

ISOLAMENTO DE PARVOVIRUS CANINO NO BRASIL*

MARIA JOSE DE OLIVEIRA ANGELO
Professor Assistente Doutor
Instituto de Ciências
Biomédicas da USP

MITIKA KURIBAYASHI HAGIWARA
Professor Adjunto
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da USP

JOSE REIS JULY
Pesquisador VI
Instituto Biológico da Secretaria de
Agricultura do Estado de São Paulo

RENATO PIZA DE SOUZA CARVALHO
Professor Titular
Instituto de Ciências
Biomédicas da USP
"In memoriam"

MARIA REGINA BACCARD
Professor Assistente Doutor
Faculdade de Medicina Veterinária e
Zootecnia da USP

ANGELO, M.J.O.; HAGIWARA, M.K.; JULY, J.R.;
CARVALHO, R.P.S.; BACCARD, M.R. Isola-
mento de parvovirus canino no Brasil.
Rev.Fac.Med.Vet.Zootec.Univ. S. Paulo,
25(1):123-134, 1988.

RESUMO: Foram examinadas 56 amostras de fezes, 10 de raspado de mucosa intestinal e 2 amostras de material vomitado de cães doentes, além de 7 amostras de fezes de cães normais, com o objetivo de isolar-se o parvovirus canino durante a epizootia de gastroenterite hemorrágica ocorrida em São Paulo. Das 56 amostras de fezes de cães doentes foram isolados vírus de 24 (42,8%) e das 7 amostras de fezes de cães clinicamente normais foi isolado vírus de apenas 1 (14,3%). Tanto do material vomitado quanto do raspado de mucosa intestinal

obteve-se o isolamento de parvovirus de uma amostra apenas, correspondendo a 50% e 10%, respectivamente. A reação de hemaglutinação, realizada com os vários tipos de materiais clínicos, demonstrou concordância de 96,3% com o isolamento de vírus nas 27 amostras positivas, evidenciando a grande utilidade prática desta reação como método de triagem para determinar, nos casos de diarreia em cães, a presença de partículas virais com esta característica hemaglutinante. Em 15 amostras de suspensão fecal e em uma das culturas positivas foi observada, à microscopia eletrônica, a presença de partículas virais com as características morfológicas dos parvovirus. A semelhança antigênica entre o vírus isolado e o parvovirus felino foi demonstrada pela reação de inibição de hemaglutinação e pela imunofluorescência em 6 das amostras isoladas.

UNITERMOS: Cães, doenças; Enterite hemorrágica; Parvovirus

INTRODUÇÃO

A primeira referência sobre a infecção dos cães por um possível parvovirus foi feita em 1970, quando BINN et alii., 4, isolaram, das fezes de cães assintomáticos, 4 amostras de um vírus de pequenas dimensões, antigenicamente relacionado aos membros do gênero Parvovirus, o qual foi denominado de vírus "minúsculo de cães (VMC)". Somente em 1977, este vírus foi associado à diarreia em cães (EUGSTER & NAIRN, 9).

A partir de 1978, verdadeiras epizootias de parvovirose canina passaram a ser descritas em várias partes do mundo (APPEL et alii., 2, 1978; JOHNSON & SMITH, 12, 1979; ELSE, 8, 1979; THOMSON & GAGNON, 18, 1978; BURTONBOY et alii., 6, 1979; ARENS & KRAUS, 3, 1980). Os sinais clínicos e as lesões microscópicas observadas em cortes de intestino eram semelhantes aos da panleucopenia felina, síndrome também causada por um parvovirus. Partículas virais morfológicamente semelhantes a esses vírus foram observadas através da microscopia eletrônica nas fezes de cães, obtendo-se, também, o isolamento do parvovirus canino em culturas celulares.

Várias técnicas de cultivo celular foram testadas com a finalidade de se

*Trabalho realizado com auxílio do CNPq (Proc. 400159-81)

obter "in vitro" a replicação do vírus. Linhagens de rim de gato (Crandell) e de rim canino, linhagens estabelecidas de pulmão de marta (LLC - 64), rim de cão (Madin-Darby) e VERO, além de culturas primárias de rim canino e de rim de gatos jovens foram utilizadas com variável grau de sucesso por vários autores (APPEL et alii, 2, 1979; NELSON et alii, 16, 1979; BLACK et alii, 5, 1979; JOHNSON & SPRADBROW, 14, 1979 e GAGNON & POVEY, 10, 1979).

As amostras isoladas foram biologicamente diferenciadas do vírus da panleucopenia dos felinos e do vírus minúsculo de cães (VMC) através da sua capacidade de aglutinar hemácias de suínos e de macacos Rhesusa 4°C e a 25°C (BURTONBOY et alii, 6, 1979; GAGNON & POVEY, 10, 1979).

