



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE PATOS – PB

**PARVOVIROSE CANINA NO SEMIÁRIDO PARAIBANO: CARACTERIZAÇÃO
MOLECULAR, CLÍNICO-PATOLÓGICO E CARDIOVASCULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

ANGÉLICA RAMALHO DE ARAÚJO LEITE

PATOS - PB
DEZEMBRO - 2013

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
CAMPUS DE PATOS – PB**

**PARVOVIROSE CANINA NO SEMIÁRIDO PARAIBANO: CARACTERIZAÇÃO
MOLECULAR, CLÍNICO-PATOLÓGICO E CARDIOVASCULAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

ANGÉLICA RAMALHO DE ARAÚJO LEITE

Orientador: Prof. Dr. Almir Pereira de Souza

**PATOS - PB
DEZEMBRO – 2013**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO CSTR

L533p Leite, Angélica Ramalho de Araújo
Parvovirose canina no semiárido paraibano: caracterização
molecular clínico-patológico e cardiovascular / Angélica Ramalho
de Araújo Leite. – Patos, 2013.

62f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de
Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural.

“Orientação: Prof. Dr. Almir Pereira de Souza”

Referências.

1. *Parvovirus*. 2. Biomarcadores. 3. Eletrólitos.

I. Título.

CDU 616:619

ANGÉLICA RAMALHO DE ARAÚJO LEITE

**PARVOVIROSE CANINA NO SEMIÁRIDO PARAIBANO: CARACTERIZAÇÃO
MOLECULAR, CLÍNICO-PATOLÓGICO E CARDIOVASCULAR**

Dissertação aprovada pela Comissão Examinadora em: 19/12/2013.

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Almir Pereira de Souza

Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG

Profa. Dra. Rosângela Maria Nunes da Silva

Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG

Prof. Dr. Alexandre Mendes Amude

Universidade de Cuiabá/UNIC



UNIVERSIDADE FEDERAL DE
CAMPINA GRANDE

CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
MESTRADO E DOUTORADO EM MEDICINA VETERINÁRIA
COORDENAÇÃO DO PROGRAMA
CAMPUS DE PATOS

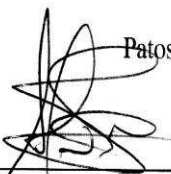
ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO


Aos 19 dias do mês de dezembro de 2013, às 8 horas, sob a presidência do Professor Doutor Almir Pereira de Souza e com a participação dos Professores Doutores Alexandre Mendes Amude e Rosângela Maria Nunes da Silva, reuniu-se a banca de defesa de dissertação de Angélica Ramalho de Araújo Leite, aluna do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária.

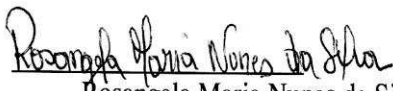
O resultado da defesa intitulada "**Parvovirose Canina no Semiárido Paraibano: Caracterização Molecular, Clínico-Patológico e Cardiovascular**", foi considerado **-APROVADO-**.

Do que, para constar, eu, secretário, lavrei a presente ata que depois de lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da banca examinadora.

Patos (PB), 19 de dezembro de 2013.

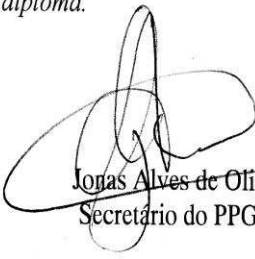

Almir Pereira de Souza
Presidente


Alexandre Mendes Amude
Membro


Rosângela Maria Nunes da Silva
Membro

OBS: - O presidente da banca examinadora, através do Departamento de vinculação do curso, deverá enviar o original da presente ata à Pró-Reitoria de Pós-Graduação, até 48 horas após a realização da defesa.

- Este documento não substitui o diploma.


Jonas Alves de Oliveira
Secretário do PPGMV

Ao meu pai, Marconi Araújo Leite (*In Memoriam*), que me deixou a herança mais rica de todas: a educação! Nunca me esqueci disso! Hoje estou certa que esta é a maior riqueza que tenho, a qual ninguém vai poder tirar. Tenho certeza que aí do céu estará radiante por mais uma etapa conquistada na minha carreira. Muito obrigada por tudo!

À minha mãe, Maria Ramalho de Araújo Leite, pelo incentivo e apoio, e por se orgulhar de mim, estando sempre ao meu lado nos momentos mais difíceis. Mesmo nas minhas ausências, sei que sempre estará comigo!

À minha filha de criação, Mel, pela fidelidade e companheirismo.

Dedico

Agradeco

À **Deus**, por me dar força, sabedoria e paciência para superar os obstáculos que surgiram no caminho. Não foi fácil!

Aos **Animais**, que foram a razão e o instrumento para a realização desta pesquisa e aos seus **Proprietários**, pela confiança depositada em mim e por permitirem estudá-los.

Ao meu orientador **Almir Pereira de Souza**, a quem sou muito grata por ter me ajudado e incentivado desde a preparação para seleção do mestrado, acreditando em mim e por todas as oportunidades oferecidas. Seus ensinamentos foram muito importantes para meu crescimento pessoal e profissional. Hoje me sinto mais confiante e mais preparada diante as adversidades e problemas de cada dia.

A **Anderson Medeiros**, pela paciência, companheirismo, incentivo, por acreditar em mim, por aguentar meus abusos, sei que não fui fácil e tive muita sorte de ter tido você por perto, mesmo estando fisicamente longe estará sempre presente no meu coração.

Ao Laboratório de Virologia (UEL/PR), sob representação da **profª Dra. Alice Fernandes Alfieri**, e ao Laboratório de Pesquisa (UFMG/PB), sob representação do **prof. Dr. Patrício Marques de Souza**, por todo o suporte operacional e científico.

Ao setor de **Clínica Médica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário da UFMG** e ao **Centro Médico Veterinário Dr. Leonardo Torres**, por ter concedido o espaço físico fundamental para realização desta pesquisa.

Aos companheiros de pesquisa **Mariana Rodrigues, Rodrigo Mendes, Fernanda Henrique e Rafaela Dias** que colaboraram para o desenvolvimento deste projeto de pesquisa com seu apoio, amizade, paciência e momentos de descontração.

A toda equipe do **Hospital Veterinário Amigo Bicho**, especialmente ao **Dr. Marco César** e sua esposa **Samantha Angélica**, que me acolheram como uma verdadeira família, me apoiando quando precisei me ausentar para assumir os compromissos do mestrado.

Ao **Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária**, da Universidade Federal de Campina Grande, pela oportunidade concedida.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – **CAPES**, pela concessão de bolsa.

A todos que me ajudaram neste projeto... Muito obrigado!!!

RESUMO

LEITE, A. R. A. **Parvovirose canina no semiárido paraibano: caracterização molecular, clínico-patológico e cardiovascular.** [Canine parvovirus in semiarid paraibano: molecular, clinical and pathology and cardiovascular characterization]. 2013. 62f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2013.

A infecção pelo Parvovírus Canino (CPV) é a principal causa de gastroenterite viral em filhotes de cães. Com o decorrer dos anos novos tipos antigênicos vêm sendo descritos substituindo os tipos antigos destes vírus. No Brasil foram realizadas pesquisas, as quais apontam a estirpe 2c, como a principal variante antigênica, porém estes estudos se limitam a regiões isoladas, não havendo até o momento estudos relacionados ao monitoramento das cepas envolvidas na região nordeste. O parvovírus tem tropismo por células em rápida divisão, localizadas no intestino, medula óssea, tecido linfóide e miocárdio, causando desidratação e desequilíbrio hidroeletrólítico em decorrência do vômito e diarreia, imunossupressão, com alterações hematológicas e bioquímicas, e miocardite refletindo em alterações cardiovasculares. Para isso foi realizada avaliação, clínica, laboratorial e cardiovascular pormenorizada destes pacientes a fim de diagnosticar sinais de dano ao miocárdio e alterações hematológicas, bioquímicas e eletrólíticas secundárias a essa doença. Objetivou-se com a realização desta pesquisa identificar a cepa de CPV predominante em amostras fecais de filhotes de cães com parvovirose, no semiárido do nordeste paraibano, estudar as alterações clínico-laboratoriais, e avaliar possível dano cardíaco ocasionado pelo vírus ou pelo desequilíbrio eletrólítico. Os parâmetros clínicos foram mensurados durante o atendimento inicial (M0) e 24, 48, 72 horas e 30 dias após o M0 (M1, M2, M3 e M4) e as avaliações laboratoriais realizadas nos momentos M0, M2 e M4. Diante dos resultados obtidos com esta pesquisa, concluímos que o parvovírus canino subtipo 2b, foi a variante responsável pelos sinais clínicos de vômito e diarreia em animais susceptíveis com menos de seis meses de idade, porém as alterações eletrocardiográficas encontradas nesses animais foram atribuídas ao desequilíbrio eletrólítico, visto que não houve indícios de lesão miocárdica comprovada através da utilização de biomarcadores cardíacos os quais se mantiveram com seus valores normais em todos os momentos de avaliação.

Palavras-chave: *parvovírus*, CPV-2b, PCR, biomarcadores, eletrólitos.

ABSTRACT

LEITE, A. R. A. **Canine parvovirus in semiarid paraibano: molecular, clinical and pathology and cardiovascular characterization.** [Parvovirose canina no semiárido paraibano: caracterização molecular, clínico-patológico e cardiovascular]. 2013. 62f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2013.

Infection by Canine Parvovirus (CPV) is the leading cause of viral gastroenteritis in puppies. Over the years new antigenic types have been described replacing the older types of these viruses. Surveys were conducted in Brazil, which indicate the strain 2c, as the main antigenic variant, but these studies are limited to isolated regions, without so far related to the monitoring of the strains involved in the Northeastern region studies. The parvovirus has tropism for rapidly dividing cells, located in the intestine, bone marrow, lymphoid tissue and myocardium, causing dehydration and hydro-electrolytic imbalance due to vomiting and diarrhea, immunosuppression, hematological and biochemical abnormalities, myocarditis and reflecting on cardiovascular changes. For this, clinical, laboratory and detailed cardiovascular assessment of these patients was performed to diagnose signs of myocardial damage and hematological, biochemical and electrolyte abnormalities secondary to this disease. The objective of this research to identify the predominant strain of CPV in fecal samples from puppies with parvovirus in semiarid northeastern paraibano, study the clinical and laboratory findings, and evaluate possible heart damage caused by viruses or by electrolyte imbalance. Clinical parameters were measured during the initial treatment (M0) and 24, 48, 72 hours and 30 days after M0 (M1, M2, M3 and M4) and laboratory evaluations performed at the moments M0, M2 and M4. Results obtained with this research, we concluded that canine parvovirus 2b subtype, the variant was responsible for the clinical signs of vomiting and diarrhea in susceptible animals under six months of age, but electrocardiographic changes found these animals were attributed to electrolyte imbalance, as there was no evidence of myocardial damage proven by the use of cardiac biomarkers which remained with their normal values at all-time points.

Keywords: *parvovirus*, CPV-2b, PCR, biomarkers, electrolytes.

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	
1. INTRODUÇÃO	13
2. REFERÊNCIAS.....	15
3. CAPÍTULO I: Caracterização molecular do <i>parvovirus</i> isolados de cães do semiárido nordestino.....	17
3.1 Abstract	18
3.2 Resumo	19
3.3 Introdução	19
3.4 Material e Métodos	20
3.5 Resultados	22
3.6 Discussão e conclusões	22
3.7 Referências	25
4. CAPÍTULO II: Caracterização laboratorial e cardiovascular de cães acometidos pelo <i>parvovirus</i> tipo 2b.....	28
4.1 Resumo	29
4.2 Abstract	30
4.3 Introdução	31
4.4 Material e Métodos	32
4.5 Resultados e Discussão	34
4.6 Conclusão	39
4.7 Referências	40
5. CONCLUSÕES.....	47
6. ANEXOS	48

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1. Valores médios e desvios padrão das variáveis frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura corporal (TR) de cães acometidos por parvovirose ao longo dos momentos (M0, M1, M2, M3 e M4), no município de Patos, Paraíba, Brasil.....	43
Tabela 2. Valores médios e desvios padrão das variáveis hematológicas de cães acometidos por parvovirose ao longo dos momentos (M0, M2 e M4), no município de Patos, Paraíba, Brasil.....	43
Tabela 3. Valores médios e desvios padrão das análises bioquímicas de cães acometidos por parvovirose ao longo dos momentos (M0, M2 e M4), no município de Patos, Paraíba, Brasil.....	44
Tabela 4. Valores médios e desvios padrão dos eletrólitos cálcio (Ca^{++}), sódio (Na^{+}), potássio (K^{+}), magnésio (Mg^{++}), cloreto (Cl^{-}) e fósforo (P) de cães acometidos por parvovirose ao longo dos momentos (M0, M2 e M4), no município de Patos, Paraíba, Brasil.....	44
Tabela 5. Valores médios e desvios padrão da pressão arterial sistólica, diastólica (PAD) e média (PAM) de cães acometidos por parvovirose ao longo dos momentos (M0, M1, M2, M3 e M4), no município de Patos, Paraíba, Brasil.....	45
Tabela 6. Valores médios e desvios padrão das variáveis eletrocardiográficas de cães acometidos por parvovirose ao longo dos momentos (M0, M1, M2, M3 e M4), no município de Patos, Paraíba, Brasil.....	45

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

- Figura 1-** Sequencia de aminoácidos do produto amplificado de 583 pares de base do fragmento de gene de VP2 a partir das quatro amostras escolhidas aleatoriamente submetidas ao GenBank..... **27**

CAPÍTULO II

- Figura 1-** Representação eletrocardiográfica de cão com gastroenterite por *Parvovirus* CPV 2b, revelando bloqueio fascicular anterior esquerdo (EEM: -80°)..... **46**

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

μL -	Microlitro
μM -	Micromolar
Alb -	Albumina
ALT -	Alanina aminotransferase
bpm -	Batimentos por minuto
Ca^{++} -	Cálcio
CHCM -	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CK-MB -	Creatina quinase fração MB
Cl^- -	Cloreto
CPV -	Parvovírus canino
CPV-2b -	Parvovírus canino tipo 2
cTnI -	Complexo Troponina I
DNA -	Ácido desoxirribonucleico
dNTP -	Desoxiribonucleotídeo trifosfato
EDTA -	Etilenodiaminotetracético
ECG -	Eletrocardiograma
ELISA -	Ensaio imunoenzimático
<i>f</i> -	Frequência respiratória
FA -	Fosfatase alcalina
FC -	Frequência cardíaca
Glob -	Globulina
Hb -	Hemoglobina
Ht -	Hematócrito
K^+ -	Potássio
Mg^{++} -	Magnésio
MgCl_2 -	Cloreto de magnésio
mmHg -	Milímetros de mercúrio
mpm -	Movimento por minuto
ms -	Milisegundos
mV -	Milivolts
Na^+ -	Sódio

NB -	Neutr3f3lo Bastonete
NS -	Neutr3f3lo segmentado
P -	F3sforo
PAS -	Press3o arterial sist3lica
PAD -	Press3o arterial diast3lica
PAM -	Press3o arterial m3dia
PCR -	Rea3o em Cadeia da Polimerase
pmol -	Picomol
PT -	Prote3nas totais
rpm -	Rota3o por minuto
TC -	Temperatura corporal
VCM -	Volume corpuscular m3dio

1. INTRODUÇÃO

O parvovírus canino (CPV) é um vírus DNA de fita simples, não-envelopado, hemaglutinante, pertencente à família *Parvoviridae*, sub-família *Parvovirinae* e ao gênero *Parvovirus* (MORAES; COSTA, 2007).

