestinal. Dentre estas, a cinomose, doença que acomete trato respiratório, intestinal e o sistema nervoso dos cães, principalmente nos animais jovens, entre três e seis meses de idade (Norris et al. 2006, Silva et al. 2007), com taxa de mortalidade alta, é a segunda depois da raiva, causada por *morbilivírus* (família *Paramyxoviridae*) semelhante aos vírus do sarampo humano, possui linfotropismo, que conduz à imunossupressão com linfopenia (Tatsuo et al. 2001, Moro et al. 2003).

Na rotina clínica o diagnóstico é fundamental, com atenção para a evolução e em achados laboratoriais onde as infecções intercorrentes têm sido observadas com frequência.

O presente trabalho assinala a importância do diagnóstico clínico e laboratorial nas infecções por espécies do gênero *Cystoisospora* associado ao vírus da cinomose em cães, comprovando assim, o valor da visualização de inclusões virais (Corpúsculo de Lentz) em hemácias no diagnóstico da cinomose (Silva et al. 2005) e presença de oocistos no diagnóstico da cistoisporose por *C. ohioensis* (Olson 1985, Conboy 1998, Oliveira et al. 2000).

HISTÓRICO

Dois cães do sexo feminino, com três meses de idade, foram atendidos no Centro de Terapia Intensiva e Emergência Veterinária, com histórico de diarréia fétida e de cor marrom, prostração, que haviam sido primovacinações contra cinomose, desidratação em torno de 6 a 10 %, tempo de preenchimento capilar maior que dois segundos, palpação abdominal acusando dor, descamação na pele, secreção ocular com conjuntiva hiperêmica e baixa produção de lágrima, compatível com ceratoconjuntivite seca. Com suspeita clínica de cinomose.

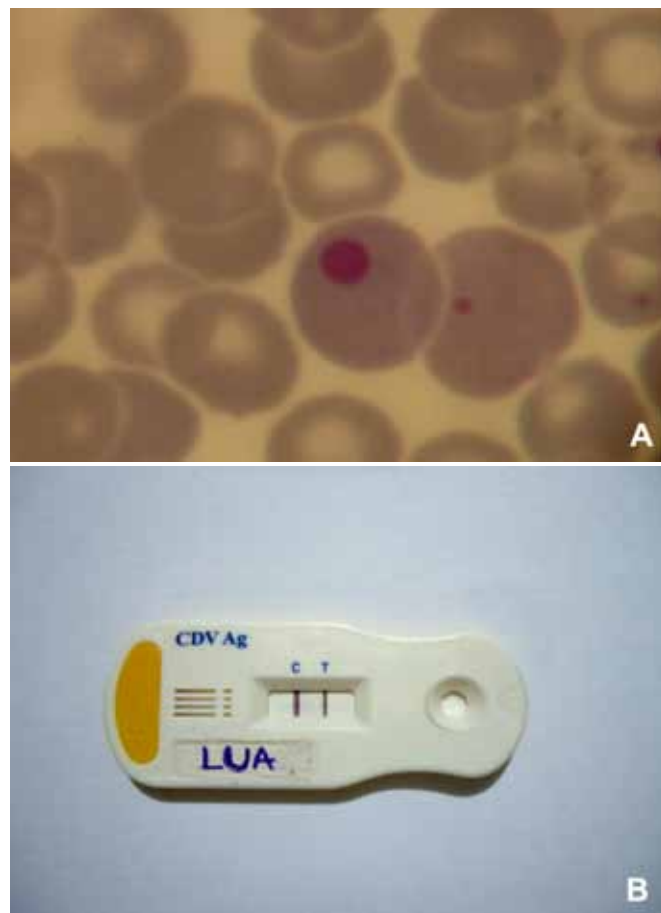


Figura 1. Cinomose em um cão. Inclusão de Lentz em eritrócito (a), estiraço de sangue. Panóptico. Obj. 100X. Diagnóstico sorológico positivo (b).



Figura 2. Oocisto esporulado de *Cystoisospora ohioensis* em fezes de um cão. Solução saturada de sacarose. Obj. 40X.

Com o intuito de confirmar a suspeita clínica, coletou-se amostra de sangue em seringa de 5 mL, com agulha 25 x 7 mm onde 3 mL acondicionada em tubo de ensaio pediátrico com anticoagulante (EDTA), e 2 mL em tubo de ensaio pediátrico sem anticoagulante. Com o material da própria se-

Tabela 1. Medidas comparativas de *Cystoisospora ohioensis*.