No Brasil, embora casos de enterite hemorrágica tenham sido observados esporadicamente em 1979, somente em 1980 houve a disseminação da doença entre a população canina. Os estudos clínicos e anatomopatológicos bem como a observação, nas fezes, de pequenas partículas virais semelhantes aos parvovirus permitiram concluir que se tratava de uma epizootia de enterite infecciosa, provavelmente causada pelo parvovirus canino (HAGIWARA et alii, 11, 1980). Foram realizadas diversas tentativas de diagnóstico etiológico, utilizando-se as provas de hemaglutinação, isolamento do vírus em culturas celulares e microscopia eletrônica da suspensão fecal e de células infectadas, cujos resultados preliminares foram apresentados ainda em 1980, por ANGELO et alii, 1. Posteriormente, foram também padronizadas as técnicas de imunoeletromicroscopia eletrônica e de imunoeletrosmoforesse (DURIGON et alii, 7, 1987).

Descrevem-se, no presente trabalho, a metodologia empregada no isolamento do parvovirus canino em diferentes sistemas celulares, bem como os resultados obtidos na reação de hemaglutinação e na microscopia eletrônica das suspensões fecais.

MATERIAL E METODOS

Material clínico

Foram utilizadas 56 amostras de fezes, 10 amostras de raspado de mucosa

intestinal e 2 amostras de material vomitado de cães doentes, além de 7 amostras de fezes de cães clinicamente normais. As suspensões das amostras foram preparadas a 10% em solução salina tamponada pH 7.2, segundo a técnica descrita por APPEL et alii, 2, 1979.

Reação de hemaglutinação e de inibição da hemaglutinação

Todas as suspensões do material clínico e também os fluidos colhidos das culturas infectadas foram testados pela reação de hemaglutinação em microplaca com hemácias de suínos, de acordo com a técnica preconizada por APPEL et alii, 2, (1979). Considerou-se, como reação positiva, aquela em que se observou a aglutinação das hemácias na diluição igual ou maior que 1/4. A maior diluição capaz de aglutinar as hemácias foi considerada como uma unidade hemaglutinante. Nos casos em que se obtiveram títulos de 4096, a reação foi repetida, procedendo-se a maiores diluições.

A reação de inibição da hemaglutinação (HI) foi executada em microplacas para a identificação das amostras isoladas, fazendo-se reagir 0,025ml de suspensão viral (fluido colhido das culturas infectadas) contendo 4 unidades hemaglutinantes, com o mesmo volume de várias diluições do soro antiparvovirus felino (Feliserim Behringwerke), de acordo com a técnica descrita por JOHNSON & SPRADBROW, 14 (1979) e APPEL et alii, 2 (1979). Os títulos foram considerados como a recíproca da maior diluição capaz de inibir a hemaglutinação (APPEL et alii, 2, 1979; BURTONBOY et alii, 6, 1979; JOHNSON & SPRADBROW, 14, 1979).

Microscopia eletrônica

Após coloração negativa com fosfotungstato de potássio a 2%, 24 amostras de suspensão de fezes, vômito e conteúdo intestinal de animais doentes e 1 amostra de suspensão de fezes de um cão clinicamente normal foram observadas em microscópio eletrônico (Philips EM 300).

Isolamento do vírus em culturas celulares

Das 75 amostras de material dispo-

nível, 54 foram inoculadas em células VERO; 46 foram inoculadas em linhagem celular estabelecida MA-104; 28 em culturas primárias de rim de gato (RGA) e 8 amostras foram inoculadas em culturas primárias de rim de cão.

As culturas primárias de células de rim canino e de rim de gato foram realizadas segundo a técnica de múltipla extração (SCHMIDT, 17, 1979). Para a inoculação das suspensões de material clínico os tubos eram utilizados após 18 a 24 horas de cultivo, com apenas 25% da camada celular formada.

