

Aplicação direta de ovo hiperimunizado (AI-G®) como suporte no tratamento de animais acometidos por Parvovírus

Direct application of hyperimmunized egg (AI-G) to support the treatment of affected animals Parvovirus

Mariana Scheraiber - Departamento de Fisiologia – Universidade Federal do Paraná

Cristiano Félix - Nutripharme – Saúde Animal

Thais de Almeida Knopf - Hospital Veterinário Ecoville

Cacimar Teresinha de Castro Moraes - Hospital Veterinário Ecoville

Ana Vitória Fischer da Silva - Departamento de Fisiologia – Universidade Federal do Paraná

Ananda Portella Félix - Laboratório de Estudos de Nutrição Canina, Departamento de Zootecnia – Universidade Federal do Paraná

Scheraiber M, Félix C, Knopf TA, Moraes CTC, Da Silva AVF, Félix AP. Medvop - Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação; 2015; 13(43); 98-104.

Resumo

O estudo teve como objetivo avaliar a eficiência da suplementação com AI-G® – imunoglobulinas Y específicas da gema do ovo de galinhas (IgY) no tratamento convencional de animais acometidos por Parvovirose. Doze animais atendidos no Hospital Veterinário Ecoville e diagnosticados com a doença foram utilizados para o estudo. Os animais foram divididos em dois grupos – teste e controle. Aos três primeiros dias de internamento, os animais do grupo teste apresentaram menor valor de escores de sinais clínicos, como letargia, depressão e diarreia. Já na avaliação de hemograma, ao final da fase clínica da doença, aos 15 dias, os animais do grupo teste apresentaram menores quantidades de células de defesa, leucócitos, com relação ao grupo controle. Estes resultados indicam que a suplementação com AI-G® no tratamento convencional clínico é efetivo em promover a proteção contra a Parvovirose.

Palavras-chave: Animais de companhia; Gastroenterite; IgY; Imunologia.

Abstract

The study aimed to evaluate the efficiency of supplementation with AI-G® – specific immunoglobulin derived from chicken egg yolk (IgY) in the conventional treatment of animals affected by parvovirus. Twelve animals treated at Ecoville Veterinary Hospital and diagnosed with the disease were used for the study. The animals were divided into two groups – test and control. The first three days of hospitalization, animals in the test group showed lower scores clinical signs such as lethargy, depression and diarrhea. In the blood tests assessment at the end of the clinical stage of the disease, at 15 days, the animals in the test group had lower amounts of defense cells, leukocytes, in compare with the control group. These results indicate that supplementation with AI-G® in conventional clinical treatment is effective in promoting protection against parvovirus.

Keywords: Companion animals; Gastroenteritis; IgY; Immunology.

Introdução

A Parvovirose canina é uma das afecções virais mais importantes de cães jovens com menos de 6 meses de idade, responsável por altas taxas de morbidade e mortalidade. A primeira referência sobre a infecção dos cães por um primeiro parvovírus foi feita em 1970, quando Binn & Alii isolaram das fezes de cães assintomáticos quatro amostras de um vírus com pequenas dimensões, o qual foi denominado “vírus minúsculo dos cães”. Porém, somente em 1977 este vírus foi associado a cães (1).

Com isso, novas alternativas como as imunoglobulinas Y (IgY), anticorpos produzidos por galinhas poedeiras (*Gallus domesticus*), são utilizadas como suporte no tratamento desta doença. Estudos prévios demonstraram que a imunização passiva contra Rotavírus e Coronavírus em animais por meio da administração oral de colostro ou comprimidos de imunoglobulinas derivadas da gema do ovo de galinhas teve resultados promissores, ou seja, animais que tiveram a suplementação com IgY, obtiveram taxas de sobrevida aumentadas, diarreia reduzida e menor disseminação dos vírus (2).

Com base nisso, este estudo objetivou avaliar a eficiência da suplementação de IgY (AI-G®) em cães diagnosticados com Parvovirose atendidos no Hospital Veterinário Ecoville – Curitiba, Paraná, Brasil.

Parvovirose canina

O Parvovírus, dentre os vírus de tropismo digestivo, vem sendo o mais importante agente etiológico das afecções digestivas, responsável por altas taxas de morbidade e mortalidade no interior das coletividades, estando à alta frequência relacionada com a grande resistência do vírus no meio externo (3).