Referências	Oocistos(µm)		Índice Morfométrico	Esporocistos (µm)	
	Diâmetros			Diâmetros	
	Maior	Menor		Maior	Menor
Rocha e Lopes (1971)	22,42 (18,6-25,5)	18,43 (15,2-21,9)	-	-	-
Soulsby 1987	20-27	15-24	-	-	-
Oliveira et al. (2000)	21,20	18,97	1,12	13,25	10,24
Rodrigues & Menezes, 2003					
Canil de Itaguaí, RJ.	20,83	18,14	1,16	13,67	9,46
Canil no Rio de Janeiro, RJ	21,63	17,30	1,27	13,62	9,81
Teixeira Filho et al. 2010					
Armazenado	23,82	21,24	1,12	19,78	14,35
1ª passagem	26,17	23,23	1,12	16,43	12,67
2ª passagem	20,84	18,59	1,12	13,61	9,59
Presente trabalho	18,95 (17,64-20,58)	17,14 (15,12-19,11)	1,00	14,45 (13,02-15,54)	9,35 (8,40-10,29)

^a Canil de Itaguaí, RJ.

^b Canil de Rio de Janeiro, RJ.

ringa preparou-se dois estiraços sanguíneos em lâminas de vidro e dosagem da glicose em aparelho automático (Accu-Chek Advantage II - Roche). As amostras foram processadas no próprio local, para hemograma completo (leucograma, eritrograma, plaquetometria, proteína total), com a utilização de aparelho automático (Ms4-Vet-Melet Schloesing Laboratoires coulter), Refratômetro Portátil e Microcentrifuga (E3500108 **MICROSPIN** CDR). As amostras sem anticoagulante foram centrifugadas em centrífuga (Mod. 208N, Excelsa Baby, marca Fanem Ltda.) a 350 G por 10 minutos, para separação do soro, e utilizando pipeta automática de 3µl, para dosagem do Potássio em aparelho de fotometria de reflectância (Reflotron® Plus Roche).

Os resultados encontrados nos exames hematológicos foram: anemia discreta normocítica hipocrômica, leucopenia com linfopenia, neutropenia, com desvio nuclear de neutrófilos a esquerda discreto regenerativo, eosinopenia e trombocitopenia, proteína plasmática no limite mínimo, glicemia muito abaixo dos valores de normalidade (<20 mg/dL) em um dos casos, e a mensuração do potássio se encontrava dentro da faixa de normalidade em ambos os casos.

A contagem específica dos leucócitos e observações pertinentes foi após coloração do estiraço sanguíneo utilizando coloração hematológica estabelecida por Romanowsky (Panótico Rápido LB). Na citoscopia do estiraço sanguíneo, foram visualizadas em um dos casos, várias inclusões virais (Corpúsculo de Lentz) em hemácias, confirmando o diagnóstico de cinomose (Silva et al. 2005, Almeida et al. 2010).

Amostras fecais foram coletadas em frascos estéreis e armazenadas em temperatura de refrigeração, posteriormente analisadas utilizando a técnica de flutuação em solução saturada de sacarose (Birgel et al. 1982). Com a observação de oocistos, parte das amostras restantes foram homogeneizadas em solução de K₂Cr₂O₇ a 2,5% e armazenadas em temperatura ambiente, para se processar a esporulação (Rocha & Lopes 1971). Os oocistos obtidos após esporulação foram medidos com ocular micrométrica K-15X (PZO) e fotografados em microscópio Nikon E 200, sendo a morfologia do oocistos esporulado compatível para *C. ohioensis* (Rocha & Lopes 1971, Oliveira et al. 2000, Rodrigues & Menezes 2003, Teixeira Filho et al. 2010).

Teste Elisa para cinomose (*ANIGEN RAPID CDV Ag TEST KIT*) foi utilizado para presença de anticorpos contra o vírus da cinomose, constatando a presença de anticorpos contra o vírus da cinomose nos dois casos.

DISCUSSÃO

A ocorrência da coccidiose pode ser exacerbada pelos efeitos imunossupressores da infecção concomitante com o vírus da cinomose (Hoskins 2004). A cistisporose infecta cães jovens e submetidos a estresse, condição que leva a incompetência do sistema imunológico (Rodrigues & Menezes 2003). Sinais clínicos intestinais como diarreia pastosa e líquida são compatíveis com esta protozoose (Olson 1985, Dauschies et al. 2000). Apesar de se manifestar com moderada patogenicidade em animais jovens, entre três e seis meses de idade, podem ser predisponentes a doenças virais, que possuem tro-

pismo pelo epitélio intestinal, respiratório e sistema nervoso, como é o caso do vírus da cinomose (Olson 1985, Norris et al. 2006, Silva et al. 2007), possuindo linfotropismo, que conduz à imunossupressão com marcante linfopenia (Tatsuo et al. 2001, Moro et al. 2003).