Cerca de 0,1ml da suspensão de cada material foi inoculado em cada um dos dois tubos contendo células, após a remoção do meio de crescimento. Os tubos inoculados eram incubados a 37°C durante uma hora para adsorção do vírus às células, colocando-se, a seguir, 1ml do meio de manutenção. Neste meio foi usado inicialmente, soro fetal bovino comum e, posteriormente soro fetal bovino tratado com caolim. Estes tubos foram mantidos em estufa a 37°C e observados diariamente ao microscópio por um período de até 21 dias, sendo desprezados se, após este período, não apresentassem evidências de alteração morfológica das células. Nos tubos em que se constatava qualquer alteração sugestiva, o fluido da cultura era coletado para se proceder à reação de hemaglutinação com hemácias de suíno. Paralelamente, 0,2ml deste fluido era inoculado em cada um dos dois tubos de Leighton, contendo células sobre laminulas, para a pesquisa do corpúsculo de inclusão característico. A técnica usada para a inoculação nos tubos de Leighton foi a mesma utilizada para o isolamento do vírus. As laminulas foram retiradas dos tubos em intervalos de 10, 12, 24 e 48 horas de cultivo, fixadas em Bouin durante 30 minutos e coradas pelos métodos de hematoxilina-eosina (JOHNSON, 13, 1964) ou de May Grunwald-Giemsa (APPEL et alii, 2, 1979). Os materiais que apresentavam resultado positivo por uma ou outra técnica eram reinoculados em volume de 0,2ml por tubo para ativação do vírus. Os materiais negativos eram reinoculados duas ou mais vezes antes de se confirmar este resultado, rotineiramente, no mesmo tipo de células e, ocasionalmente, em outro tipo.

Reação de Imunofluorescência

A reação de imunofluorescência foi realizada para a identificação antigênica das amostras isoladas em cé-

lulas cultivadas em laminulas, infectadas com o vírus e colhidas após 48 horas de inoculação. Foi utilizada a técnica de imunofluorescência direta com soro antiparvovirus felino (Feliserim Behringwerke), conjugado com isotiocianato de fluoresceína (NELSON et alii, 16, 1979; BLACK et alii, 5, 1979).

Critérios usados para comprovar o isolamento do parvovirus

Como os parvovirus não apresentam efeito citopático característico e fácil de ser observado em culturas celulares, dois critérios foram utilizados para se demonstrar a replicação do vírus nos diversos sistemas celulares empregados. Primeiro critério adotado: uma cultura celular seria considerada infectada pelo vírus quando o título hemaglutinante do líquido sobrenadante fosse igual ao título original da suspensão do material clínico semeado (GAGNON & POVEY, 10, 1979), ou quando houvesse aumento do título hemaglutinante nas passagens subsequentes (JOHNSON & SPRADBROW, 14, 1979). O segundo critério baseou-se na demonstração de corpúsculos de inclusão nas culturas semeadas, os quais foram evidenciados através do método de coloração de hematoxilina-eosina (GAGNON & POVEY, 10, 1979; WALKER et alii, 18, 1979) e de May Grunwald - Giemsa (APPEL et alii, 2, 1979). Além disto, a semelhança antigênica entre as amostras isoladas e o parvovirus felino pode ser demonstrada pela reação de imunofluorescência e pela reação de inibição da hemaglutinação, utilizando-se soro antiparvovirus felino.

RESULTADOS E DISCUSSAO

Dos 75 materiais inoculados em culturas celulares, provenientes de cães doentes ou clinicamente normais, 27 foram positivos (36,0%) e 48 amostras foram negativas (64,0%) nos diferentes sistemas celulares utilizados. Das 56 amostras de fezes de cães doentes foram isolados vírus de 24 (42,8%) e das 7 amostras de fezes de cães clinicamente normais foi isolado vírus de apenas 1 (14,3%). Tanto do material vomitado, quanto do raspado de mucosa intestinal, obteve-se o isolamento do parvovirus de uma amostra apenas, correspondendo a 50% e 10%, respectivamente.

Na Tab. 1 estão relacionadas as 27

amostras positivas, os respectivos sistemas celulares utilizados, os títulos hemaglutinantes obtidos nas suspensões originais de material clínico e nos fluidos colhidos após passagens sucessivas em culturas celulares, bem como os resultados de microscopia eletrônica.

Os resultados das amostras em que não se obteve o isolamento do vírus (48/75) acham-se na Tab. 2, ao lado dos resultados de hemaglutinação e de microscopia eletrônica das suspensões de material clínico.

Pela revisão de literatura, parece que as culturas primárias ou várias linhagens de rim de gato são superiores às células de rim de cão quanto ao isolamento de parvovirus canino, o que levou vários autores a pensar na possibilidade deste vírus ter-se originado do parvovirus felino. Enquanto APPEL et alii, 2 (1979), GAGNON & POVEY, 10 (1979) e JOHNSON & SPRADBROW, 14 (1979) conseguiram isolar parvovirus em culturas primárias de rim canino, BURTONBOY et alii, 6 (1979) e BLACK et alii, 5 (1979) obtiveram resultados totalmente negativos neste sistema celular.