Existem dois tipos de CPV que infectam o cão: o CPV-1 e o CPV-2. O CPV-1, também conhecido como “vírus minúsculo dos caninos”, é relativamente não patogênico e pode eventualmente causar gastroenterite, pneumonite e/ou miocardite em filhotes muito jovens. (NELSON; COUTO, 2006). O CPV-2 é responsável por miocardite da infecção *in utero* ou em filhotes com menos de oito semanas de idade, e gastroenterite hemorrágica em filhotes com menos de seis meses de idade (HOSKINS, 2004).

A taxa de mortalidade nesta enfermidade é elevada e pode variar entre 10 a 90% e a sobrevivência varia de 9% para os não tratados, e mais de 90% para aqueles tratados corretamente dentro de hospitais e clínicas veterinárias (OTTO et al., 2001). Condições como presença de parasitismo intestinal, agentes estressores como o desmame e condições de superlotação, e a insuficiente imunidade passiva ou ativa podem predispor o desenvolvimento e determinar a gravidade da doença (SAVIGNY; MACINTIRE, 2007).

O CPV normalmente causa sinais clínicos de cinco a quinze dias após a exposição oro-fecal, e como o vírus possui afinidade por células em rápida divisão mitótica, este se localiza nas criptas intestinais, medula óssea, tecido linfoide e miocárdio, podendo causar quadros de vômito e diarreia hemorrágica, desidratação, leucopenia, imunossupressão e miocardite (HALL; SIMPSON, 2004; NELSON; COUTO, 2006), refletindo em alterações hematológicas, bioquímicas, desequilíbrio eletrolítico e alterações cardiovasculares.

Com o decorrer dos anos o CPV-2 foi sendo substituído gradativamente na população canina mundial por novas variantes antigênicas, designados CPV-2a (1980), CPV-2b (1984) (PARRISH et al., 1991; HOSKINS, 2004) e mais recentemente o CPV-2c (2000) (BUONAVOGLIA et al., 2001), o qual tem se disseminado por diversas partes do mundo.

Desde os primeiros relatos da ocorrência da doença no Brasil, o CPV vem se mantendo na população canina do país e diversos estudos têm apontado o subtipo 2c, como principal tipo CPV circulante (STRECK et al., 2009; CASTRO et al., 2010; PINTO et al., 2012), porém estas pesquisas não abrangem todas as regiões do Brasil.

Tendo em vista que determinadas variantes antigênicas de CPV podem causar dano cardíaco, e que por muitas vezes essa lesão primária pode gerar cardiopatias permanentes, torna-se necessário uma investigação mais aprofundada a cerca das manifestações clínica-cardiológicas decorrente da Parvovirose, a fim de diagnosticar precocemente sinais de miocardite e incluir no protocolo de atendimento desta categoria de pacientes métodos de avaliação clínica e laboratorial.

Neste contexto, objetivou-se com este estudo realizar avaliação cardíaca e laboratorial pormenorizada de pacientes com gastroenterite por Parvovirose a fim de identificar possível dano ao miocárdio e alterações hematológicas, bioquímicas e eletrolíticas secundárias a essa doença, como também a de identificar a cepa de CPV predominante em amostras fecais de filhotes de cães, no semiárido do Nordeste paraibano.

2. REFERÊNCIAS

- BUONAVOGLIA, C.; MARTELLA, V.; PRATELLI, A.; TEMPESTA, M.; CAVALLI, A.; GRECO, G.; BUONAVOGLIA, D. Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. **The Journal of General Virology**, v. 82, n. 12, p. 3021-3025, 2001.
- CASTRO, T. X.; COSTA, E.M.; LEITE, J. P. G.; LABARTHE, N.V.; CUBEL GARCIA, R. C.N. Partial VP2 sequencing of canine parvovirus (CPV) strains circulating in the state of Rio de Janeiro, Brazil: detection of the new variant CPV-2c. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 41, n. 4, p. 1093-1098, 2010.
- HALL, E. J.; SIMPSON, K. W. Doenças do intestino delgado. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v. 2, Cap. 137, p. 1247-1305, 2004.
- HOSKINS, J. D. Doenças virais caninas. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de medicina interna veterinária**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, v. 1, Cap. 88, p. 440-446, 2004.
- MORAES, M. P.; COSTA, P. R. Parvoviridae. In: Flores, E. F. **Virologia veterinária**. 1ªed. UFSM: Santa Maria, cap. 14, p. 388-392, 2007.
- NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Distúrbios do trato intestinal. In: _____. **Medicina interna de pequenos animais**. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, Cap. 33, p. 417-448, 2006.
- OTTO, C. M.; JACKSON, C. B.; ROGELL, E. J.; PRIOR, R. B.; AMMONS, W. S. Recombinant bactericidal/ permeability-increasing protein (rBPI21) for treatment of parvovirus enteritis: a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 15, n. 4, p. 355-360, 2001.
- PARRISH, C.R.; AQUADRO, C.F.; STRASSHEIM, M.L.; EVERMANN, J.F.; SGRO, J.Y.; MOHAMMED, H.O. Rapid antigenic-type replacement and DNA sequence evolution of canine parvovirus. **Journal of Virology**, v. 65, n. 12, p. 6544-6552, 1991.
- PINTO, L. D.; STRECK, A. F.; GONÇALVES, K. R.; SOUZA, C. K.; CORBELLINI, A. O.; CORBELLINI, L. G.; CANAL, C. W. Typing of canine parvovirus strains circulating in Brazil between 2008 and 2010. **Virus Research**, v. 165, n. 1, p. 29-33, 2012.
- SAVIGNY, M.; MACINTIRE, D. K. Canine parvoviral enteritis. **Standards of care: emergency and critical care medicine**, Phillips Boulevard, Trenton, v. 9, n. 11, p. 1-6, 2007.

STRECK, A. F.; SOUZA, C. K.; 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, 2009.

**3. CAPÍTULO I: CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DO *PARVOVÍRUS*
ISOLADOS DE CÃES DO SEMIÁRIDO NORDESTINO**

Manuscrito submetido à revista
Pesquisa Veterinária Brasileira (ISSN
0100-736X) - Seropédica - RJ

Trabalho

Caracterização molecular do *parvovirus* isolados de cães do semiárido nordestino¹

Angélica R. A. Leite^{2*}; Mariana S. Rodrigues³; Rodrigo S. Mendes²; Alice F. Alfieri⁴;
Almir P. Souza².

3.1. ABSTRACT.- Leite A.R.A., Rodrigues M.S., Mendes R.S., Alfieri A.F. & Souza A.P. 2013. [**Molecular characterization of *parvovirus* isolated from dogs of semiarid northeastern.**] Caracterização molecular do *parvovirus* isolados de cães do semiárido nordestino. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 00(0):00-00. Setor de Clínica Médica de Pequenos Animais, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brazil. E-mail: angelica_ral@yahoo.com.br

The objective of this research was to identify the strain of canine parvovirus (CPV) isolates from feces of dogs with gastroenteritis in the city of Patos, Paraíba, Brazil. For this purpose, fecal samples from dogs were used aged between two to six months of age, without distinction as to gender and race. The extraction of DNA samples was performed by a commercial kit based on silica and amplified by PCR, a fragment of 583 base pairs of the VP2 gene. The amplification products were purified, sequenced, aligned using MEGA version 4.1 package and submitted to GenBank. The analyzes revealed that all samples were positive for CPV-2 and belonging to subtype 2b, which can be implicated as the variant responsible for developing gastroenteric disorders in young dogs in the city of Patos, in the state of Paraíba. These studies raise the importance of phylogenetic identification of strains of canine parvovirus in other areas of the Northeast, given the wide variability of biogeographical Brazil.

INDEX TERMS: Parvovirus, PCR, CPV-2b, diarrhea.

¹ Recebido em

Aceito para publicação em

² Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária (UAMV), Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Av. Universitária s/n, Bairro Sta Cecília, Patos, PB 58708-110, Brasil. *Autor para correspondência: angelica_ral@yahoo.com.br

³ Bolsista PIBIC, UAMV/UFCG, Av. Universitária s/n, Bairro Sta Cecília, Patos, PB.

⁴ Laboratório de Virologia Animal, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina (UEL), Londrina, PR. (UEL), Cx. Postal 6001, Londrina, PR 86051-990, Brasil.

3.2. RESUMO.- Objetivou-se com esta pesquisa identificar a cepa de parvovírus canino (CPV) isolados das fezes de cães com gastroenterite no município de Patos, Paraíba, Brasil. Para tanto, foram utilizadas amostras fecais de cães com faixa etária entre dois a seis meses de idade, sem distinção quanto o gênero e raça. A extração do DNA das amostras foi realizada através de kit comercial à base de sílica, sendo amplificado, por PCR, um fragmento de 583 pares de bases do gene VP2. Os produtos da amplificação foram purificados, sequenciados, alinhados usando o pacote MEGA versão 4.1 e submetidos ao GenBank. As análises revelaram que todas as amostras foram positivas para CPV-2 e pertencentes ao subtipo 2b, que pode ser incriminado como a variante responsável por desenvolver distúrbios gastroentéricos em cães jovens na cidade de Patos, no estado da Paraíba. Esses estudos elevam a importância da identificação filogenética de cepas do *parvovírus* canino nas demais áreas da região nordeste, dada a grande variabilidade biogeográfica do Brasil.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: Parvovirose, PCR, CPV-2b, diarreia.

3.3. INTRODUÇÃO

A parvovirose canina é uma infecção viral causada pelo parvovírus canino tipo 2 (CPV-2), isolado pela primeira vez em 1978, nos Estados Unidos (Appel et al. 1979), e desde então tornou-se o agente mais comum de sinais clínicos entéricos agudos em cães jovens não vacinados de até seis meses de idade, causando vômito, anorexia, depressão e diarreia com ou sem melena (Hoskins 2004), sendo uma importante causa de morbidade no Brasil.

No decorrer dos anos novos tipos antigênicos substituíram o tipo 2 original, denominados 2a (CPV-2a em 1980), 2b (CPV-2b em 1984) (Parrish et al. 1991, Hoskins 2004) e a estirpe 2c, isolada na Itália em 2000 (Buonavoglia et al. 2001), sendo a CPV-2b a cepa predominante na América do Norte e América do Sul.

No Brasil ocorreu semelhante padrão de propagação do CPV-2, com substituição gradativa das estirpes no decorrer dos anos, as quais adquiriram mutações e uma disseminação mais eficiente do vírus no ambiente (Pereira et al. 2000, Castro et al. 2010), incidindo em frequente infecção da população canina pelo *parvovírus*.

Vários testes de diagnóstico têm sido utilizados para detectar o vírus ou o genoma do vírus em amostras de fezes de cães com gastroenterite, são eles: hemaglutinação (HA),

seguido de teste de inibição da hemaglutinação (IH), ensaio imunoenzimático (ELISA), isolamento do vírus em cultura de células, a reação em cadeia da polimerase (PCR) (Castro et al. 2007) e mais recentemente tem se utilizado testes rápidos como o imunoensaio cromatográfico (Mendes et al. 2011).

A PCR vem sendo utilizada, principalmente, para a tipagem genômica das estirpes de *parvovírus* circulantes, como também para confirmar a presença de vírus selvagem em amostras de fezes de cães que receberam CPV-2 (tipo antigo) de vacina de vírus vivo (Pereira et al. 2000, Costa et al. 2005), sendo particularmente importante para os animais que apresentam sinais gastroentéricos três a nove dias depois da vacinação, que corresponde ao período de disseminação do vírus vacinal através das fezes (Costa et al. 2005).