O agente etiológico da parvovirose canina é um vírus DNA, não envelopado, pertencente à família Parvoviridae, do gênero Parvovirus, denominado parvovírus canino (CPV). Atualmente, existem dois parvovírus de cães: o CPV tipo 1, também denominado parvovírus diminuto de cães, sem importância clínica definida nas gastroenterites (4), e o CPV tipo 2, que apresenta três subtipos – CPV2a, CPV2b e CPV2c. O CPV2b é o mais prevalente na população canina e, consequentemente, utilizado em vacinas (5).

O parvovírus requer a célula hospedeira para replicação, especificamente o núcleo da célula. A

replicação viral ocorre apenas em células que se dividem rapidamente, tais como as células das criptas intestinais epiteliais, células precursoras da medula óssea e miocardiócitos. Consequentemente, esta replicação viral resulta em morte celular (6).

Os sinais clínicos da infecção incluem diarreia – fezes líquidas ou pastosas (7), gastroenterite hemorrágica, vômitos e alta temperatura (8). Estas condições intestinais levam a desequilíbrio hidroeletrólítico no lúmen intestinal, rápida desidratação e alta mortalidade (6).

O período de incubação da doença varia de 7 a 10 dias. Alguns agentes como parasitas, protozoários, co-patógenos bacterianos e virais, estressores, como o desmame e condições de superlotação e insuficiente imunidade passiva e ativa podem contribuir para o desenvolvimento e a gravidade da doença. Outros fatores como sazonalidade e predisposição racial podem variar geograficamente (9).

Portanto, a utilização de métodos de diagnóstico, tais como avaliação clínica, exames laboratoriais e exames complementares, que permitam evidenciar de forma imediata o agente envolvido, contribui para o estabelecimento do diagnóstico definitivo do agente envolvido, permitindo a adoção de condutas terapêuticas específicas no controle da enfermidade (3).

Imunoglobulinas específicas da gema do ovo de galinhas

As imunoglobulinas são moléculas com alta especificidade para se ligar e inativar substâncias nocivas, como moléculas tóxicas ou antígenos, as quais poderão invadir o corpo. São proteínas que atuam como componentes críticos em cada estágio da resposta imunológica humoral (10). Existem cinco classes em mamíferos: IgA, IgM, IgE, IgG e IgD. Em aves existem três classes de imunoglobulinas análogas as dos mamíferos, tais como: IgA, IgM e IgY (IgG). A IgA é a classe de imunoglobulina responsável pela defesa das mucosas digestivas, brônquicas e do aparelho genitourinário. A IgM confere resposta de imunidade rápida, porém não muito efetiva e com duração pequena. Já a IgG tem por atividade biológica a capacidade de atravessar a placenta e as mucosas, sendo assim a atividade de IgY semelhante (11).

A imunoglobulina IgY é o maior anticorpo produzido por galinhas poedeiras (*Gallus domesticus*). Estes animais são produtores eficientes de anticorpos policlonais em comparação aos mamíferos. O processo

Aplicação direta de ovo hiperimunizado (AI-G®) como suporte no tratamento de animais acometidos por Parvovírus

de produção consiste em isolamento dessas galinhas, imunização com vacinas intramusculares no músculo peitoral contendo óleo adjuvante com antígeno. Oito semanas após a imunização inicial, uma imunização de reforço é administrada do mesmo modo. Após 60 dias, os ovos imunizados são colhidos e reunidos quando o título de anticorpo atinge o pico nas gemas (12). Estes anticorpos provindos da gema do ovo das galinhas representam redução e refinamento no uso de animais. O custo para a produção de IgY é menor do que para anticorpos de mamíferos, pois a habitação de frango é barata e o processo/separação do anticorpo é econômico, com alto rendimento, simples e rápido (13).

Em frente à alta especificidade, estas imunoglobulinas têm sido utilizadas para realização de diagnósticos, terapia passiva contra infecções e

inativação de substâncias tóxicas (13), pois o IgY promove o apoio ao sistema imunológico. Tem benefícios em equilibrar a microflora intestinal, promover absorção de nutrientes, reduzir a incidência de estresse induzida por diarreia, dá suporte de proteção da função intestinal, reduz agentes patogênicos e promove a qualidade fecal (14).

Material e método

Delineamento experimental

O trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais – Setor de Ciências Agrárias, da



Figura 1 – Snap® Parvovirose, com resultado positivo realizado no Hospital Veterinário Ecoville, em paciente participante do experimento (Mariana Scheraiber, 2015).