A nossa experiência ao utilizar este tipo de cultura também não foi boa. Mesmo partindo de amostras de material com elevado título hemaglutinante inicial, havia gradativa queda após 2 a 3 passagens, com negatificação posterior. Ao contrário, em nosso Laboratório, o sistema celular mais eficiente para o isolamento do parvovirus canino, a exemplo do que foi referido pelos demais autores, foi a cultura primária de rim de gatos jovens. Neste tipo de cultura obteve-se a maior percentagem de isolamento e, em todos os casos com isolamento positivo, em outro tipo de células, também houve o isolamento nestas culturas. Além disto, foi neste tipo de células que se observou aumento mais evidente do título hemaglutinante nas passagens sucessivas.

Levando-se em consideração somente a suspensão de fezes, em virtude de ser o material que foi semeado em todos os tipos de culturas de células, tem-se a seguinte proporção de isolamento de parvovirus: culturas primárias de rim de gato 63,6% (14 materiais positivos em 22 semeados); células MA-104: 24,3% (10 positivos em 41 semeados); células VERO 14,9% (7 positivos em 47 semeados) e culturas primárias de rim de cão 12,5% (1 positivo em 9 semeados).

Entretanto, uma vez isolado, o parvovirus canino parece adaptar-se relativamente bem a uma variedade de tipos

de culturas celulares, como demonstraram APPEL et alii, 2 (1979) e JOHNSON & SPRADBROW, 14 (1979) e como também pode ser observado no presente trabalho. Obteve-se a propagação de parvovirus canino em células VERO, células MA-104, células "L" e fibroblasto humano. Os dois últimos sistemas não foram utilizados sistematicamente, mas sim com a finalidade de verificar a suscetibilidade destas células à propagação do parvovirus, o que foi realmente comprovado.

Foi nas culturas celulares de fibroblasto humano que se evidenciou, de maneira nítida, o efeito citopático do parvovirus canino. Durante o período de observação de 21 dias foi possível verificar, mesmo sem coloração, algumas alterações que ocorreram na camada celular, caracterizadas por arredondamento celular, agrupamento de poucas células, destacamento das mesmas da camada monocelular, que se repetiam de tempos em tempos. Este efeito citopático é idêntico ao descrito por NELSON et alii, 16 (1979). Em células de uma das culturas positivas, com corpúsculos de inclusão típicos, inoculados com a suspensão de fezes R80-1 foram evidenciadas, pela microscopia eletrônica, partículas virais com todas as características dos parvovirus (Fig.1).

Neste trabalho foram obtidos melhores resultados no isolamento do parvovirus, quando se passou a utilizar culturas recém-repiciadas, uma vez que os parvovirus multiplicam-se na fase S do ciclo de crescimento celular, no momento em que há síntese de DNA. Da mesma forma, o uso do soro fetal bovino, tratado com caolim para eliminar inibidores inespecíficos que, quando presentes, inibem a multiplicação viral, é aconselhado para aumentar a possibilidade de isolamento do parvovirus. A adoção destas modificações permitiu a observação dos corpúsculos de inclusão intranucleares, característicos, em seus diferentes estágios, nos 27 casos positivos de parvovirose canina, (Fig. 2) em contraposição às amostras negativas (Fig.3).

Embora não houvesse, na literatura, nenhuma referência ao isolamento de vírus a partir de material vomitado, essa tentativa foi realizada e com êxito, baseando-se no pressuposto de que, por tratar-se de infecção viral de localização ao nível do jejuno (ELSE, 8, 1979; BURTONBOY et alii, 6, 1979; HAGIWARA et alii, 11, 1980) poderia ocorrer o refluxo do material infectan-

te, à semelhança do que ocorre na panleucopenia dos felinos (BLACK et alii, 5, 1979).

A reação de hemaglutinação, realizada com os vários tipos de materiais clínicos, apresentou títulos compreendidos entre 4 e 4096. Houve concordância de 96,3% entre a reação de hemaglutinação e o isolamento do vírus nas 27 amostras das quais foram isolados vírus e uma porcentagem de positividade de 31,2% nos 48 materiais em que não se obteve o isolamento de vírus, demonstrando a grande utilidade prática desta reação, como método de triagem para determinar, nos casos de diarreia em cães, a presença de partículas virais com esta característica hemaglutinante.

A identidade antigênica entre o parvovirus felino e o parvovirus canino havia sido demonstrada por JOHNSON & SPRADBRÖW, 14 (1979); GAGNON & POVEY, 10 (1979) e LENGHAUS & STUDDERT, 15 (1980) que compararam as amostras dos dois tipos de parvovirus, concluindo que todas as amostras eram neutralizadas pelo soro hiperimune produzido contra o parvovirus felino. Foi possível, no presente trabalho, comprovar a semelhança antigênica das amostras isoladas, com o parvovirus felino, pois a reação de hemaglutinação foi também inibida pelo soro hiperimune antivírus da panleucopenia felina (Feliserim Behringwerke). Esta semelhança antigênica foi, ainda, demonstrada através da reação de imuno-

fluorescência, em 6 das amostras isoladas.