Os estudos relacionados à distribuição e identificação de cepas envolvidas com a gastroenterite por *parvovírus* estão limitados ao Sul e Sudeste do país (Pereira & Durigon 2000, Streck et al. 2009, Castro et al. 2010), não existindo até o momento um monitoramento das cepas envolvidas na região Nordeste, a fim de compreender a epidemiologia do vírus e desenvolver medidas preventivas.

Desta forma, objetivou-se, com este estudo, identificar a cepa de *parvovírus* canino circulante e o tipo antigênico predominante em amostras fecais de filhotes de cães da região semiárida, no município de Patos, Paraíba, Brasil, no ano de 2013.

3.4. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, do Centro de Saúde e Tecnologia Rural (CSTR), da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), sob o protocolo CEP 15/2012.

Foram analisadas vinte e quatro amostras de fezes de cães com faixa etária entre dois e seis meses de idade, que apresentavam quadro clínico de gastroenterite hemorrágica ou não, em um estudo prospectivo. Estes animais eram procedentes da rotina de atendimento ambulatorial do setor de Clínica Médica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário (HV) da UFCG, Campus de Patos e do Centro Médico Veterinário Dr. Leonardo Torres (CMVLT), Patos, PB.

As amostras fecais foram acondicionadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ e encaminhadas para processamento no Laboratório de Virologia da Universidade Estadual de Londrina (UEL),

para identificação do vírus pela Reação em Cadeia Polimerase (PCR) e sequenciamento para tipagem viral.

Para a realização da PCR as amostras foram homogeneizadas, utilizando-se 100 μL de fezes adicionadas a 500 μL de tampão de estabilização viral (TRIS/ Ca^{++}) 10 x – pH 7,2. Posteriormente as amostras foram centrifugadas a 3000 rpm durante cinco minutos, recolhendo-se em seguida 500 μL do sobrenadante. O DNA viral foi extraído do sobrenadante utilizando um protocolo com base em sílica (Boom et al. 1990) modificado por Alfieri et al. (2006). A PCR foi realizada utilizando-se 3 μL do material extraído em uma reação de volume final de 25 μL , adotando as concentrações finais dos reagentes: 2,5 μM de MgCl_2 , 250 μM de cada dNTP, 1,25 U de *Taq* polimerase e 10 pmol de cada *primer* (Hong et al. 2007).

A reação foi realizada utilizando um *primer forward* (CAGGAAGATATCCAGAAGGA) e um *primer reverse* (GGTGCTAGTTGATATGTAATAACA), desenhados para amplificação de um fragmento de 583 pares de base de comprimento do gene que codifica a proteína VP2 (posição 4003 a 4585) do capsídeo viral.

A reação foi realizada em termociclador com as seguintes condições de tempo e temperatura: desnaturação inicial a 94°C por 10 minutos, seguida por 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento a 50°C por 1 minuto e extensão a 72°C por 1 minuto e extensão final a 72°C por 10 minutos (Hong et al., 2007). Os produtos da amplificação foram submetidos à eletroforese em gel de agarose 2% corado com brometo de etídio, visualizados sob luz ultravioleta e fotodocumentados.

As amostras positivas foram purificadas utilizando o kit de purificação Illustra GFX PCR DNA and Gel Band Purification (GE Healthcare®), de acordo com as indicações do fabricante. As amostras purificadas foram preparadas utilizando o kit de quantificação Quant-iT™ e a quantificação foi realizada através do fluorômetro Qubit® (Life Technologies™).

As amostras purificadas e quantificadas foram preparadas de modo que obtiveram concentração final de 4 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, diluídas de acordo com a sua quantificação. Aliquotou-se 5 μL de DNA em concentração adequada em dois microtubos de 200 μL . Adicionou-se 1 μL de *primer forward* e de *primer reverse* em microtubos. O sequenciamento foi realizado em sequenciador Applied Biosystems® 3500 Genetic Analyzer (Life Technologies™).

A análise das sequências obtidas foi realizada através dos softwares Phred e CAP3 (<http://asparagin.cenargen.embrapa.br/phph>). A similaridade das amostras foi comparada com sequências depositadas no banco de dados GenBank através do software BLAST (Basic Local Alignment Search Tool - <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

O alinhamento das sequências foi realizado usando o pacote MEGA versão 4.1. As amostras analisadas foram comparadas com sequências de CPV-2 (número de acesso no GenBank: M38245), CPV-2a (M24003), CPV-2b (M74849) e CPV-2c (AY380577).

3.5. RESULTADOS

Os resultados obtidos das 24 amostras comprovaram 100% de positividade para CPV-2. A sequência de aminoácidos residuais da posição 426 foi a base para diferenciar o CPV em seus diferentes subtipos (2, 2a, 2b e 2c). Quatro amostras escolhidas para o sequenciamento foram pertencentes ao subtipo CPV-2b (Figura 1).

Com relação aos sinais clínicos, 18/24 manifestaram sintomatologia clássica de gastroenterite por parvovirose, como vômito, anorexia, letargia, diarreia líquida hemorrágica e desidratação, 5/24 manifestaram apenas vômito e diarreia líquida hemorrágica e 1/24 apenas vômito e diarreia suave.

Com relação à imunização contra o CPV, 75% dos animais deste estudo nunca haviam recebido proteção vacinal, estando 4/24 imunizados parcialmente com uma ou duas doses da vacina polivalente e 2/24 possuíam esquema vacinal completo (três doses da vacina).

3.6. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A presença de apenas uma variante neste estudo reforça a predominância do CPV-2b na população canina do semiárido nordestino, o que refletiu em sinais clínicos homogêneos entre os animais avaliados.

Nesta pesquisa não houve detecção da nova estirpe 2c, indicando que esta variante pode ainda estar limitada ao Sul e Sudeste do país, onde se encontra devidamente estabelecida.

O CPV-2b apresenta uma distribuição mais homogênea e tem sido detectada em diferentes regiões do Brasil (Pereira et al. 2000), em contrapartida estudos recentes tem

apontado o subtipo 2c, como o principal tipo de CPV circulante no Brasil (Pereira & Durigon 2000, Streck et al. 2009, Castro et al. 2010, Pinto et al. 2012). Porém estes estudos não abrangem todas as regiões do país não podendo desta forma, ser atribuído esta variante como predominante, haja vista a grande extensão territorial do Brasil e seus diferentes biomas e microclimas.

A região Nordeste do Brasil corresponde a 18% do território nacional e abrange quatro dos seis tipos de clima que existem no país, são eles: clima equatorial úmido, clima tropical úmido, clima tropical e clima tropical semiárido (Silva et al., 2010), com exceção do clima equatorial úmido, os demais são presentes no Estado da Paraíba. A cidade de Patos, onde foi realizado este estudo, caracteriza-se por apresentar um clima BSH (Köppen) classificado como quente e seco, com temperatura máxima de 32,9 °C e mínima de 20,8 °C e umidade relativa de 61%, apresentando período de chuvas que vão de março a junho (Brasil, 1992). No entanto, as amostras coletadas corresponderam ao período de chuvas da região, que é quando ocorre uma maior disseminação do vírus.

As diferentes variantes antigênicas do CPV-2 ocorrem em diferentes proporções em diferentes países. A prevalência do CPV-2b tem sido relatada no Brasil, Estados Unidos, Japão, Suíça e na África do Sul, enquanto o CPV-2a foi o tipo prevalente na França, Taiwan e Itália, estando o CPV-2a e CPV-2b distribuídos em igual proporção na Espanha e Inglaterra. CPV-2c também foi encontrado no Vietnã, Espanha, Reino Unido, América do Sul e na América do Norte (Nandi & Kumar 2010).

Estudos realizados no Brasil demonstraram um padrão evolutivo na propagação viral, semelhante ao encontrado em outros países, ocorrendo substituição gradativa das estirpes no decorrer dos anos, com o CPV-2 incidindo em 1979, com subsequente substituição pelas novas variantes CPV-2a e CPV-2b nos anos 80 e 90 (Pereira et al. 2000), respectivamente, com isolamento da cepa CPV-2c em 2008 (Streck et al. 2009).

Comparando a disseminação do vírus no Brasil com o ocorrido em outros países, pode-se sugerir que estes não se assemelham quanto à origem geográfica, e são, portanto cosmopolitas.

Todos os animais deste estudo possuíam esquema vacinal incompleto, onde apenas seis (25%) estavam imunizados com vacina polivalente. Desta forma, é possível observar falhas nos requisitos básicos de sanidade demonstrando uma maior exposição destes cães ao contágio do *parvovírus*.

A maioria das vacinas para CPV são compostas por cepas vivas, causando a presença do vírus vacinal nas fezes três a nove dias após sua administração, mesmo este se encontrando em títulos baixos (Decaro et al. 2006), mas como a maioria das vacinas comercializadas no Brasil para prevenção da parvovirose são CPV- tipo antigo, a PCR pode ser uma ferramenta útil para elucidar infecção CPV em filhotes vacinados. Nesta pesquisa os animais apresentaram sinais clínicos semanas após a vacinação, onde provavelmente estes não mais possuíam indícios do vírus vacinal nas fezes, portanto, não interferindo desta forma nos resultados obtidos nesta pesquisa.

O estado vacinal e as condições sanitárias e de sanidade deficientes são os principais fatores que podem condicionar o aparecimento e instalação da enfermidade (Castro et al. 2007). De maneira semelhante, os resultados obtidos neste estudo, mostram que, a idade associada a condições sanitárias e de sanidade deficientes foram fatores primordiais no desencadeamento do processo infeccioso.

Contudo, a vigilância epidemiológica contínua da distribuição de estirpes de CPV é essencial para estudar os padrões de difusão para CPV-2a e 2b, e para elucidar se a nova variante, CPV-2c, tornou-se permanentemente estabelecida na população canina no Brasil (Castro et al. 2010).

No entanto a grande variabilidade biogeográfica do Brasil pode interferir no padrão de propagação do vírus e da instituição de determinada cepa em regiões distintas do país, o que eleva a importância da identificação filogenética de cepas do *parvovírus* canino nas demais áreas do Brasil e até mesmo da região Nordeste, visto que esta possui diferentes biomas e grande área territorial.

Diante dos resultados obtidos pode-se concluir que o *parvovírus* canino subtipo 2b, foi o responsável pelos sinais clínicos gastrointestinais em animais susceptíveis com menos de seis meses de idade, porém são necessários novos estudos com um maior número de animais no semiárido e nas demais regiões do Nordeste, a fim de caracterizar o real perfil epidemiológico da doença na população canina.

Agradecimentos.- Ao Laboratório de Virologia Animal da Universidade Estadual de Londrina, por todo o suporte operacional e científico. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado.

3.7. REFERÊNCIAS

- Alfieri A.A., Parazzi M.E., Takiuchi E., Médici K.C. & Alfieri A.F. 2006. Frequency of group A rotavirus in diarrhoeic calves in Brazilian cattle herds, 1998-2002. *Trop. Anim. Health Prod.* 38(7-8):521-526.
- Appel M.J.G., Scott F.W. & Carmichael L.E. 1979. Isolation and immunization studies of a canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. *Vet. Rec.* 105(8):156-159.
- Boom R., Sol C.J.A., Salimans M.M.M., Jansen C.L., Wertheim-Van Dillen P.M.E. & Van Der Doordaa J. 1990. Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J. Clin. Microbiol.* 28(3):495-503.
- Brasil. 1992. Secretaria Nacional de Irrigação. Departamento Nacional de Meteorologia. Normas climatológicas: 1961-1990. Brasília, DF: Embrapa-SP, 84 p.
- Buonavoglia C., Martella V., Pratelli A., Tempesta M., Cavalli A., Greco G. & Buonavoglia D. 2001. Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in Italy. *J. Gen. Virol.* 82(12):3021-3025.
- Castro T.X., Costa E.M., Leite J.P.G., Labarthe N.V. & Cubel Garcia R.C.N. 2010. Partial VP2 sequencing of canine parvovirus (CPV) strains circulating in the state of Rio de Janeiro, Brazil: detection of the new variant CPV-2c. *Brazilian Journal of Microbiology.* 41(4):1093-1098.
- Castro T.X., Miranda S.C., Labarthe N.V., Silva L.E. & Cubel Garcia R.C.N. 2007. Clinical and epidemiological aspects of canine parvovirus (CPV) enteritis in the State of Rio de Janeiro: 1995-2004. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 59(2):333-339.
- Costa A.P., Leite J.P.G., Labarthe N.V. & Cubel Garcia R.C.N. 2005. Genomic typing of canine parvovirus circulating in the State of Rio de Janeiro, Brazil from 1995 to 2001 using polymerase chain reaction assay. *Vet. Res. Commun.* 29(8):735-743.
- Decaro N., Desario C., Elia G., Campolo M., Lorusso A., Mari V., Martella V. & Buonavoglia C. 2006. Occurrence of severe gastroenteritis in pups after canine parvovirus vaccine administration: A clinical and laboratory diagnostic dilemma. *Vaccine.* 25(7):1161-1166.
- Hong C., Decaro N., Desario C., Tanner P., Pardo M.C., Sanchez S., Buonavoglia C. & Saliki J.T. 2007. Occurrence of canine parvovirus type 2c in the United States. *J. Vet. Diagn. Invest.* 19(5):535-539.