Figura 2 – Estrutura do isolamento, local aonde os animais permaneceram internados por 3 dias (Hospital Veterinário Ecoville, 2015).

Universidade Federal do Paraná, sob o número de protocolo 12/2015. Foram utilizados 12 cães atendidos no Hospital Veterinário Ecoville. Os animais foram selecionados para o experimento, sob o consentimento do responsável, com a queixa na anamnese de vômitos, diarreia, depressão e histórico de não vacinação prévia. Após a realização da anamnese, foi realizado o exame diagnóstico de ELISA – Enzyme linked immunosorbent assay – Ensaio Imunoenzimático (Snap® Parvovirose – IDEXX Laboratories), para a detecção do parvovírus (Figura 1).

Os cães foram divididos em dois grupos – teste e controle – os animais do grupo teste receberam o comprimido de AI-G®, na dose de 1 comprimido a cada 10 kg, 4 vezes ao dia (QID). Já os animais

do grupo controle, receberam o comprimido placebo, também na dose de 1 comprimido a cada 10 kg, QID. O tratamento com AI-G® foi utilizado como suplementação ao tratamento convencional instituído pelo hospital, o qual constitui em: antibioticoterapia, protetor gástrico, anti-emético, anti-pirético e analgésico. Os animais, tanto do grupo controle, quanto do grupo teste, permaneceram internados em área de isolamento no hospital por 3 dias (Figura 2), e após a alta médica, continuaram o tratamento com seus responsáveis.

Os animais foram avaliados com relação ao exame complementar de hemograma completo aos dias 0 e 15 e avaliação dos sinais clínicos (aos dias 0, 3, 7 e 15), realizadas por escore (Tabela 1):

Aplicação direta de ovo hiperimunizado (AI-G®) como suporte no tratamento de animais acometidos por Parvovírus

SINAIS CLÍNICOS		ESCORE
TEMPERATURA		
≤ 37,3		1
37,4 – 39,4		0
39,5 – 39,9		1
40,0 – 40,5		2
≥ 40,6		3
FEZES		
Muco nas fezes		1
Fezes aquosas		2
Fezes sanguinolentas		3
SINAIS GERAIS		
Anorexia		1
Depressão		1
Letargia		1
Vômitos		1
Tosse		1

Adaptado de Nguyen e colaboradores (2).

Tabela 1 – Escores de sinais clínicos para avaliação de paciente acometido por Parvovirose.

Análise estatística

Os animais foram distribuídos em delineamento inteiramente casualizado de acordo com a rotina do hospital, cada cão como uma unidade experimental. Os dados obtidos foram submetidos ao teste Kruskal-Wallis, a 5% de probabilidade, no programa Statistix®.

Resultados

Com relação ao escore de sinais clínicos, foi possível observar diferença significativa ($P < 0,05$) em qualidade de fezes e depressão nos animais que receberam a suplementação com AI-G® (Tabela 2).

Quando avaliados somente os animais do grupo

	FEZES	DEPRESSÃO
DIA 0		
Teste	5,0	6,5
Controle	8,0	6,5
P	0,1015	1,000
DIA 3		
Teste	4,5	4,5
Controle	8,5	8,5
P	0,0179*	0,0179*
DIA 7		
Teste	4,8	4,3
Controle	5,5	6,5
P	1,000	0,1705
DIA 15		
Teste	4,0	5
Controle	7,0	5
P	0,0185*	1,000

* $P < 0,05$ pelo teste de Kruskal-Wallis

Tabela 2 – Valores de soma do escore de sinais clínicos referentes aos dias 0, 3, 7 e 15 em animais do grupo teste (AI-G®) e animais do grupo controle.

controle, foi possível observar que em sinais clínicos avaliados de depressão, letargia, e fezes houve diminuição significativa ($P < 0,05$) ao longo dos dias 0, 3, 7 e 15 (Figura 3). Já nos animais do grupo teste (AI-G®), nestes mesmos sinais clínicos avaliados, tam-

bém houve diminuição significativa ($P < 0,05$), com diferenças entre as médias dentro do mesmo sinal clínico avaliado (Figura 4). Com relação à avaliação do hemograma completo, comparando-se os tratamentos no dia 0 e 15, foi possível observar que no