ANGELO, M.J.O.; HAGIWARA, M.K.; JULY, J.R.; CARVALHO, R.P.S.; BACCARO, M.R.
Isolation of canine parvovirus in Brazil. Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 25(1):123-134, 1988.

SUMMARY: The canine parvovirus was isolated from 24 samples of faeces, one mucosal scraping, one vomiting material obtained from dogs that had presented signs of hemorrhagic enteritis, and from one sample of faeces from a normal dog. All the materials were previously tested by hemagglutination reaction with swine red cells. There is an agreement of 96,3% between this reaction and isolation of parvovirus in cell cultures, demonstrating the great practical utility of the hemagglutination reaction as a trial method for the demonstration of the presence of parvovirus in the stool of infected dogs. Electron microscopy of infected cells demonstrated the presence of viral particles with parvovirus morphology and, the hemagglutination-inhibition and immunofluorescence reactions, using feline parvovirus immune serum, revealed the antigenic relationship between the isolate and feline parvovirus.

UNITERMS: Disease of dogs; Hemorrhagic enteritis; Parvovirus

TABELA 1 - Relação dos casos positivos para parvovirus nos vários tipos de culturas de células, título hemaglutinante e positividade em microscopia eletrônica.

CAO	MATERIAL CLINICO	CONDIÇÃO CLINICA	VERO	CULTURA CELULAR * MA-104	RGA	RC	T.H.	M.E.
01	Fezes	Doente	2048	NR	1024	neg.	16	pos.
02	Fezes	Doente	neg.	128	NR	neg.	8	NR
03	Fezes	Doente	neg.	4096	4096	neg.	128	neg.
04	Fezes	Doente	neg.	1024	NR	neg.	128	neg.
05	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	256	16	NR
06	Fezes	Doente	neg.	4096	NR	NR	64	neg.
07	RM	Doente	1024	NR	4096	NR	8	pos.
08	Fezes	Doente	1024	neg.	4096	neg.	16	NR
09	Fezes	Doente	neg.	neg.	4096	NR	4096	pos.
10	Fezes	Doente	neg.	NR	1024	NR	512	NR
11	Fezes	Doente	1024	neg.	4096	NR	512	pos.
12	Fezes	Normal	neg.	512	256	NR	neg.	pos.
13	Fezes	Doente	NR	128	NR	NR	16	NR
14	Fezes	Doente	NR	32	NR	NR	4	NR
15	Fezes	Doente	NR	64	NR	NR	8	NR
16	Fezes	Doente	256	64	NR	NR	8	NR
17	Fezes	Doente	neg.	128	NR	NR	128	NR
18	Fezes	Doente	64	NR	NR	NR	16	NR
19	Fezes	Doente	64	NR	NR	NR	16	NR
20	Fezes	Doente	512	NR	4096	NR	128	pos.
21	Vomito	Doente	NR	NR	32	NR	16	NR
22	Fezes	Doente	NR	NR	128	NR	128	pos.
23	Fezes	Doente	NR	NR	128	NR	128	pos.
24	Fezes	Doente	NR	NR	32	NR	4	pos.
25	Fezes	Doente	NR	NR	512	NR	64	pos.
26	Fezes	Doente	NR	NR	16	NR	8	pos.
27	Fezes	Doente	NR	NR	512	NR	512	pos.
POSITIVOS/TESTADOS			8/17	10/14	16/16	1/6	26/27	12/15

* Título hemaglutinante após sucessivas passagens em culturas celulares

T.H.- Título hemaglutinante do material clínico

M.E.- Microscopia eletrônica do material clínico

RGA - Rim de gato; RC- Rim de cão; NR - Não realizado;
 R.M. - Raspado de mucosa

TABELA 2 - Relação dos casos negativos para parvovirus nos vários tipos de culturas de células, títulos hemaglutinantes e positividade em microscopia eletrônica.