- Hoskins J.D. 2004. Doenças virais caninas, p. 440-446. In: Ettinger S.J. & Feldman E.C. (Eds.), Tratado de medicina interna veterinária. Vol.1. 5.ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Mendes R.S., Souza A.P., Silva R.M.N., Borges O.M.M., Torres L.M & Dantas A.K.F.P. 2011. Perfil hematológico e bioquímico de cães com gastroenterite hemorrágica por parvovírus diagnosticados pelo método de imunocromatografia. *Acta Veterinaria Brasilica*. 5(3):278-283.
- Nandi S. & Kumar M. 2010. Canine parvovirus: current perspective. *Indian J. Virol.* 21(1):31-44.
- Parrish C.R., Aquadro C.F., Strassheim M.L., Evermann J.F., Sgro J.Y. & Mohammed H.O. 1991. Rapid antigenic-type replacement and DNA sequence evolution of canine parvovirus. *J. Virol.* 65(12):6544-6552.
- Pereira C.A.D. & Durigon E.L. 2000. Genetic diversity of the VP1/VP2 gene of canine parvovirus type 2b amplified from clinical specimens in Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 31(4):312-314.
- Pereira C.A.D., Monezi T.A., Mehnert D.U., D'angelo M. & Durigon E.L. 2000. Molecular characterization of canine parvovirus in Brazil by polymerase chain reaction assay. *Veterinary Microbiology*. 75(2):127–133.
- Pinto L.D., Streck A.F., Gonçalves K.R., Souza C.K., Corbellini A.O., Corbellini L.G. & Canal C.W. 2012. Typing of canine parvovirus strains circulating in Brazil between 2008 and 2010. *Virus Res.* 165(1):29-33.
- Silva V.P.R., Pereira E.R.R., Azevedo P.V., Sousa F.A.S. & Sousa I.F. 2011. Análise da pluviometria e dias chuvosos na região Nordeste do Brasil. *R. Bras. Eng. Agríc. Ambiental*. 15(2):131–138.
- Streck A.F., Souza C.K., Gonçalves K.R., Zang L., Pinto L.D. & Canal C.W. 2009. First detection of canine parvovirus type 2c in Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 40(3):465-469.

**4. CAPÍTULO II: CARACTERIZAÇÃO LABORATORIAL E
CARDIOVASCULAR DE CÃES ACOMETIDOS PELO *PARVOVÍRUS* TIPO 2b**

Manuscrito submetido à Semina:
Ciências Agrárias (ISSN 1676-546X) –
Londrina - PR

Caracterização laboratorial e cardiovascular de cães acometidos pelo *parvovirus* tipo 2b

Characterization of cardiovascular laboratory and dogs assaulted by *parvovirus* type 2b

Angélica Ramalho de Araújo Leite^{1*}; Mariana de Sales Rodrigues²; Rodrigo de Souza Mendes³; Fernanda Vieira Henrique⁴; Rafaela Alves Dias⁵; Patrício Marques de Souza⁶; Alinne Kátia Fernandes Pereira Dantas⁷; Almir Pereira de Souza⁸

4.1. RESUMO

Devido ao crescente número de animais acometidos por parvovirose na rotina clínica e frente à possibilidade de dano cardíaco causado por esta doença, objetivou-se com este estudo identificar alterações laboratoriais e cardiovasculares de cães com gastroenterite por parvovírus no município de Patos, Paraíba, Brasil. Foram utilizados 16 cães, sem pré-requisitos quanto à idade, raça ou gênero, com sinais clínicos de vômito e diarreia. O diagnóstico de parvovirose foi realizada através da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), seguida de sequenciamento, alinhados usando o pacote MEGA versão 4.1 e submetidos ao GenBank. Foram realizadas análises hematológicas, bioquímicas e exame parasitológico de fezes. A avaliação clínica e cardiovascular foi realizada por meio de aferição de frequência cardíaca, respiratória e temperatura corporal, eletrocardiograma (ECG), pressão arterial sistólica, diastólica e média, e dos marcadores cardíacos creatina quinase fração MB (CK-MB) e complexo troponina I (cTnI). Os parâmetros clínicos foram mensurados durante o atendimento inicial (M0) e 24, 48, 72 horas e 30 dias após o M0 (M1, M2, M3 e M4) e as avaliações laboratoriais realizadas nos momentos M0, M2 e M4.

¹ Aluna de mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGMV), Universidade Federal de Campina Grande, UFCG, Patos, PB. E-mail: angelica_ral@yahoo.com.br

² Aluna de graduação em Medicina Veterinária, UFCG, Patos, PB. E-mail: mariiii_pux@hotmail.com

³ Aluno de doutorado, PPGMV, UFCG, Patos, PB. E-mail: rodrigo.souza.mendes@gmail.com

⁴ Aluna de mestrado, PPGMV, UFCG, Patos, PB. E-mail: nandinhavh@gmail.com

⁵ Aluna de mestrado, PPGMV, UFCG, Patos, PB. E-mail: rafa.ad@hotmail.com

⁶ Prof. Dr. da Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde, UFCG, Campina Grande, PB. E-mail: patriciomsouza@ig.com.br

⁷ Médica Veterinária Autônoma, Centro Médico Veterinário Dr. Leonardo Torres, Patos, PB. E-mail: alinne_dantas@yahoo.com.br

⁸ Prof. Dr. da Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária da UFCG, Patos, PB. E-mail: almir@cstr.ufcg.edu.br

* Autor para correspondência

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância para amostras pareadas paramétricas e não paramétricas (Friedman e ANOVA de 2 vias) e análise descritiva. Diante dos resultados, pode-se concluir que o parvovírus canino subtipo 2b, foi a variante responsável pelos sinais clínicos de vômito e diarreia em animais susceptíveis com menos de seis meses de idade, no semiárido paraibano, porém as alterações eletrocardiográficas encontradas nesses animais foram atribuídas ao desequilíbrio eletrolítico, visto que não houve indícios de lesão miocárdica comprovada através da utilização de biomarcadores cardíacos os quais se mantiveram com seus valores normais em todos os momentos de avaliação.

Palavras-chave: parvovirose, marcadores cardíacos, eletrólitos, eletrocardiograma, PCR.

4.2. ABSTRACT

Due to the increasing number of animals affected by parvovirus in clinical routine and facing the possibility of heart damage caused by this disease, the aim of this study was to identify laboratory abnormalities and cardiovascular disease in dogs with parvovirus gastroenteritis in the city of Patos, Paraíba, Brazil. Puppies were used without prerequisites regarding age, race or gender, with clinical signs of vomiting and diarrhea. The diagnosis of parvovirus was performed by Polymerase Chain Reaction (PCR) followed by sequencing, aligned using the MEGA package version 4.1 and submitted to GenBank. Analyses hematological, biochemical and stool tests. Clinical evaluation and cardiovascular was performed by measuring heart rate, breathing and body temperature, electrocardiogram (ECG), blood pressure, diastolic and mean, and cardiac markers creatine kinase fraction MB (CK - MB) and troponin complex I (cTnI). Clinical parameters were measured during the initial treatment (M0) and 24, 48, 72 hours and 30 days after M0 (M1, M2, M3 and M4) and laboratory evaluations performed in the moments M0, M2 and M4. The data were subjected to analysis of variance for paired parametric and nonparametric (Friedman 2-way ANOVA) and descriptive analysis. Therefore, we can conclude that the canine parvovirus 2b subtype, the variant was responsible for the clinical signs of vomiting and diarrhea in susceptible animals under six months of age, in the semiarid Paraíba, but electrocardiographic changes found in these animals were assigned to electrolyte imbalance, as there was no evidence of myocardial damage proven by the use of cardiac biomarkers which remained with their normal values at all-time points.

Key words: parvovirus, cardiac markers, electrolytes, electrocardiogram, PCR.

4.3. Introdução

Doenças gastroentéricas em pacientes pediátricos constituem grande parte da casuística da clínica médica de pequenos animais, cujos principais sinais clínicos são caracterizados por vômito e diarreia (BURROWS; BATT; SHERDING, 1997).

Dentre as gastroenterites, as de origem viral, como as causadas pelo parvovírus canino (CPV), o vírus da cinomose canina (CDV), o adenovírus canino (CAV), o coronavírus canino (CCoV) e o rotavírus (RTV) tem sido consideradas os principais agentes causadores de diarreias em cães com menos de seis meses de idade (HOSKINS, 1997).

A maior predisposição dos animais jovens a desenvolver gastroenterite está relacionada a fatores como o grande número de células em divisão nesta faixa etária, presença de parasitas intestinais e de um incompleto desenvolvimento do sistema imunológico (BRUNNER; SWANGO, 1985).

Dentre os vírus de tropismo digestivo, o CPV tem se tornado um dos mais comuns causadores de sinais gastroentéricos agudos em cães desde seu surgimento na década de 70, podendo também causar miocardite (HOSKINS, 2004).

A parvovirose desencadeia alterações hematológicas, bioquímicas e desequilíbrio eletrolítico, devido ao fato do CPV apresentar tropismo por células de divisão rápida do trato gastrointestinal, tecido linfóide e medula óssea vermelha, levando ao desenvolvimento de quadros clínicos de vômito, diarreia hemorrágica, desidratação, leucopenia e imunossupressão, além das alterações no sistema cardiovascular (OTTO; DROBATZ; SOTER, 1997; HALL; SIMPSON, 2004).

Devido o grande número de animais acometidos por parvovirose atendidos na rotina clínica de pequenos animais, do possível dano ao miocárdio e alterações hematológicas e bioquímicas secundárias a essa doença, torna-se necessário a realização de avaliação cardíaca e laboratorial pormenorizada destes pacientes a fim de diagnosticar, precocemente, sinais de miocardite e incluir no protocolo de atendimento desta categoria de pacientes tais métodos de avaliação clínica e consequente prevenção de doenças cardíacas futuras.

Nesse contexto, objetivou-se com esta pesquisa, evidenciar as alterações cardiovasculares e laboratoriais de cães com gastroenterite por parvovírus, auxiliando assim, na correlação da doença e da cepa viral no município de Patos, Paraíba, Brasil.

4.4. Material e Métodos

Foram utilizados cães com sintomatologia de distúrbios gastroentéricos caracterizados por vômito e diarreia, do período de janeiro a junho de 2013, sem pré-requisitos quanto à idade, sexo ou raça, oriundos da rotina de atendimento ambulatorial do setor de Clínica Médica de Pequenos Animais do Hospital Veterinário (HV) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos e do Centro Médico Veterinário Dr. Leonardo Torres (CMVLT), Patos, PB.

Para identificação do agente viral foram colhidas amostras de fezes frescas, logo acondicionadas a -20°C e enviadas ao Laboratório de Virologia da Universidade Estadual de Londrina (UEL-PR). O DNA total das amostras foi extraído através de kit comercial à base de sílica, sendo amplificado, por PCR, um fragmento de 583 pares de bases do gene VP2. Os produtos da amplificação foram purificados, sequenciados, alinhados usando o pacote MEGA versão 4.1 e submetidos ao GenBank. Parte das amostras fecais colhidas foram destinadas ao exame parasitológico de fezes.

Foram avaliados os parâmetros clínicos frequência cardíaca (FC), utilizando-se eletrocardiógrafo computadorizado (TEB – mod. ECGPC VERSÃO 1.10), calculando-a a partir do intervalo RR, registrado em bpm; frequência respiratória (FR) obtida por meio da contagem dos movimentos costo-abdominais em um minuto (mpm); temperatura corporal (TC) utilizando termômetro clínico digital (G-TECH TH-186 - Becton Dickinson Ind. Cirúrgicas Ltda) introduzido na ampola retal do animal e registrado em graus Celsius ($^{\circ}\text{C}$).

Amostras de sangue venoso foram obtidas via punção da veia jugular, divididas em duas alíquotas e acondicionadas em tubos de ensaio com e sem anticoagulante etilenodiaminotetracético (EDTA) a 10%.

As amostras contendo EDTA foram empregadas para realização de hemogramas (eritrograma e leucograma) e as amostras sem anticoagulante utilizadas para determinação das concentrações de ureia, creatinina, fosfatase alcalina (FA), alanina aminotransferase (ALT), proteínas totais (PT), albumina (Alb), globulina (Glob), determinado pelo cálculo da diferença entre PT e Alb, os eletrólitos cálcio (Ca^{++}), sódio (Na^{+}), potássio (K^{+}),

magnésio (Mg^{++}), cloreto (Cl^-) e fósforo (P), a creatina quinase fração MB (CK-MB) e complexo troponina I (cTnI). Com exceção da cTnI, realizada por método de quimioluminescência, e do Na^+ e K^+ , realizados pelo método de fotometria em chama, as demais análises foram dosadas utilizando-se o método colorimétrico (Kit Labtest Diagnóstica S.A.).

As pressões arteriais sistólica (PAS) e diastólica (PAD) em mmHg, foram avaliadas empregando-se método oscilométrico (DeltaMap®), cujo manguito de pressão foi adaptado na região radio-ulnar, realizando pelo menos cinco medidas consecutivas, descartando o maior e menor valor e realizando média das demais (MUCHA; CAMACHO, 2007). A pressão arterial média (PAM) foi obtida por meio da fórmula $PAM = PAD + (PAS - PAD)/3$ (LEVY, 2004).

O exame eletrocardiográfico foi realizado com o animal posicionado em decúbito lateral direito, utilizando um eletrocardiógrafo computadorizado na derivação DII, sendo determinados os valores da duração e amplitude da onda P em milissegundos (ms) e milivolts (mV) respectivamente, a duração do complexo QRS (ms), as amplitudes da onda R (mV), da onda S (mV), da onda T (mV) e os intervalos entre as ondas P e R (PR), Q e T (QT) em milissegundos, e caracterização do ritmo e alterações morfológicas.

Os parâmetros clínicos foram mensurados durante o atendimento inicial (M0) e 24, 48, 72 horas e 30 dias após o M0 (M1, M2, M3 e M4), respectivamente, e as avaliações laboratoriais realizadas nos momentos M0, M2 e M4. Com exceção das mensurações do M4, o qual foi realizado nos respectivos domicílios dos pacientes, os parâmetros dos demais momentos foram avaliados em ambiente ambulatorial, durante o período de internação.