Na cistoisosporose é comum a diarreia mucóide ou sanguinolenta, não é incomum haver pneumonia secundária, por imunoincompetência. Nos casos graves há sinais nervosos, ora com apatia ou com tremores, mioclonias e convulsões, devido às lesões entéricas que podem estimular os plexos ou permitir aumento de absorção de substâncias tóxicas intestinais (endotoxinas bacterianas e outras). O exame direto microscópico determinará a presença de oocistos característicos (Corrêa & Corrêa 1992). Lesões no epitélio intestinal associados com *C. ohioensis*, com consequente diarreia, levam a hipofagia ou anorexia (Conboy 1998). Dessa forma, a diminuição da ingestão protéica bem como o comprometimento intestinal são fatores determinantes para a hipoalbuminemia, assim como na cinomose (Silva et al. 2005). Isso justifica a hipoproteinemia (Olson 1985, Conboy 1998), consequência da síndrome de má absorção pelas lesões na mucosa intestinal.

Infecções sem sintomas são descritas particularmente em casos com *C. ohioensis* (Daughschies et al. 2000), sinais clínicos com alterações na consistência das fezes, diarreia com sangue, dores abdominais, anemia, apatia e morte podem estar associadas a cães jovens, alterações respiratórias e neurológicas também podem ser observadas (Conboy 1998), onde os sinais clínicos se confundem com a cinomose, que variam de acordo com a virulência da cepa infectante, com o estado imunológico e com a idade do animal e com maior frequência são observadas alterações oculares, respiratórias, gastrointestinais e neurológicas (Gebara et al. 2004). Esses sinais podem, isoladamente ou em associação, ser encontrados em outras co-infecções causadas pela imunossupressão do vírus da cinomose, como na da coccidiose (Ettinger & Feldman 1997, Swango 1997, Conboy 1998), dificultando com isso o diagnóstico clínico (Rezende et al. 2009).

A ceratoconjuntivite seca, presente nos casos relatados, que levam a diminuição da secreção lacrimal, é frequente em animais diagnosticados com o vírus da cinomose (Ettinger & Feldman 1997; Tudury et al. 1997), porém se deve atentar para a produção lacrimal estar diminuída devido a desidrata-

ção, principalmente devido a diarreia (Olson 1985, Daugschies et al. 2000).

Os resultados clínicos laboratoriais encontrados são compatíveis com o da cinomose, anemia normocítica normocrômica e trombocitopenia (Hoskins 2004, Silva et al. 2005), porém o diagnóstico definitivo, através da citoscopia do estirado sanguíneo, onde foi possível visualizar inclusões virais (Corpúsculo de Lentz) em hemácias em um dos casos, confirmando o diagnóstico de cinomose (Silva et al. 2005, Schweigert et al. 2008). O kit comercial Anigen® Teste Elisa para cinomose (*ANIGEN RAPID CDV Ag TEST KIT*) que constatou a presença de anticorpos contra o vírus da cinomose em ambos os casos detecta a proteína F do vírus, constituinte comum a todas as cepas existentes, com sensibilidade 98,9% e especificidade 97,7% confirmando a suspeita com base nos sinais clínicos, associado a sinais neurológicos possui 100% de sensibilidade (Rezende 2009), lhe conferindo um excelente meio de diagnóstico, assim como a presença de oocistos nas fezes, no diagnóstico da cistoisosporose por *C. ohioensis* em cães (Olson 1985, Conboy 1998, Oliveira et al. 2000).

Infecções aparente, alterações no hemograma e no caso em que houve presença da inclusão viral em eritrócitos, determinaram a evolução da infecção, com presença de sinais neurológicos, já se observava, também, leucopenia com linfopenia e neutropenia (Silva et al. 2005, Almeida et al. 2009), a maioria dos animais acometidos por cinomose estarão linfopênicos (Moro et al. 2003). As alterações neurológicas, traduzidas por convulsões, juntamente com sinais vestibulares, como ataxia e nistagmo, e cerebelares, como tremores e hipermetria, são os mais frequentemente encontrados em cães com a forma neurológica da cinomose, como na evolução destes animais (Gebara et al. 2004), que foram a óbito.