CAO	MATERIAL CLINICO	CONDIÇÃO CLINICA	CULTURA CELULAR					
			VERO	MA-104	RGA	RC	T.H.	M.E.
01	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	4	NR
02	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	4	NR
03	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	neg.	neg.	NR
04	Fezes	Doente	NR	neg.	NR	NR	neg.	NR
05	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
06	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	8	NR
07	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	neg.	neg.	NR
08	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
09	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	32	NR
10	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
11	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	4	NR
12	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
13	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
14	Fezes	Doente	neg.	NR	neg.	NR	64	NR
15	Fezes	Doente	neg.	NR	neg.	NR	32	NR
16	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
17	Fezes	Normal	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
18	Fezes	Normal	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
19	Fezes	Normal	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
20	Fezes	Normal	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
21	Fezes	Normal	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
22	Fezes	Normal	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
23	R.M.	Doente	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
24	R.M.	Doente	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
25	R.M.	Doente	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
26	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
27	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
28	R.M.	Doente	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
29	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	8	NR
30	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	neg.	NR
31	Fezes	Doente	neg.	NR	NR	NR	4	NR
32	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	32	NR
33	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	8	NR
34	Fezes	Doente	neg.	NR	NR	NR	neg.	NR
35	Fezes	Doente	neg.	NR	NR	NR	neg.	NR
36	R.M.	Doente	neg.	NR	NR	NR	neg.	NR
37	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	256	NR
38	Fezes	Doente	neg.	neg.	NR	NR	neg.	neg.
39	Fezes	Doente	NR	NR	neg.	NR	neg.	neg.
40	Vômito	Doente	NR	NR	neg.	NR	neg.	neg.
41	Fezes	Doente	NR	NR	neg.	NR	neg.	NR
42	Fezes	Doente	NR	NR	neg.	NR	neg.	neg.
43	R.M.	Doente	NR	NR	neg.	NR	4	pos.
44	R.M.	Doente	NR	NR	neg.	NR	neg.	neg.
45	R.M.	Doente	NR	NR	neg.	NR	neg.	pos.
46	Fezes	Doente	NR	NR	neg.	NR	4	pos.
47	Fezes	Doente	NR	NR	neg.	NR	neg.	neg.
48	Fezes	Doente	NR	NR	neg.	NR	8	NR
POSITIVO/TESTADO			0/37	0/32	0/12	0/2	15/48	3/9