Os dados das variáveis clínicas, laboratoriais e eletrocardiográficas obtidas foram comparados utilizando-se análise de variância para amostras pareadas paramétricas e não paramétricas Friedman e ANOVA de 2 vias, utilizando-se o programa estatístico graphpad start for Windows e análise descritiva, onde foram considerados significativos os resultados com nível de significância de 0,05 em uma prova bicaudal.

4.5. Resultados e Discussão

Dezesseis animais apresentaram sintomatologia de gastroenterite durante o período do experimento e todos foram positivos para CPV-2 na PCR. O sequenciamento de quatro amostras permitiu caracterizar a estirpe como CPV-2b.

Os animais apresentavam idade de $3,3 \pm 1,3$ meses, sendo treze machos e três fêmeas, sendo 81% sem raça definida (SRD), 13% Pit Bull e 6% Rottweiler. Estes resultados condizem aos descritos na literatura, onde apesar da doença poder acometer cães de qualquer idade, sexo ou raça, filhotes entre seis semanas e seis meses de idade, do sexo masculino e pertencente às raças Doberman, Rotweiller, Pit Bull e Labrador Retriever estão mais propensos a adquirirem a doença (HOUSTON; RIBBLE; HEAD, 1996; HALL; SIMPSON, 2004; NELSON; COUTO, 2006), no entanto, em decorrência ao predomínio de animais mestiços atendidos na rotina clínica, este grupo apresentou maior número de animais comparados aos de raça pura.

Em relação ao parasitismo intestinal identificou-se um animal com infestação por *Toxocara spp.* e outro por *Ancylostoma spp.*, ambos de forma moderada. A infestação por parasitas intestinais contribui para o agravamento do quadro de gastroenterite em animais com parvovirose (HALL; SIMPSON, 2004), no entanto a baixa incidência de infestação observada nos animais deste estudo, não contribuiu para o agravamento do quadro destes animais.

Quatro animais haviam recebido vacinação polivalente e mesmo assim ficaram doentes. Este fato pode ocorrer porque existe a possibilidade dos anticorpos maternos bloquearem a resposta imunológica à vacina, interferindo com a resposta imunológica dos filhotes (SMITH-CARR; MACINTIRE; SWANGO, 1997). Além disso, outros fatores com o estado de conservação e refrigeração da vacina, o intervalo entre as vacinações e a resposta imunológica individual à vacina também difere em cada indivíduo, fazendo com que alguns animais mesmo devidamente vacinados desenvolvam a infecção.

Ao exame físico, todos os animais apresentaram-se clinicamente com sinais de apatia, desidratação e vômitos múltiplos, diarreia líquida amarronzada ocorreu em 31,25% e diarreia sanguinolenta em 68,75%. Nem sempre todos os sinais clínicos clássicos da infecção podem estar presentes simultaneamente. Estudos patogênicos sugerem que inicialmente ocorre anorexia, depressão, letargia e febre, que após 24 a 48 horas progridem para vômito e posteriormente para diarreia, nem sempre hemorrágica. As complicações

gastroentéricas podem ocasionar rápida desidratação, sendo este o momento em que os cães são submetidos à consulta clínica (NELSON; COUTO, 2006).

No tocante às variáveis clínicas FC, FR e TC, estas não apresentaram diferenças estatísticas nos diferentes momentos estudados (Tabela 1). Em relação aos valores de normalidade para a espécie (FEITOSA, 2008), apenas a FR apresentou-se elevada em todos os momentos estudados o que pode ter sido influenciado pelas variações ambientais, as quais exercem influência sobre esse parâmetro, podendo resultar em elevação deste índice (CUNNINGHAM, 1993).

Em relação ao hemograma os valores dos eritrócitos, hemoglobina e hematócrito, encontraram-se no limite normal para a espécie (JAIN, 1993) no M0 (Tabela 2), porém, estes valores apresentaram-se inferiores nos momentos M2 e M4 estando significativamente menores comparados ao M0 (Tabela 2). Os valores normalizados encontrados no M0 se explicam devido à perda de fluidos decorrentes do vômito e da diarreia, desencadeando quadro de desidratação, com consequente hipóxia e aumento da FR, ocasionando uma eritrocitose transitória secundária (CUNNINGHAM, 1993), que pode gerar valores normais da série vermelha, ocultando uma provável anemia, consequente da perda de células pelo aparelho gastrointestinal, da lesão óssea medular e da anorexia (SAVIGNY; MACINTIRE, 2010), que, após reidratação, decorrente da fluidoterapia, revelou no M2 e M4 valores abaixo do intervalo de normalidade (Tabela 2).

No leucograma, as médias das variáveis estudadas encontram-se dentro dos padrões de normalidade para a espécie em todos os momentos de avaliação (JAIN, 1993), estando estas descritas em valores absolutos (Tabela 2).

Em relação aos valores individuais, contagem total de leucócitos revelou que no M0, 42,9% dos animais enquadraram-se dentro do padrão de normalidade, 50% apresentaram leucopenia e apenas 7,1% apresentaram leucocitose, no M2 64,3% dos animais enquadraram-se dentro do padrão de normalidade, 14,3% apresentaram leucopenia e 21,4% apresentaram leucocitose e no M4 todos os animais apresentaram valores em seus limites normais. A leucopenia da parvovirose geralmente corresponde ao período de maior intensidade da doença e severidade dos sinais clínicos e sua presença está relacionada ao momento da colheita sanguínea (JOHNSON; SMITH, 1983), tal fato pode ser observado no M0, onde 50% dos animais apresentaram leucopenia. Contudo Latimer e Rakich (1989) relataram que animais com evolução favorável da doença apresentam uma contagem alta de leucócitos, estando a leucocitose transitória associada a uma rápida recuperação, o que

pode ser percebido no M2 com o aumento da porcentagem de animais que passaram a ter valores de leucócitos dentro dos limites de normalidade e com leucocitose, com diminuição da porcentagem de animais apresentando leucopenia.

A leucopenia que se instala na parvovirose canina é decorrente da neutropenia e da linfopenia, causada pela perda de neutrófilos devido à lesão intestinal e ao comprometimento da produção medular (JOHNSON; SMITH, 1983; HALL; SIMPSON, 2004). Da mesma forma nos animais em estudo a leucopenia observada em 50% dos animais no M0 deveu-se a neutropenia e a linfopenia que corresponderam a 42,9% e a 64,3% dos animais neste momento, respectivamente.

Em relação aos momentos de avaliação houve diferença estatística em relação aos neutrófilos segmentados (NS), eosinófilos e linfócitos (Tabela 2). Os NS apresentaram uma diminuição considerável nos valores do M0 em relação ao M4 e os linfócitos uma diminuição no M0 em relação ao M2 e M4 (Tabela 2). Tal fato é explicado pela leucopenia oriunda da neutropenia e linfopenia observada nos animais do M0, que tiveram aumento dos valores dessas linhagens celulares em decorrência da recuperação clínica observada ao longo dos momentos. Em relação aos eosinófilos, estes apresentaram valores expressivamente menores no M2 em relação ao M4 (Tabela 2), onde esta diminuição pode ser em decorrência tanto da infecção aguda como da condição de estresse, o qual promove liberação endógena de glicocorticoides que reduzem a liberação dessas células na corrente sanguínea (LATIMER; RAKICH, 1989).

Com relação às provas bioquímicas de função renal, foram observados valores baixos para a ureia nos momentos M2 e M4 e creatinina no M2 (Tabela 3), apresentando os demais momentos valores adequados para a espécie (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 1997), porém com diminuição significativa para a creatinina no M0 e M2 em relação ao M4 (Tabela 3), sem importância clínica neste estudo. Diminuição de peso e alterações na dieta podem causar diminuição nos valores de ureia e creatinina, explicando a diminuição destes no M2, correspondente ao momento de maior privação de alimento (48 horas) em decorrência de jejum alimentar pela intercorrência do vômito.

Nas provas bioquímicas de função hepáticas, apenas a FA apresentou níveis acima da normalidade no M0 e M2 (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 1997), mas sem significância estatística (Tabela 3), podendo a atividade elevada dessa enzima ter ocorrido em consequência da hipovolemia instalada (MACINTIRE; SMITH-CARR, 1997).

Os valores inerentes ao perfil protéico dos animais estudados, representados pelas PT, albumina e globulina, apresentaram concentrações abaixo do limite inferior do intervalo referencial (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 1997) no momento M2 o que ocasionou diferença estatística em relação aos demais momentos às PT e albumina (Tabela 3). Com relação à globulina, esta apresentou valores normais nos momentos M0 e M4, entretanto com valor significativamente baixo no M2 (Tabela 3). De acordo com McCandlish et al. (1981), a destruição causada pelo vírus promove a perda da integridade da mucosa do intestino e proteínas são perdidas para o lúmen intestinal, acarretando em hipoproteinemia por hipoalbuminemia, e consequente hipoglobulinemia, que foram observadas no M2. Resultados semelhantes foram obtidos por Mendes et al. (2011) onde as PT, albumina e globulina, apresentaram níveis séricos inferiores aos valores de normalidade.

As médias das concentrações de CK-MB no M0 e M2 (Tabela 3) apresentaram-se acima dos valores de referência para a espécie (0-76 IU/L) (ROE; COBB; STRAMER, 1977). Como nos cães os intestinos, pulmões e baço representam 85% da atividade da CK-MB total (AKTAS et al., 1993), as concentrações elevadas desta variável no M0 e M2 se atribui à acentuada atividade intestinal proveniente do quadro de diarreia presente nestes animais nos respectivos momentos de avaliação, o que não foi observado no M4, o qual se apresentou com média dentro do limite de normalidade (ROE; COBB; STRAMER, 1977) e significativamente menor em relação ao M0 e M2 (Tabela 3).

Esta afirmação corrobora com a concentração de troponina I (cTnI), que apresentou valores inferiores a 0,06 ng/mL em todos os momentos de avaliação (Tabela 3), mantendo-se dentro do limite de normalidade para a espécie (0.03-0.07ng/mL) (SLEEPER et al., 2001), demonstrando a ausência de lesão cardíaca nesses animais, que apesar de terem apresentado valores de CKMB elevados no M0 e M2 (Tabela 3), esse aumento foi atribuído à destruição das criptas intestinais provocadas pelo vírus (HALL; SIMPSON, 2004), ou seja, de origem não cardíaca.

Este fato demonstra que a isoenzima CK-MB não é um indicador confiável de lesão cardíaca em cães quando há lesão em outros órgãos (WYATT; LABUC; WYATT, 1998) o que causa diminuição da sua especificidade (TIMERMAN; CÉSAR, 2000).

Em relação à dosagem de eletrólitos, foram observados hipocalcemia, hiponatremia, hipomagnesemia e hipocloremia em todos os momentos de avaliação, com

hiperfosfatemia no M0 e M4 e concentração de potássio dentro dos níveis de normalidade para a espécie (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 1997) em todos os momentos (Tabela 4).

Os valores baixos de Ca^{++} obtidos nesse experimento podem ser explicados pela absorção reduzida deste elemento no trato gastrointestinal em decorrência da doença, como também secundária a hipomagnesemia e hipoalbuminemia (DIBARTOLA, 2007), observadas nos animais em estudo.

As médias obtidas de Na^{++} apresentaram significativamente menores no M0 e M2 em relação ao M4 (Tabela 4), onde este se aproximou ao nível de normalidade (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 1997). As baixas concentrações de Na^{++} encontradas também são atribuídas às perdas de fluidos e eletrólitos gastrintestinais decorrentes do vômito e diarreia.

Os níveis baixos de Mg^{++} observados nesses animais podem estar relacionados à anorexia e ao tempo de restrição alimentar que eram submetidos os animais devido à presença de vômito durante o período de internamento (M0 e M2) (Tabela 4) (BATEMAN, 2007), porém este se aproximou ao nível de normalidade no M4 o que demonstra que os animais ainda apresentavam deficiências dietéticas de origem alimentar na fase de recuperação (M4).

As alterações dos níveis de Cl^- geralmente acompanham as mudanças dos níveis de Na^{++} , sendo a hipocloremia causada especialmente por vômitos, o que tornou significativamente menor as médias no M0 comparado ao M4 (Tabela 4).

Ocorreu hiperfosfatemia no M0 e M4, apresentando este último, média significativamente maior em relação ao M2 (Tabela 4), que foi o único momento dentro do limite de normalidade (KANEKO; HARVEY; BRUSS, 1997), porém com 50% dos animais avaliados apresentando valores acima do normal. Segundo Nelson e Couto (2010) o aumento das concentrações séricas de fósforo em cães e gatos com menos de seis meses de idade é comum, sendo esta a faixa etária de todos os animais avaliados neste experimento. O aumento do fósforo pode causar redução nas concentrações de cálcio, acarretando em hipocalcemia que foi também observada nos animais, estando mais acentuada no M4 que foi o momento de maior elevação nos níveis de fósforo (Tabela 4).

As médias das pressões sistólicas, diastólicas e média estão todas dentro dos limites de referência citados na literatura para cães normotensos (TILLEY; GOODWIN, 2002), porém a PAS diferiu entre os momentos, apresentando-se significativamente maior no M4 comparado ao M1 (Tabela 5), o que pode estar relacionado com o maior estresse

provocado pela contenção física desses animais, já que grande parte das aferições do M4 foi realizada em seus respectivos lares e os animais apresentavam-se sadios e, portanto mais agitados, diferentemente do ocorrido no M2, o qual estes encontravam internados e convalescentes por decorrência da doença, sendo mais fácil seu manejo.