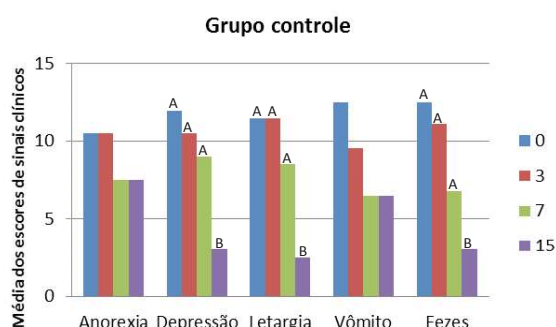


Figura 3 – Escores de sinais clínicos avaliados em cães do grupo controle nos dias 0, 3, 7 e 15. Médias distintas dentro de cada tratamento seguidas por letras distintas diferem pelo teste Kruskal-Wallis ($P < 0,05$) entre os dias.

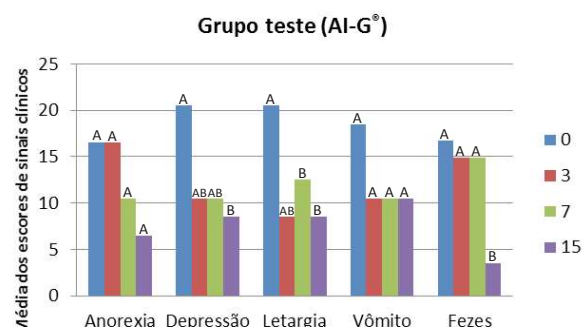


Figura 4 – Escores de sinais clínicos avaliados em cães do grupo teste (AI-G®) nos dias 0, 3, 7 e 15. Médias distintas dentro de cada tratamento seguidas por letras distintas diferem pelo teste Kruskal-Wallis ($P < 0,05$) entre os dias.

dia 15 houve menor nível de proteína plasmática e leucócitos nos animais do grupo teste (AI-G®), con-

forme Tabela 3. Também foi avaliada a taxa de óbito nos animais. Foi possível observar que após três

	Eritrócitos	Hematócrito	Proteína plasmática	Leucócitos	Linfócitos	Neutrófilos bastonetes	Eosinófilos
DIA 0							
Teste	4,8	5,0	5,5	7,0	6,3	8,2	7,5
Controle	8,2	7,9	7,5	6,0	67	4,8	5,5
P	0,1119	0,1835	0,3567	0,6528	0,8816	0,1111	0,3058
DIA 15							
Teste	4,5	3,9	3,5	3,7	3,8	4,5	4,4
Controle	6,0	7,2	8,0	7,7	7,3	6,0	6,2
P	0,4758	0,0887	0,0058*	0,0245*	0,0639	0,4680	0,3999

* $P < 0,05$, indica diferença estatística pelo teste de Kruskal-Wallis.

Tabela 3 – Valores das médias de parâmetros avaliados no hemograma referente aos dias 0 e 15 em animais do grupo teste (AI-G®) e animais do grupo controle.

dias, dois animais do grupo controle vieram a óbito, enquanto os animais do grupo teste não apresentaram óbito (Figura 5).

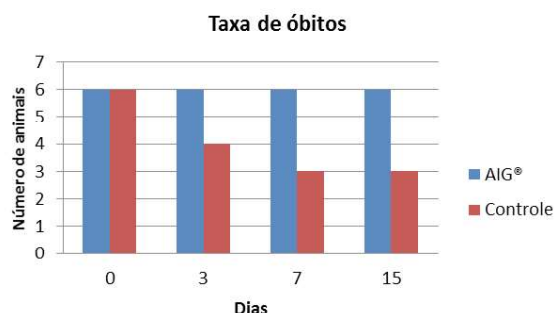


Figura 5 – Taxa de óbitos nos animais do grupo teste (AI-G®) e grupo controle, ao 0, 3, 7 e 15 dias.

Discussão

O aumento de bactérias resistentes aos antibióticos e o desejo de tratar patógenos que não fazem respostas aos antibióticos, tais como patógenos virais, promoveu a investigação sobre a utilização de anticorpos como uma alternativa aos tratamentos convencionais (13).