T.H.- Título hemaglutinante do material clínico

M.E.- Microscopia eletrônica do material clínico

RGA - Rim de gato; RC - Rim de cão; NR - Não realizado
R.M. - Raspado de mucosa

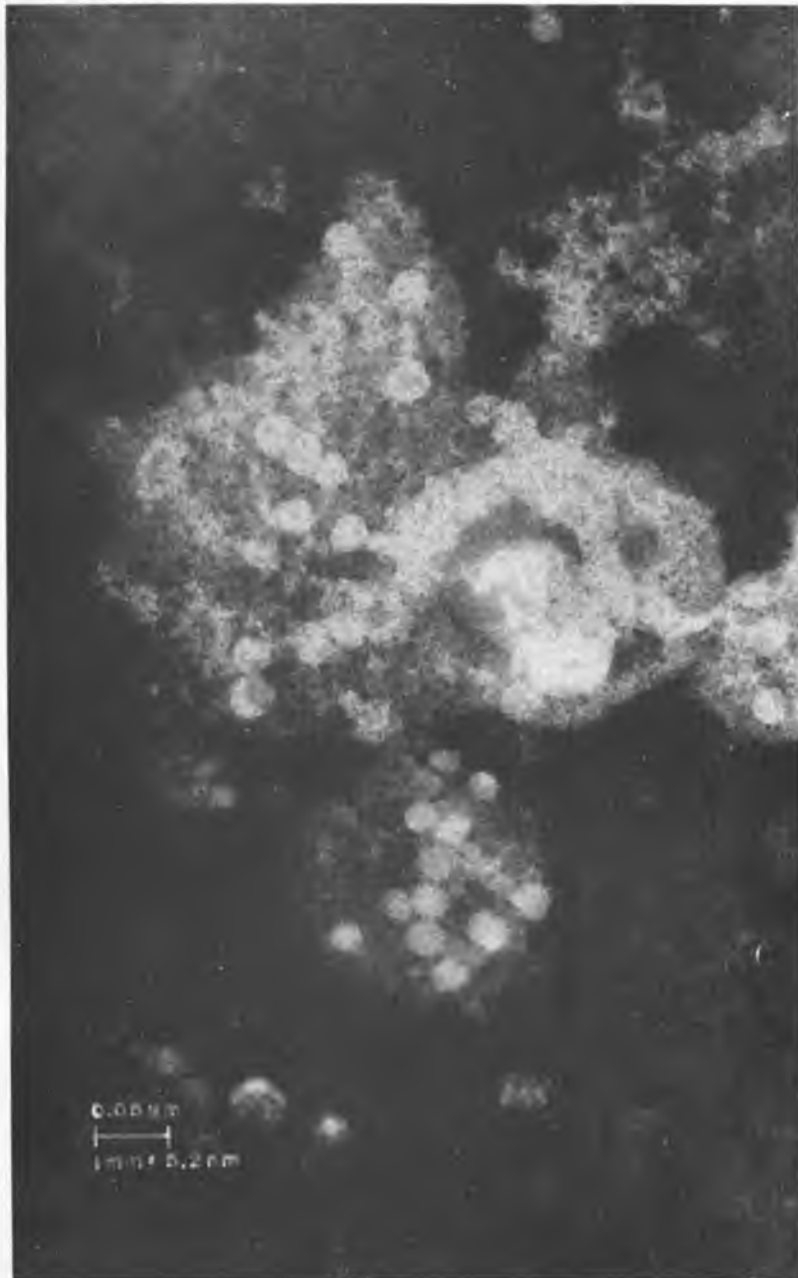


FIGURA 1 – Fotomicrografia eletrônica da amostra R80-1 após 3ª passagem em culturas celulares contendo grande número de partículas virais.
Aumento: 189.000 x
Microscópio Philips M-300

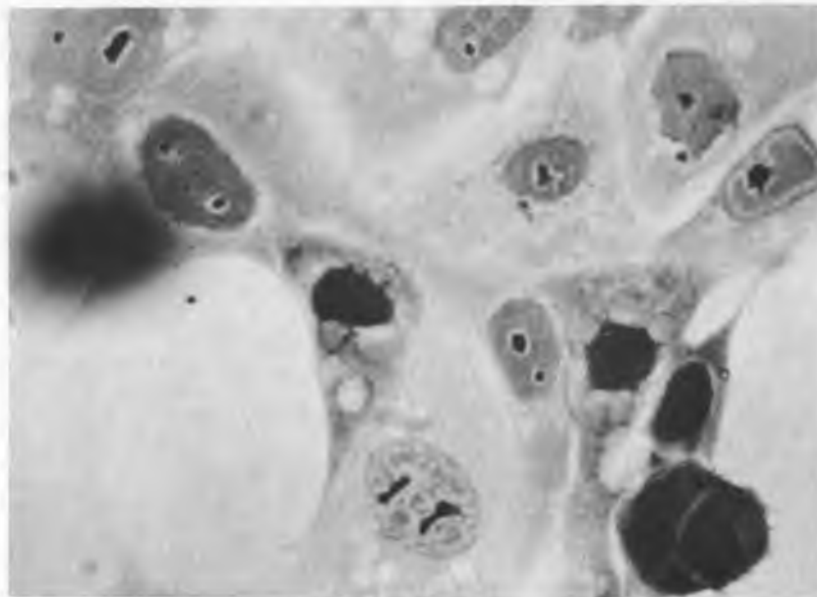


FIGURA 2 – Células infectadas, apresentando vários estágios do corpúsculo de inclusão característico dos parvovirus.
Aumento: 800 x
Fixação em Bouin; Coloração May Gruenwald Giemsa

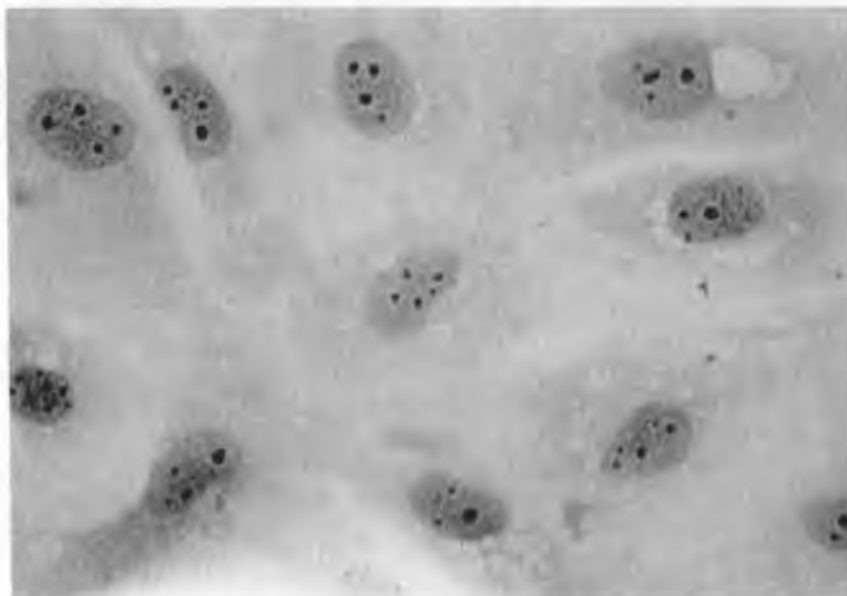


FIGURA 3 – Células não infectadas
Aumento: 800 x
Fixação em Bouin; Coloração May Gruenwald Giemsa

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 - ANGELO, M.J.O.; JULY, J.R.; HAGIWARA, M.K.; CARVALHO, R.P.S. Enterite hemorrágica dos cães: isolamento de um provável parvovirus em culturas celulares. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINARIA, 17., Fortaleza, 1980. Resumos dos trabalhos. p.41.
- 2 - APPEL, M.J.G.; SCOTT, F.W.; CARMICHAEL, L.E. Isolation and immunization studies of a canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. Vet. Rec., 105: 156-159, 1979.
- 3 - ARENS, M. & KRAUSS, H. Zum Nachweis von Parvovirus bei infektiösen Gastroenteritiden des Hundes mittels Immunelektronenmikroskopie. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 93: 156-158, 1980.
- 4 - BINN, L.N.; LAZAR, E.C.; EDDY, G.A.; KAJIMA, M. Recovery and characterization of a minute virus of canines. Infect. Immun., 1: 503-508, 1970.
- 5 - BLACK, J.W.; HOLSCHER, M.A.; POWELL, H.S.; BYERLY, C.S. Parvoviral enteritis and panleukopenia in dogs. Vet. Med. small Anim. Clin., 174:47-50, 1979.
- 6 - BURTONBOY, G.; COIGNOUL, F.; DELFERRIERE, N.; PASTORET, P.P. Canine haemorrhagic enteritis: detection of viral particles by electron microscopy. Arch. Virol., 61: 1-11, 1979.
- 7 - DURIGON, E.L.; ANGELO, M.J.O.; JEREZ, J.A.; TANAKA, H.; HAGIWARA, M.K. Comparação entre as reações de hemaglutinação (HA), isolamento do vírus em culturas celulares (CC), imunoeletrosmoforescência (IEOF) e imunocrescopia eletrônica (IME), para o diagnóstico etiológico da parvovirose canina. Rev. Microbiol., São Paulo, 18: 205-210, 1987.
- 8 - ELSE, R.W. Fatal haemorrhagic enteritis in a puppy associated with a parvovirus infection. Vet. Rec., 106:14-15, 1979.
- 9 - EUGSTER, A.K. & NAIRN, C. Diarrhea in puppies: parvovirus-like particles demonstrated in their feces. Sthw. Vet., 30:59-60, 1977.
- 10 - GAGNON, A.N. & POVEY, R.C. A possible parvovirus associated with an epidemic gastroenteritis of dogs in Canada. Vet. Rec., 104:263-264, 1979.
- 11 - HAGIWARA, M.K.; JULY, J.R.; BACCARO, M.R.; ANGELO, M.J.O. Enterite hemorrágica em cães associada à infecção por um parvovirus. Nota prévia. Arq. Inst. Biol., São Paulo, 47:47-49, 1980.
- 12 - JOHNSON, R. & SMITH, J.R. Parvovirus enteritis in dogs. Aust. vet. Practnr., 9:197-199, 1979.
- 13 - JOHNSON, R.H. Isolation of a virus from a condition simulating feline panleukopenia in a leopard. Vet. Rec., 76:1008-1012, 1964.
- 14 - JOHNSON, R.H. & SPRADBROW, P.B. Isolation from dogs with severe enteritis of a parvovirus related to feline panleukopenia virus. Aust. vet. J., 55:151, 1979.
- 15 - LENGHAUS, C. & STUDDERT, M.J. Relationships of canine

panleucopenia (enteritis) and myocarditis parvoviruses to feline panleucopenia virus. Aust. vet. J., 56:152-153, 1980

chlamydial infections. 5th. ed. Washington, American Public Health Association. 1979 p.65-139.

16 - NELSON, D.T.; EUSTIS, S.L.; MC ADARAGH, J.P.; STOTZ, I. Lesions of spontaneous canine viral enteritis. Vet. Pathol., 16:680-686, 1979.

18 - THOMSON, G.W. & GAGNON, A.N. Canine gastroenteritis associated with a parvovirus-like agent (correspondence). Canad. vet. J., 19:346, 1978.

17 - SCHMIDT, N.J. Cell culture techniques for diagnostic virology. In: LENNETTE, E.H. & SCHMIDT, N.J., eds. Diagnostic procedures for viral, rickettsial and

19 - WALKER, S.T.; FEILEN, C.P.; LOVE, D.N. Canine parvovirus infection. Aust. vet. Pract., 9:151-153, 1979.

Recebido para publicação em 30/09/87
Aprovado para publicação em 15/03/88