Com relação aos valores correspondentes ao eletrocardiograma (Tabela 6), apenas os valores referentes à onda T apresentaram alteração em todos os momentos de avaliação, apresentando amplitude maior do que 25% da amplitude da onda R (TILLEY et al., 2001), que é indicativo de hipóxia do miocárdio, distúrbios de condução interventricular, dilatação ventricular, doença cardíaca e bradicardia (GOODWIN, 2002; CAMACHO; MUCHA, 2008).

A amplitude da onda R (RmV) foi significativamente maior no M0, comparada aos demais momentos de avaliação (M1, M2, M3 e M4), porém manteve-se entre o intervalo de referência para a espécie (TILLEY et al., 2001), indicando apenas uma maior intensidade do impulso elétrico necessário para a despolarização ventricular no M0.

No que se refere às figuras eletrocardiográficas anormais, um animal apresentou distúrbio de condução intraventricular denominado bloqueio fascicular anterior esquerdo, que persistiu até o M4 (Figura 1). Esta alteração pode estar relacionada a uma consequência da ação do *parvovírus* sob o miocárdio (miocardite), cardiopatias, disfunção de ordem congênita e/ou distúrbio eletrolítico (TILLEY et al., 2001), contudo este animal apresentou aumento de CK-MB apenas no M0.

4.6. Conclusão

Diante dos resultados obtidos com esta pesquisa, pode-se concluir que o parvovírus canino subtipo 2b, foi a variante responsável pelos sinais clínicos de vômito e diarreia, porém as alterações eletrocardiográficas encontradas nesses animais foram atribuídas ao desequilíbrio eletrolítico, visto que não houve indícios de lesão miocárdica comprovada através da utilização de biomarcadores cardíacos os quais se mantiveram inalterados.

Agradecimentos

Ao Professor Patrício Marques de Souza, Laboratório de Pesquisa da Universidade Federal de Campina Grande, por todo o suporte operacional e científico. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de mestrado.

O presente trabalho foi desenvolvido após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, sob o protocolo nº 53/2013.

4.7. Referências

- AKTAS, D. M.; AUGUSTE, D.; LEFEBVRE, H. P.; TOUTAIN, P. L.; BRAUN, J. P. Creatine kinase in the dog: a review. *Veterinary Research Communications*, Amsterdam, v. 17, n. 5, p. 353-369, 1993.
- BATEMAN, S. Distúrbios relacionados ao magnésio: déficit e excesso. In: DIBARTOLA, S. P. *Anormalidades de fluidos, eletrólitos e equilíbrio ácido-básico*. 3. ed. São Paulo: Roca, 2007. cap. 8, p. 212-229.
- BRUNNER, C. J.; SWANGO, L. J. Canine parvovirus infection: effects on the immune system and factors that predispose to severe disease. *Compend Contin Educ Pract Vet.*, v. 7, n. 12, p. 979-988, 1985.
- BURROWS, C. F.; BATT, R. M.; SHERDING, R. G. Afecções do intestino Delgado. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. *Tratado de medicina interna veterinária – Moléstias do cão e do gato*. 4. ed. São Paulo: Manole, 1997. v. 2, cap. 104, p. 1618-1705.
- CAMACHO, A. A.; MUCHA, C. J. Semiologia do sistema circulatório de cães e gatos. In: FEITOSA, F. L. F. Exame físico geral ou de rotina. *Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico*. São Paulo : Roca, 2008. cap. 6, p. 246-273.
- CUNNINGHAM, J. G. *Tratado de Fisiologia Veterinária*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993, 454p.
- DIBARTOLA, S. P. *Anormalidades de fluidos, eletrólitos e equilíbrio ácido-básico na clínica de pequenos animais*. 3. ed. São Paulo: Roca, 2007. 664 p.
- FEITOSA, F. L. F. Exame físico geral ou de rotina. In: _____. *Semiologia Veterinária: a arte do diagnóstico*. 2. Ed. São Paulo : Roca, 2008. cap. 4, p. 65-89.
- GOODWIN, J. K. Eletrocardiografia. In: TILLEY, L. P. GOODWIN, J. K. *Manual de Cardiologia para cães e gatos*. 3.ed. São Paulo: Roca, 2002. p. 39-65.
- HALL, E. J.; SIMPSON, K. W. Doenças do intestino delgado. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. *Tratado de medicina interna veterinária*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. v. 2, cap. 137, p. 1247-1305.

- HOSKINS, J. D. Doenças virais caninas. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. *Tratado de medicina interna veterinária*. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. v. 1, cap. 88, p. 440-446.
- HOSKINS, J. D. Update on canine parvoviral enteritis. *Veterinary Medicine*. Barcelona, v. 92, n. 8, p. 694-709, 1997.
- HOUSTON, D. M.; RIBBLE, C. S.; HEAD, L. L. Risk factors associated with parvovirus enteritis in dogs: 283 cases (1982-1991). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, New York, v. 208, n. 4, p. 542-546, 1996.
- JAIN, N. C. *Essentials of veterinary hematology*. 1 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, 417p.
- JOHNSON, R. H.; SMITH, J. R. Epidemiology and pathogenesis of canine parvovirus. *Australian Veterinary Practitioner*, Surry Hills, v. 13, n. 1, p. 31-40, 1983.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. *Clinical biochemistry of domestic animals*. 5 ed. San Diego: Academic Press, 1997. 932 p.
- LATIMER, K. S.; RAKICH, P. M. Clinical interpretation of leukocyte responses. *Veterinary Clinica of North America – Small Animal Practice*, Philadelphia, v. 19, n. 4, p. 637-688, 1989.
- LEVY, M. N. O sistema arterial. In: BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M.; STANTON, B. A. *Fisiologia*. 5. Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. cap. 19, p. 373-402.
- MCCANDLISH, I. A. P.; THOMPSON, H.; FISHER, E. W.; CORNWELL, H. J.; MACARTNEY, J.; WALTON, I. A. Canine parvovirus infection. *In Practice*, London, v. 3, n. 3, p. 5-14, 1981.
- MACINTIRE, D. K.; SMITH-CARR, S. Canine parvovirus. Part II. Clinical signs, diagnosis and treatment. *Compendium on Continuing Education for Veterinarians*, v. 19, n. 3, p. 291-300, 1997.
- MENDES, R. S.; SOUZA, A. P.; SILVA, R. M. N.; BORGES, O. M. M.; TORRES, L. M.; DANTAS, A. K. F. P. Perfil hematológico e bioquímico de cães com gastroenterite hemorrágica por parvovírus diagnosticados pelo método de imunocromatografia. *Acta Veterinaria Brasilica*, Mossoró, v. 5, n. 3, p.278-283, 2011.
- MUCHA, C. J.; CAMACHO, A. A. Determinación de la presión arterial. In: BELERENIAN, G., MUCHA, C.; CAMACHO, A. A.; GRAU, J. M. *Afecciones cardiovasculares en pequeños animales*. Buenos Aires: Inter-Médica, 2007. cap.8, p.179-183.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Distúrbios do trato intestinal. In: _____. *Medicina interna de pequenos animais*. 3. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. cap. 33, p. 417-448.

NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Exames diagnósticos do sistema cardiovascular. In: _____. *Medicina interna de pequenos animais*. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. cap. 2, p. 16-31.

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*, Philadelphia, v.11, n. 2, p. 65-70, 1997.

ROE, C. R.; COBB, F. R.; STRAMER, C. F. The relationship between enzymatic and histologic estimates of the extent of myocardial infarction in conscious dogs with permanent coronary occlusion. *Circulation*, Dallas, v. 55, n. 3, p. 438-449, 1977.

SAVIGNY, M. R.; MACINTIRE, D. K. Use of oseltamivir in the treatment of canine parvoviral enteritis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, San Antonio, v. 20, n. 1, p. 132-142, 2010.

SLEEPER, M. M.; CLIFFORD, C. A.; LASTER, L. L. Cardiac troponin I in the normal dog and cat. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Philadelphia v.15, p.501-503, 2001.

SMITH-CARR, S.; MACINTIRE, D. K.; SWANGO, L. J. Canine parvovirus. Part I. Pathogenesis and vaccination. *Compendium on Continuing Education for Veterinarians*, v. 19, n. 2, p. 125-133, 1997.

TILLEY, L. P.; SMITH JR, F. W. K.; OYAMA, M. A.; SLEEPER, M. M. *Manual of canine and feline Cardiology*. 4º ed. Saunders Elsevier, 2001. cap. 3, p. 64-77.

TILLEY, L. P.; GOODWIN, J.K. *Manual of canine and feline cardiology*. 3.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2002. p.337-344.

TIMERMAN, A.; CÉSAR, L. A. M. *Manual de cardiologia (SOCESP)*. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2000. 590p.

WYATT, K. M.; LABUC, R.; WYATT, G. L. Measurement of creatine kinase MB in canine cardiac patients. *Australian Veterinary Journal*, Oxford, v. 76, n. 12, p. 826-826, 1998.

Tabela 1. Valores médios e desvios padrão das variáveis frequência cardíaca (FC), frequência respiratória (FR) e temperatura corporal (TC) de cães acometidos por parvovirose ao longo dos momentos (M0, M1, M2, M3 e M4), no município de Patos, Paraíba, Brasil.

Variável	Momentos					Valores de referência*
	M0	M1	M2	M3	M4	
FC (bpm)	138,9±25,7	123±38,27	128,1±23	129,8±25,12	143,9±26,7	60-160
FR (mpm)	50,64±31,1	49,86±21,26	41,8±26,47	51,36±29,5	68,7±38,65	18-36
TC (°C)	38,64±0,68	38,37±0,56	38,53±0,6	38,74±0,7	38,97±0,52	37,5-39,2

* Valores segundo Feitosa (2008).

Tabela 2. Valores médios e desvios padrão das variáveis hematológicas de cães acometidos por parvovirose ao longo dos momentos (M0, M2 e M4), no município de Patos, Paraíba, Brasil.

Variável	Momentos			Valores de referência*
	M0	M2	M4	
Eritrócitos (x10⁶/mm³)	6,20±0,80 ^a	5,24±0,72 ^b	5,38±0,87 ^b	5,5-8,5
Hb (g/dL)	12,62±1,74 ^a	11,21±1,52 ^b	11,46±1,89 ^b	12-18
Ht (%)	40,36±4,78 ^a	34,79±4,64 ^b	35,14±5,20 ^b	37-55
VCM (fL)	65,63±4,85	67,07±5,54	66,45±5,53	60-77
CHCM (%)	31,39±1,95	32,17±1,39	32,43±1,78	31-36
Plaquetas (mm³)	365714±95786,2	367714±87377,5	340428±109569	200000-900000
Leucócitos Totais (mm³)	7328±5253	11360±8424	14035±5121	6000-17000
NS (mm³)	5095±4960 ^a	7040±7800	9105±3925 ^b	3000-11500
NB (mm³)	42±82	96±129	16±59	0-300
EOS (mm³)	248,93±276,90	226,86±323,30 ^a	647,78±408,44 ^b	100-1250
LINF (mm³)	1239±1120 ^a	3064±1217 ^b	3896±3185 ^b	1000-4800
MON (mm³)	478±646	1141±1327	370±290	150-1350
BAS (mm³)	0	0	0	raro

* Valores segundo Jain (1993).

Tabela 3. Valores médios e desvios padrão das análises bioquímicas de cães acometidos por parvovirose ao longo dos momentos (M0, M2 e M4), no município de Patos, Paraíba, Brasil.

Variável	Momentos			Valores de referência
	M0	M2	M4	
Ureia (mg/dL)	25,57±23,86	14,50±12,08	18,71±9,76	21,4-59,92*
Creatinina (mg/dL)	0,52±0,22 ^a	0,48±0,21 ^a	0,86±0,24 ^b	0,5-1,5*
FA (UI/L)	166,50±67,82	231,21±256,06	146,07±55,16	20-156*
ALT (UI/L)	23,14±11,09	21,29±9,95	27,86±15,26	21-73*
PT (g/dL)	5,26±1,31 ^a	4,17±1,20 ^b	6,26±0,91 ^c	5,4-7,1*
Albumina (g/dL)	2,19±0,39 ^a	1,74±0,50 ^b	2,72±0,45 ^c	2,6-3,3*
Globulina (g/dL)	3,07±0,99 ^a	2,43±0,80 ^b	3,54±0,72 ^a	2,7-4,4*
CK-MB (U/L)	107,02±46,43 ^a	126,09±74,69 ^a	69,31±30,23 ^b	0-76 ⁺
cTnI (ng/mL)	0,06	0,06	0,06	0,03-0,07 [#]

* Valores segundo Kaneko; Harvey; Bruss (1997).

+ Valores segundo Roe; Cobb; Stramer (1977).

Valores segundo Sleeper; Clifford; Laster (2001).

Tabela 4. Valores médios e desvios padrão dos eletrólitos cálcio (Ca⁺⁺), sódio (Na⁺), potássio (K⁺), magnésio (Mg⁺⁺), cloreto (Cl⁻) e fósforo (P) de cães acometidos por parvovirose ao longo dos momentos (M0, M2 e M4), no município de Patos, Paraíba, Brasil.

Variável	Momentos			Valores de referência*
	M0	M2	M4	
Ca ⁺⁺ (mg/dL)	7,62±1,50	6,70±1,53	5,63±2,24	9-11,3
Na ⁺ (mEq/L)	118,62±11,72 ^a	122,76±11,81 ^a	140,71±12,03 ^b	141,1-152,3
K ⁺ (mEq/L)	5,07±0,77	5,39±0,81	5,4±0,65	4,37-5,65
Mg ⁺⁺ (mg/dL)	1,52±0,33	1,26±0,34	1,76±0,51	1,8-2,4
Cl ⁻ (mg/dL)	82,93±6,63 ^a	86,28±10,26	91,07±5,48 ^b	105-115
P (mg/dL)	7,32±3,21	5,91±1,36 ^a	8,06±1,14 ^b	2,6-6,2

* Valores segundo Kaneko; Harvey; Bruss (1997).