A infecção de cães com parvovírus resulta em doença entérica altamente contagiosa e com alta taxa de morbidade e mortalidade (15). Embora o tratamento adequado seja frequentemente bem-sucedido, a taxa de sucesso tem permanecido praticamente inalterada ao longo dos anos, refletindo uma clara necessidade de terapia mais eficaz que diminua a morbidade e o tempo de hospitalização, que aumente a taxa de sobrevivência e que reduza o custo do tratamento, tornando-o economicamente mais viável tanto para os proprietários como para as

instituições protetoras (16). No presente estudo, nós investigamos a eficiência da suplementação com IgY (AI-G®) ao tratamento convencional clínico contra a parvovirose, com o objetivo de avaliar a recuperação dos animais por meio dos sinais clínicos e hemograma. Foi possível observar (Tabela 2) que após três dias de fornecimento da suplementação com IgY os animais do grupo teste já obtiveram melhora clínica no escore de fezes, tornando-as mais formadas e com ausência de diarreia. Resultados que corroboram com Nguyen e colaboradores (2), em seus estudos, os pesquisadores forneceram o tratamento com IgY em cães com Parvovirose. Em comparação com o grupo controle, o grupo teste não obteve sinais clínicos de vômito e diarreia.

As figuras 3 e 4 mostram a avaliação de sinais clínicos como depressão, letargia e fezes diarreicas no grupo controle e teste aos dias 0, 3, 7 e 15. De acordo com Goddard & Leisewitz (6), enterite aguda é a manifestação mais comum da doença e é principalmente observada em filhotes com média de 6 meses de idade. Os sinais clínicos iniciais são inespecíficos e incluem anorexia, depressão, letargia e febre, mais tarde, sinais típicos incluem vômitos e diarreia. Em nosso estudo, animais do grupo teste apresentaram melhoras clínicas significativas (Figura 4) após três dias do recebimento da IgY (AI-G®), o que não foi possível observar nos animais do grupo controle (Figura 3), os quais necessitaram de maior tempo de recuperação, alcançando a melhora clínica em torno de 15 dias. Dados que concordam com os resultados encontrados por Nguyen e colaboradores (2), onde animais que receberam IgY como tratamento não demonstraram sinais clínicos de vômito e diarreia em comparação ao grupo controle.

Os animais que receberam a IgY (AI-G®) tiveram taxa de sobrevivência de 100%, o que não foi possível observar nos animais do grupo controle, os quais apresentaram taxa de sobrevivência de 50% (Figura 5). Em seu estudo, Ferreira (16) enfatiza a importância de um tratamento eficaz e seguro, pois a alta taxa de morbidade e mortalidade da doença ainda é um problema atual. Ainda que os sinais clínicos da parvovirose possam ser autolimitantes, o desenvolvimento de doença fulminante e morte ocorrem em muitos cachorros infectados.

Com relação aos parâmetros avaliados de hemograma, as células da série vermelha, tais como contagem de eritrócitos e valores de hematócrito (Tabela 3), hemoglobina, índices hematimétricos (VGM e CHGM) e plaquetas (dados não demonstrados) se encontraram

dentro dos padrões de normalidade estabelecidos para a espécie (17). Já com relação às proteínas plasmáticas, nos animais do grupo controle, podemos observar valores aumentados ($P < 0,05$). Os valores de proteínas aumentadas sugerem situações de desidratação, processos inflamatórios e infecciosos (16).

Foi possível observar que os animais do grupo controle apresentaram o número de leucócitos, células de série branca responsáveis por defender o organismo contra infecções, maior (leucocitose) ($P < 0,05$) que os animais do grupo teste. Isso pode sugerir que os animais ainda se encontravam em situação de estresse de doença, o qual o número destas células brancas de defesa se encontra maior (18). Carman & Povey (19) também encontraram valores de leucocitose em cães após a inoculação do parvovírus em cinco dias, e pode-se observar também leucocitose em condições de convalescença. Em 60% dos casos de parvovirose canina aguda, foi observada leucopenia, com desvio à esquerda no exame hematológico inicial e em 100% dos casos, entre o segundo e terceiro dia de evolução da doença, com normalização ou tendência à leucocitose entre o quinto e oitavo dia, indicando-se assim, o caráter agudo do processo inflamatório decorrente da infecção (3).

Conclusão

O uso de terapia específica, como as imunoglobulinas Y (AI-G®), anticorpos produzidos por galinhas poedeiras (*Gallus domesticus*), como suporte no tratamento de doenças virais, como a Parvovirose é uma alternativa promissora para o sucesso e aumento de sobrevivência de pacientes.