A presença dos achados laboratoriais e a evolução para sinais neurológicos têm sido destacadas como as principais manifestações clínicas da doença. Ocorrência de sinais intestinais, respiratórios e neurológicos, deve chamar a atenção do clínico para o diagnóstico de cinomose, porém, não se podem descartar outros agentes etiológicos que propiciem a invasão do vírus principalmente na mucosa intestinal e como infecção concomitante, como a cistoisosporose, levando a uma maior morbidade e mortalidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida R.K., Vasconcelos A.C., Carneiro R.A., Paes P.R.O. & Moro L. Alterações citológicas do sangue periférico e da medula óssea de cães com cinomose. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 61:1255-1260, 2009
- Birgel E.H., Netto L.P., Amaral V., Giorgi W. & Panetta J.C. *Meios e métodos de diagnóstico em Medicina Veterinária*. 4ª ed. São Paulo, Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1977. 218 p.
- Conboy G. Canine coccidiosis. *Can. Vet. J.*, 39:443-444, 1998.
- Corrêa W.M. & Corrêa C.N.M. *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos*, 2ª edição, Medsi, Rio de Janeiro, 1992, p.655-669.
- Dauguschies A., Mundt H.C. & Letkova V. Toltrazuril treatment of cystoisosporosis in dogs under experimental and field conditions. *Parasitol. Res.*, 86:797-799, 2000.
- Ettinger S.J. & Feldman E.C. *Tratado de medicina interna veterinária*, 4ª edição Manole, São Paulo, 1997, p.576-579, 750-751, 880-883, 926-928, 1099-1100.
- Frenkel J.K. & Smith D.D. Determination of the genera of cyst-forming coccidian. *Parasitol. Res.*, 91:384-389, 2003.
- Gebara C.M.S., Wosiacki S.R., Negrão F.J., Alfieri A.A. & Alfieri A.F. Lesões histológicas no sistema nervoso central de cães com encefalite e diagnóstico molecular da infecção pelo vírus da cinomose canina. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 56:168-174, 2004.
- Hoskins J.D. Doenças Virais Caninas, p.440-441. In: Ettinger S.J. & Feldman E.C. (Eds), *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. Ed.5 Guanabara Koogan, São Paulo, 2004.
- Moro L., Alves C.M., Santos F.G.A., Nunes J.E.S., Carneiro A. & Vasconcelosa C. Ocorrência de apoptose em leucócitos no esfregaço de sangue periférico e em sincícios na infecção *in vivo* pelo vírus da cinomose canina. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 55: 110-112. 2003.
- Norris J.M., Krockenberger M.B., Baird A.A. & Knudsen G. Canine distemper: re-emergence of an old enemy. *Aust. Vet. J.*, 84: 362-363, 2006.
- Oliveira F.C.R., Albuquerque G.R., Lopes C.W.G. & Munhoz A.D. Oocistos de *Cystoisospora ohioensis* (Dubey, 1975) Frankel, 1977 (Apicomplexa: *Cystoisospora*) em cães de uma ninhada infectada em condições naturais. *Rev. Univ. Rural: Cienc. Vida*, 22(supl. 1):107-111, 2000.
- Olson M.E. Coccidiosis caused by *Isospora ohioensis*-like organisms in three dogs. Case report. *Can. Vet. J.*, 26:112-114, 1985.
- Rezende R.S., Coelho H.E., Kamimura R., Severino R.S., Oliveira P.C.L. & Medeiros A.A. & Magalhães A.O.C. Análise microscópica do miocárdio ventricular esquerdo em cães soropositivos para cinomose. *Pesq. Vet. Bras.*, 29:117-119, 2009.
- Rocha E. & Lopes C.W.G. Comportamento da *Isospora canis*, *Isospora felis* e *Isospora rivolta* em infecções experimentais em cães e gatos. *Arq. Univ. Fed. Rur. Rio de J.*, 1:81-96, 1971.
- Rodrigues A.N. & Menezes R.C.A.A. Infecção natural de cães por espécies do gênero *Cystoisospora* (Apicomplexa: *Cystoisosporinae*) em dois sistemas de criação. *Rev. Clin. Vet.*, 42:24-30, 2003.
- Schweigert A., Cavalheri V.M., Fernandes R.R. & Gebara C.M.S. Frequência de corpúsculos de inclusão de Lentz em células sanguíneas e oculares de Cães suspeitos de cinomose atendidos no Hospital Veterinário da faculdade integrado de Campo Mourão-PR. *Campo Dig.*, 1-2:90-92, 2008.
- Soulsby E.J.L., *Parasitologia y Enfermidades Parasitarias en los Animales Domésticos*. 7ª ed. Interamericana, México, 1987. 663p.
- Swango L.S. Moléstias virais caninas, p.312. In: Ettinger S.J. (Ed.), *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. 3ª ed., Manole, São Paulo, 1992.
- 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. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 57:136-139, 2005.
- Tatsuo H., Ono N. & Yanagi Y. Morbilliviruses Use Signaling Lymphocyte Activation Molecules (CD150) as Cellular Receptors. *J. Virol.*, 75:5842-5850, 2001.
- Teixeira Filho W.L., Cardozo S.V. & Lopes C.W.G. Viabilidade e morfologia dos oocistos de *Cystoisospora ohioensis* (Dubey, 1975) Frankel, 1977 (Apicomplexa: *Cystoisosporinae*) eliminados por cães infectados experimentalmente. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 32:161-165, 2010.
- Tudury E.A., Arias M.V.B., Bracarense A.P.F.L., Megid J. & Dias Júnior R.F. Observações clínicas e laboratoriais em cães com cinomose nervosa. *Cienc. Rur.*, 27:229-235, 1997