Tabela 5. Valores médios e desvios padrão da pressão arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) e média (PAM) de cães acometidos por parvovirose ao longo dos momentos (M0, M1, M2, M3 e M4), no município de Patos, Paraíba, Brasil.

Variável	Momentos					Valores de referência*
	M0	M1	M2	M3	M4	
PAS (mmHg)	119,1±15,4	118,6±1 ^a	122,6±12,1	126,14±16	132,28±11,7 ^b	110-170
PAD (mmHg)	79,36±11,2	79,93±9,9	82,36±7,7	76,21±11,1	81,64±14,6	70-100
PAM (mmHg)	93,43±11,4	92,8±10,7	95,78±7,8	92,86±11	97,93±13,9	80-120

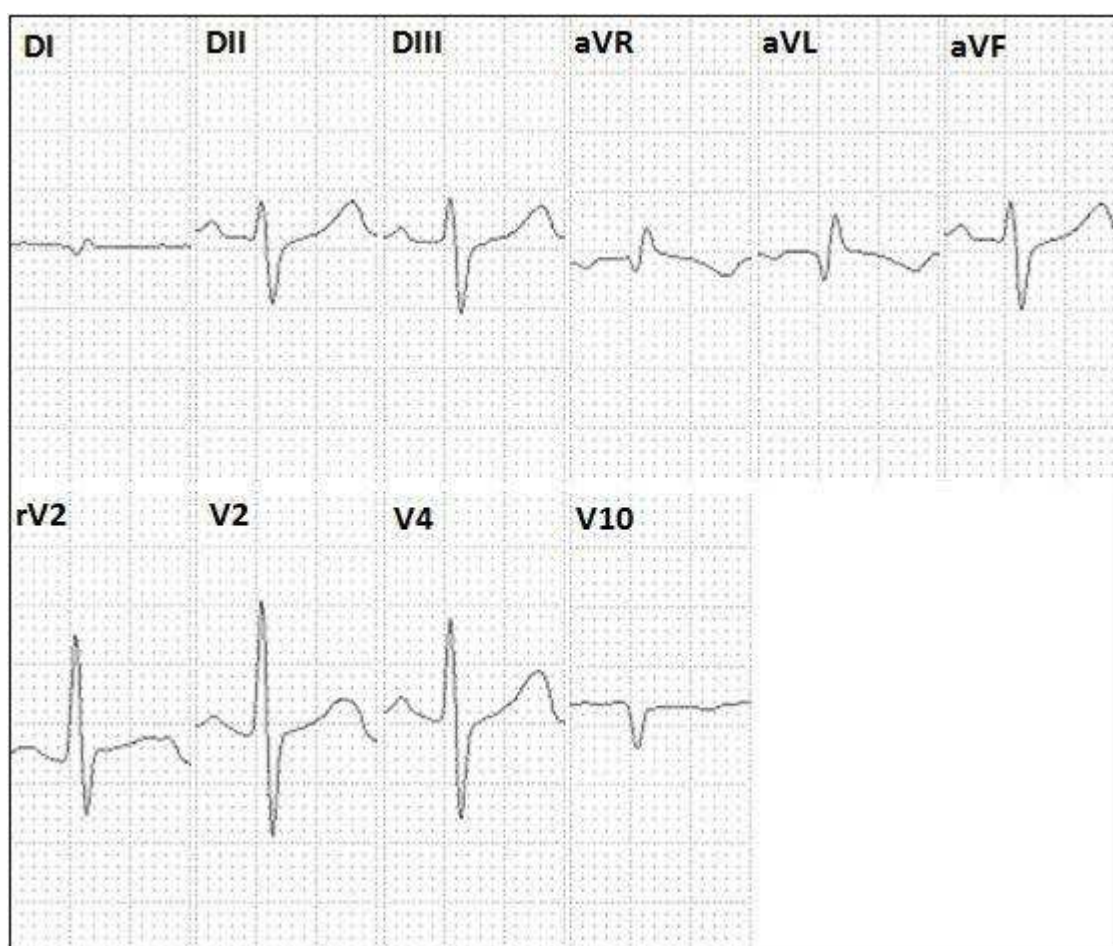
* Valores segundo Tilley; Goodwin (2002).

Tabela 6. Valores médios e desvios padrão das variáveis eletrocardiográficas de cães acometidos por parvovirose ao longo dos momentos (M0, M1, M2, M3 e M4), no município de Patos, Paraíba, Brasil.

Variável	Momentos					Valores de referência*
	M0	M1	M2	M3	M4	
Pms	0,05± 0,058	0,05± 0,006	0,046± 0,006	0,046± 0,006	0,045± 0,005	Até 0,05
PmV	0,19± 0,061	0,15± 0,056	0,15± 0,028	0,16± 0,05	0,17± 0,031	Até 0,4
QRS	0,05± 0,012	0,05± 0,013	0,05± 0,015	0,05± 0,014	0,049± 0,012	Até 0,06
RmV	0,86± 0,410 ^a	0,77± 0,356 ^b	0,58± 0,217 ^b	0,62± 0,206 ^b	0,62± 0,229 ^b	Até 2,5
PR	0,09± 0,015	0,10± 0,019	0,09± 0,016	0,09± 0,015	0,09± 0,014	0,06-0,13
QT	0,19± 0,029	0,20± 0,038	0,19± 0,025	0,19± 0,035	0,18± 0,042	0,15-0,25
SmV	0,16± 0,137	0,11± 0,129	0,12± 0,139	0,10± 0,129	0,10± 0,165	0,15
TmV	0,26± 0,182	0,21± 0,138	0,19± 0,890	0,20± 0,181	0,24± 0,215	< 25% de R

* Tilley et al. (2001).

Figura 1: Representação eletrocardiográfica de cão com gastroenterite por *Parvovirus* CPV 2b, revelando bloqueio fascicular anterior esquerdo (EEM: -80°).



5. CONCLUSÕES

Mediante os resultados obtidos pôde-se conferir as seguintes conclusões:

No que se refere à parvovirose canina, pode-se concluir que o subtipo 2b, foi a variante encontrada na cidade de Patos, PB, e, portanto, responsável pelos sinais clínicos de vômito e diarreia em animais susceptíveis com menos de seis meses de idade, porém em decorrência da variabilidade biogeográfica do Brasil, e pela escassez de informação da identificação filogenética de cepas de *parvovirus* nas demais áreas da região Nordeste, torna-se necessária a realização de novas pesquisas com o intuito de se conhecer o real perfil epidemiológico da doença e seus principais fatores de risco na população canina, para que, desta forma, possam ser produzidas vacinas mais eficientes e que proporcionem uma proteção vacinal mais eficaz.

O envolvimento cardíaco em cães acometidos pelo CPV-2b é muito controverso. As alterações cardiovasculares observadas nos resultados dessa pesquisa foram atribuídas ao desequilíbrio eletrolítico, uma vez que não houve indícios de lesão miocárdica comprovada através da utilização de biomarcadores cardíacos, os quais se mantiveram inalterados em todos os momentos de avaliação.

6. ANEXOS

Normas do Capítulo I

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA

Brazilian Journal of Veterinary Research

Os trabalhos para submissão devem ser enviados por via eletrônica, através do e-mail <jurgen.dobereiner@pvb.com.br>, com os arquivos de texto na versão mais recente do Word e formatados de acordo com o modelo de apresentação disponível no site da revista (www.pvb.com.br). Devem constituir-se de resultados de pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outra revista.

Para abreviar sua tramitação e aceitação, os trabalhos sempre devem ser submetidos conforme as normas de apresentação da revista (www.pvb.com.br) e o modelo em Word (PDF no site). **Os originais submetidos fora das normas de apresentação, serão devolvidos aos autores para a devida adequação.**

Apesar de não serem aceitas comunicações (*Short communications*) sob forma de “Notas Científicas”, não há limite mínimo do número de páginas do trabalho enviado, que deve, porém, conter pormenores suficientes sobre os experimentos ou a metodologia empregada no estudo. Trabalhos sobre Anestesiologia e Cirurgia serão recebidos para submissão somente os da área de Animais Selvagens.

Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos, o Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os trabalhos submetidos são aceitos através da aprovação pelos pares (*peer review*).

NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista (impresa e online) e distribuição via correio é cobrada taxa de publicação (*page charge*) no valor de R\$ 250,00 por página editorada e impressa, na ocasião do envio da prova final, ao autor para correspondência.

1. Os trabalhos devem ser organizados, sempre que possível, em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO, MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES (ou combinação destes dois últimos), Agradecimentos e REFERÊNCIAS:

a) o **Título** do artigo deve ser conciso e indicar o conteúdo do trabalho; pormenores de identificação científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

b) O(s) **Autor(es)** deve(m) sistematicamente encurtar os nomes, tanto para facilitar sua identificação científica, como para as citações bibliográficas. Em muitos casos isto significa manter o primeiro nome e o último sobrenome e abreviar os demais sobrenomes:

Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto ou Peixoto P.V.; Franklin Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa ou Riet-Correa F.; Silvana Maria Medeiros de Sousa Silva poderia usar Silvana M.M.S. Silva, inverso Silva S.M.M.S., ou Silvana M.M. Sousa-Silva, inverso, Sousa-Silva S.M.M., ou mais curto, Silvana M. Medeiros-Silva, e inverso, Medeiros-Silva S.M.; para facilitar, inclusive, a moderna indexação, recomenda-se que os trabalhos tenham o máximo de 8 autores;

c) o **ABSTRACT** deverá ser apresentado com os elementos constituintes do RESUMO em português, podendo ser mais explicativos para estrangeiros. Ambos devem ser seguidos de “INDEX TERMS” ou “TERMOS DE INDEXAÇÃO”, respectivamente;

d) o **RESUMO** deve apresentar, de forma direta e no passado, o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais importantes resultados e conclusões. Nos trabalhos em inglês, o título em português deve constar em negrito e entre colchetes, logo após a palavra RESUMO;

e) a **INTRODUÇÃO** deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do trabalho;

f) em **MATERIAL E MÉTODOS** devem ser reunidos os dados que permitam a repetição do trabalho por outros pesquisadores. Na experimentação com animais, deve constar a aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;

g) em **RESULTADOS** deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que indicado, médias de várias repetições. É conveniente, às vezes, expressar dados complexos por gráficos (Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;

h) na **DISCUSSÃO** devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém mencionar trabalhos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do autor e da revista de publicá-los;

i) as **CONCLUSÕES** devem basear-se somente nos resultados apresentados no trabalho;

j) **Agradecimentos** devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;

k) a Lista de **REFERÊNCIAS**, que só incluirá a bibliografia citada no trabalho e a que tenha servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabeticamente pelo sobrenome do primeiro autor, registrando-se os nomes de todos os autores, em caixa alta e baixa (colocando as referências em ordem cronológica quando houver mais de dois autores), o título de cada publicação e, abreviado ou por extenso (se tiver dúvida), o nome da revista ou obra, usando as instruções do “Style Manual for Biological Journals” (American Institute for Biological Sciences), o “Bibliographic Guide for Editors and Authors” (American Chemical Society, Washington, DC) e exemplos de fascículos já publicados (www.pvb.com.br)

2. Na elaboração do texto deverão ser atendidas as seguintes normas:

a) os trabalhos devem ser submetidos **segundo o exemplo de apresentação de fascículos recentes da revista e do modelo constante do site sob “Instruções aos Autores” (www.pvb.com.br)**. A digitalização deve ser na fonte **Cambria, corpo 10, entrelinha simples**; a **página** deve ser **no formato A4, com 2cm de margens** (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das figuras e os Quadros no final (logo após as REFERÊNCIAS). As Figuras (inclusive gráficos) devem ter seus arquivos fornecidos separados do texto. Quando incluídos no texto do trabalho, devem ser introduzidos através da ferramenta “Inserir” do Word; pois imagens copiadas e coladas perdem as informações do programa onde foram geradas, resultando, sempre, em má qualidade;

b) a redação dos trabalhos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será contínua por todo o trabalho; as notas serão lançadas ao pé da página em que estiver o respectivo sinal de chamada. Todos os Quadros e todas as Figuras serão mencionados no texto. Estas remissões serão feitas pelos respectivos números e, sempre que possível, na ordem crescente destes. ABSTRACT e RESUMO serão escritos corridamente em um só parágrafo e não deverão conter citações bibliográficas.

c) **no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os autores e o e-mail do autor para correspondência, bem como e-mails dos demais autores (para eventualidades e confirmação de endereço para envio do fascículo impresso)**;

d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parênteses e precedidas do nome por extenso;

e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”; trabalhos de até três autores serão citados pelos nomes dos três, e com mais de três, pelo nome do primeiro, seguido de “et al.”, mais o ano; se dois trabalhos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano, em ambos.

Trabalhos não consultados na íntegra pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência, “(Resumo)” ou “(Apud Fulano e o ano.)”; a referência do trabalho que serviu de fonte, será incluída na lista uma só vez.