Agradecimentos

Agradecemos a toda equipe da Nutripharme – Saúde Animal pelo suporte à pesquisa e a equipe do Hospital Veterinário Ecoville pelo auxílio e comprometimento com o trabalho.

Referências

1. Angelo, M.J.O Hagiwara, M.K., July, J.R., Carvalho, R.P.S., Baccaro, M.R. Isolamento de parvovírus canino no Brasil. Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Universidade de São Paulo. v.25, n.1, p.123-134, 1988.
2. Nguyen, S.V., Umeda K., Yokoyama, H., Tohya, Y., Kodama, Y. Passive protection of dogs against clinical disease due to Canine parvovirus-2 by specific antibody from chicken egg yolk. The Canadian Journal of Veterinary Research. v.70, p.62-64, 2006.

Aplicação direta de ovo hiperimunizado (AI-G®) como suporte no tratamento de animais acometidos por Parvovírus

3. Mendes, R.S.; De Souza, A.P., Da 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*. v.5, n.3, p.278-283, 2011.
4. Lamm, C.G., Rezabek, G.B. Parvovirus infection in domestic companion animals. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. v.38, n.4, p.837-850, 2008.
5. Strottmann, D.M., Scortegagna, G., Kreutz, L.C., Barcellos, L.J.G., Frandoso, R., Anzillero, D. Diagnóstico e estudo sorológico da infecção pelo parvovírus canino em cães de Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria. v.38, n.2, p.400-405, 2008.
6. Goddard, A., Leisewitz, A.L. Canine Parvovirus. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. v.40, p.1041-1053, 2010.
7. Abdulack-Lopes, F. Resposta imune ao parvovírus canino tipo2 (CPV 2) em hidrogel de quitosana administrado via sublingual. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, 2012.
8. Chinchkar, S.R., Subramanian, B.M., Naidu, H., Thiagarajan, D., Srinivasan, V.A. Canine parvovirus isolates of India and the relevance of canine parvovirus type-2 vaccines. *Journal of Advanced Veterinary Research*. v.4, n.1, p.34-41, 2014.
9. Kalli, I., Leontides, L.S., Mylonakis, M.E., Adamama-Moraitou, K., Rallis, T., Koutinas, A.F. Factors affecting the occurrence, duration of hospitalization and final outcome in canine parvovirus infection. *Research in Veterinary Science*. v.89, p.174-178, 2010.
10. Alzari, P.M., Lascombe, M.B., Poljak, R.J. Three-Dimensional structure of antibodies. *Annual Review of Immunology*. v.6, p. 555-580. 1988.
11. Sugita-Konishi, Y., Shibata, K., Yun, S.S., Hara-Kudo, Y., Yamaguchi, K., Kumagai, S. Immune functions of immunoglobulin Y isolated from egg yolk of hens immunized with various infectious bacteria. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. v.60, n. 5, p. 886-888, 1996.
12. Ew Nutrition. Presentation Globigen® Oral Care. Visbek, Germany. 2011.
13. Karlsson, M., Kollberg, H., Larsson, A. Chicken IgY: utilizing the evolutionary advantage. *World's Poultry Science Association*. v.60, p.341-348, 2004.
14. Ew Nutrition. Presentation Globigen® Intestinal Care. Visbek, Germany. 2013.
15. Wilson, S., Illambas, J., Siedek, E., Stirling, C., Thomas, A., Plevová, E., Sture, G., Salt, J. Vaccination of dogs with canine parvovirus type 2b (CPV-2b) induces neutralizing antibody responses to CPV-2a and CPV-2c. *Vaccine*. v.32, p. 5420-5424, 2014.
16. Ferreira, M.O. Diferentes abordagens terapêuticas em cães com parvovirose – caracterização do uso de antibióticos. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa. 2011.
17. Garcia-Navarro, C.E.K. Manual de Hematologia Veterinária. 2.ed. São Paulo: Varela, 2005.
18. Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pillai, S. *Imunologia Básica – Funções e distúrbios do sistema imunológico*. 1.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.
19. Carman, P.S.; Povey, R.C. Pathogenesis of canine parvovirus-2 in dogs: haematology, serology and virus recovery. *Research in Veterinary Science*. v.38, p.134-140, 1985.

Recebido para publicação em: 02/06/2015.

Enviado para análise em: 06/06/2015.

Aceito para publicação em: 13/06/2015