A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de trabalhos colocados entre parênteses, **não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem ponto-e-vírgula após cada ano**; a separação entre trabalhos, nesse caso, se fará apenas por vírgulas, exememplo: (Christian & Tryphonas 1971, Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004, Krametter-Froetcher et. al. 2007);

f) a Lista das **REFERÊNCIAS** deverá ser apresentada **isenta do uso de caixa alta**, com os nomes científicos em itálico (grifo), **e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos fascículos da revista**, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

3. As Figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias) **originais devem ser preferencialmente enviadas por via eletrônica**. Quando as fotos forem obtidas através de câmeras digitais (com extensão “jpg”), os arquivos deverão ser enviados como obtidos (sem tratamento ou alterações). Quando obtidas em papel ou outro suporte, deverão ser anexadas ao trabalho, mesmo se escaneadas pelo autor. Nesse **caso**, cada Figura será identificada na margem ou no verso, a traço leve de lápis, pelo respectivo número e o nome do autor; havendo possibilidade de dúvida, deve ser indicada a parte inferior da figura pela palavra “pé”. Os gráficos devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto, sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na área da Figura; evitar-se-á o uso de título ao alto da figura. Fotografias deverão ser apresentadas preferentemente em preto e branco, em papel brilhante, ou em diapositivos (“slides”). Para evitar danos por grampos, desenhos e fotografias deverão ser colocados em envelope.

Na versão online, fotos e gráficos poderão ser publicados em cores; na versão impressa, somente quando a cor for elemento primordial a impressão das figuras poderá ser em cores.

4. As legendas explicativas das Figuras conterão informações suficientes para que estas sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas , com independência do texto) e **serão apresentadas no final do trabalho.**

5. Os Quadros deverão ser explicativos por si mesmos e **colocados no final do texto.** Cada um terá seu título completo e será caracterizado por dois traços longos, um acima e outro abaixo do cabeçalho das colunas; entre esses dois traços poderá haver outros mais curtos, para grupamento de colunas. **Não há traços verticais. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando, se possível, com “a” em cada Quadro;** as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas por um traço curto à esquerda.

Normas do Capítulo II

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Semina: Ciências Agrárias

Normas editoriais para publicação na Semina: Ciências Agrárias, UEL.

Os artigos poderao ser submetidos em portugues e apos o aceite serem traduzidos para o ingles.

Os artigos em inglês terão prioridade de publicação.

Os artigos em ingles deverao estar acompanhados (como documento suplementar) do comprovante de traducao; correcao de um dos seguintes tradutores

American Journal Experts.

Editage

Elsevier

O autor principal deverá anexar no sistema **documento comprobatório** dessa correção.

Categorias dos Trabalhos

- a) Artigos científicos: no máximo 20 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas;
- b) Comunicações científicas: no máximo 12 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 16 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- b) Relatos de casos: No máximo 10 páginas, com referências bibliográficas limitadas a 12 citações e no máximo duas tabelas ou duas figuras ou uma tabela e uma figura;
- c) Artigos de revisão: no máximo 25 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas.

Apresentação dos Trabalhos

Os originais completos dos artigos, comunicações, relatos de casos e revisões podem ser escritos em português, inglês ou espanhol, no editor de texto Word for Windows, com espaçamento 1,5, em papel A4, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas, de acordo com a categoria do trabalho. Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e Tabelas serão numeradas em algarismos arábicos e devem estar separadas no final do trabalho.

As figuras e tabelas deverão ser apresentadas nas larguras de 8 ou 16 cm com altura máxima de 22 cm, lembrando que se houver a necessidade de dimensões maiores, no processo de editoração haverá redução para as referidas dimensões. As legendas das figuras deverão ser colocadas em folha separada obedecendo à ordem numérica de citação no texto. Fotografias devem ser identificadas no verso e desenhos e gráfico na parte frontal inferior pelos seus respectivos números do texto e nome do primeiro autor. Quando necessário deve ser indicado qual é a parte superior da figura para o seu correto posicionamento no texto.

Preparação dos manuscritos

Artigo científico:

Deve relatar resultados de pesquisa original das áreas afins, com a seguinte organização dos tópicos: Título; Título em inglês; Resumo com Palavras-chave (no máximo seis palavras); Abstract com Key words (no máximo seis palavras); Introdução; Material e Métodos; Resultados e Discussão com as conclusões no final ou Resultados, Discussão e Conclusões separadamente; Agradecimentos; Fornecedores, quando houver e Referências Bibliográficas. Os tópicos devem ser escritos em letras maiúsculas e minúsculas e destacados em negrito, sem numeração. Quando houver a necessidade de subitens dentro dos tópicos, os mesmos devem receber números arábicos. O trabalho submetido não pode ter sido publicado em outra revista com o mesmo conteúdo, exceto na forma de resumo de congresso, nota prévia ou formato reduzido.

A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:

1. Título do trabalho, acompanhado de sua tradução para o inglês.

2. *Resumo e Palavras-chave*: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 150 e um máximo de 300 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Key words*).
3. *Introdução*: Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.
4. *Material e Métodos*: Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.
5. *Resultados e discussão com conclusões ou Resultados, Discussão e Conclusões*: De acordo com o formato escolhido, estas partes devem ser apresentadas de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados, pontos de vistas discutidos e conclusões sugeridas.
6. *Agradecimentos*: As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

Observações:

Quando for o caso, antes das referências, deve ser informado que o artigo foi aprovado pela comissão de bioética e foi realizado de acordo com as normas técnicas de biosegurança e ética.

Notas: Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

Figuras: Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

Tabelas: As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

Grandezas, unidades e símbolos: Deverá obedecer às normas nacionais correspondentes (ABNT).

7. Citações dos autores no texto: Deverá seguir o sistema de chamada alfabética seguidas do ano de publicação de acordo com os seguintes exemplos:

- a) Os resultados de Dubey (2001) confirmam que
- b) De acordo com Santos et al. (1999), o efeito do nitrogênio.....
- c) Beloti et al. (1999b) avaliaram a qualidade microbiológica.....
- d) [...] e inibir o teste de formação de sincício (BRUCK et. al., 1992).
- e) [...]comprometendo a qualidade de seus derivados (AFONSO; VIANNI, 1995).

Citações com três autores

Dentro do parêntese, separar por ponto e vírgula.

Ex: (RUSSO; FELIX; SOUZA, 2000).

Incluídos na sentença, utilizar virgula para os dois primeiros autores e (e) para separar o segundo do terceiro.

Ex: Russo, Felix e Souza (2000), apresentam estudo sobre o tema....

Citações com mais de três autores

Indicar o primeiro autor seguido da expressão et al.

Observação: Todos os autores devem ser citados nas Referências Bibliográficas.

8. Referências Bibliográficas: As referências bibliográficas, redigidas segundo a norma NBR 6023, ago. 2000, da ABNT, deverão ser listadas na ordem alfabética no final do artigo. Todos os autores participantes dos trabalhos deverão ser relacionados, independentemente do número de participantes (única exceção à norma – item 8.1.1.2). A exatidão e adequação das referências a trabalhos que tenham sido consultados e mencionados no texto do artigo, bem como opiniões, conceitos e afirmações são da inteira responsabilidade dos autores.

As outras categorias de trabalhos (Comunicação científica, Relato de caso e Revisão) deverão seguir as mesmas normas acima citadas, porem, com as seguintes orientações adicionais para cada caso:

Comunicação científica

Uma forma concisa, mas com descrição completa de uma pesquisa pontual ou em andamento (nota prévia), com documentação bibliográfica e metodologia completas, como um artigo científico regular. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key words; Corpo do trabalho sem divisão de tópicos, porém seguindo a seqüência – introdução, metodologia, resultados (podem ser incluídas tabelas e figuras), discussão, conclusão e referências bibliográficas.

Relato de caso

Descrição sucinta de casos clínicos e patológicos, achados inéditos, descrição de novas espécies e estudos de ocorrência ou incidência de pragas, microrganismos ou parasitas de interesse agrônomo, zootécnico ou veterinário. Deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key-words; Introdução com revisão da literatura; Relato do (s) caso (s), incluindo resultados, discussão e conclusão; Referências Bibliográficas.

Artigo de revisão bibliográfica

Deve envolver temas relevantes dentro do escopo da revista. O número de artigos de revisão por fascículo é limitado e os colaboradores poderão ser convidados a apresentar artigos de interesse da revista. No caso de envio espontâneo do autor (es), é necessária a inclusão de resultados relevantes próprios ou do grupo envolvido no artigo, com referências bibliográficas, demonstrando experiência e conhecimento sobre o tema.

O artigo de revisão deverá conter os seguintes tópicos: Título (português e inglês); Resumo com Palavras-chave; Abstract com Key-words; Desenvolvimento do tema proposto (com subdivisões em tópicos ou não); Conclusões ou Considerações Finais; Agradecimentos (se for o caso) e Referências Bibliográficas.

Outras informações importantes

1.A publicação dos trabalhos depende de pareceres favoráveis da assessoria científica "*Ad hoc*" e da aprovação do Comitê Editorial da Semina: Ciências Agrárias, UEL.

2.Não serão fornecidas separatas aos autores, uma vez que os fascículos estarão disponíveis no endereço eletrônico da revista (<http://www.uel.br/revistas/uel>).

3.Os trabalhos não aprovados para publicação serão devolvidos ao autor.

4. Transferência de direitos autorais: Os autores concordam com a transferência dos direitos de publicação do referido artigo para a revista. A reprodução de artigos somente é permitida com a citação da fonte e é proibido o uso comercial das informações.
5. As questões e problemas não previstos na presente norma serão dirimidos pelo Comitê Editorial da área para a qual foi submetido o artigo para publicação.

Condições para submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, deve-se justificar em "Comentários ao Editor".
2. Informo que o material está corretamente formatado e que os Documentos Suplementares serão carregados, ESTANDO CIENTE que **aformatação incorreta importará na SUSPENSÃO do processo de avaliação SEM AVALIAÇÃO DO MÉRITO.**
3. **No passo seguinte preencher os metadados em inglês.**

Para incluí-los, após salvar os dados de submissão em português, clicar em "**editar metadados**" no topo da página - alterar o idioma para o inglês e inserir: título em inglês, abstract e key words. Salvar e ir para o passo seguinte.

4. **Devem ser preenchidos dados de autoria de todos os autores no processo de submissão.**

Utilize o botão "**incluir autor**"

5. A **identificação de autoria** do trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em Assegurando a Avaliação Cega por Pares.
6. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB)

7. O texto está em espaço 1,5; fonte Time New roman de tamanho 11; emprega itálico em vez de sublinhado (exceto em endereços URL);

O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em Diretrizes para Autores, na seção Sobre a Revista.

8. Atesto que foram seguidas todas as normas éticas, em caso de pesquisa com seres vivos, estando de posse dos documentos comprobatórios de aprovação por Comitê de Ética e Termo de Livre consentimento caso sejam solicitados. Tendo sido citado no texto a obediência aos preceitos éticos cabíveis.

9. **Taxa de Submissão de novos artigos**

Declaração de Direito Autoral

Os **Direitos Autorais** para artigos publicados nesta revista são de direito do autor. Em virtude da aparecerem nesta revista de acesso público, os artigos são de uso gratuito, com atribuições próprias, em aplicações educacionais e não-comerciais.

A revista se reserva o direito de efetuar, nos originais, alterações de ordem normativa, ortográfica e gramatical, com vistas a manter o padrão culto da língua e a credibilidade do veículo. Respeitará, no entanto, o estilo de escrever dos autores.

Alterações, correções ou sugestões de ordem conceitual serão encaminhadas aos autores, quando necessário. Nesses casos, os artigos, depois de adequados, deverão ser submetidos a nova apreciação.

As opiniões emitidas pelos autores dos artigos são de sua exclusiva responsabilidade.

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

- Enc: Submissão de artigo

<https://mail.google.com/mail/?ui=2&ik=4fbd42b0df&view=pt&sear...>



Enc: Submissão de artigo

1 mensagem

Angélica Ramalho de Araújo Leite <angelica_ral@yahoo.com.br> 11 de novembro de 2013 10:10
Responder a: Angélica Ramalho de Araújo Leite <angelica_ral@yahoo.com.br>
Para: Fernanda Henrique <nandinhavh@gmail.com>

Em Segunda-feira, 11 de Novembro de 2013 10:09, Angélica Ramalho de Araújo Leite <angelica_ral@yahoo.com.br> escreveu:

Dr. Jürgen Döbereiner, segue em anexo a submissão do artigo intitulado "**Caracterização molecular do parvovírus isolados de cães do semiárido nordestino**" para apreciação do corpo editorial, atendendo a todos os pré-requisitos para elaboração textual descrito na sessão instrução aos autores.

Agradeço a atenção e espero confirmação desta submissão.

Obrigada!!!

Att.

 **Caracterização molecular do parvovírus isolados de cães do semiárido nordestino.docx**
50K

13/11/2013 21:31



Enc: [SCA] Agradecimento pela submissão

1 mensagem

Angélica Ramalho de Araújo Leite <angelica_ral@yahoo.com.br> 11 de novembro de 2013 00:00

Responder a: Angélica Ramalho de Araújo Leite <angelica_ral@yahoo.com.br>

Para: Fernanda Henrique <nandinhavh@gmail.com>

Em Domingo, 10 de Novembro de 2013 23:56, Odilon Vidotto <vidotto@uel.br> escreveu:
Angélica Ramalho de Araújo Leite,

Agradecemos a submissão do trabalho "Caracterização laboratorial e cardiovascular de cães acometidos pelo parvovírus tipo 2b" para a revista Semina: Ciências Agrárias.
Acompanhe o progresso da sua submissão por meio da interface de administração do sistema, disponível em:

URL da submissão:

<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/author/submission/16950>

Login: angelicaramalho

Em caso de dúvidas, entre em contato via e-mail.

Agradecemos mais uma vez considerar nossa revista como meio de compartilhar seu trabalho.

Odilon Vidotto

Semina: Ciências Agrárias

Editor Chefe

Odilon Vidotto

Semina Ciências Agrárias

<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias>