

## COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

## ENTERITE ASSOCIADA À INFECÇÃO POR CORONAVÍRUS EM POTROS PURO SANGUE INGLÊS EM UM HARAS NO RIO GRANDE DO SUL

M.G. Meirelles<sup>1</sup>, L.L. Araújo<sup>1</sup>, F. Friedrich Junior<sup>2</sup>, E.F. Flores<sup>3</sup>, C.E.W. Nogueira<sup>1</sup><sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas, Departamento de Clínicas, Campus Universitário, Prédio 1, CEP 96010-900, Pelotas, RS, Brasil. E-mail: lela\_meirelles@hotmail.com

## RESUMO

Enterites são consideradas importantes causas de morbidade e mortalidade em potros neonatos. Dentre os agentes implicados, o coronavírus tem sido descrito como agente causador de enterocolite em equinos, podendo atuar como patógeno primário em potros jovens e imunocomprometidos. Este estudo relata doença entérica associada a coronavírus em 69 potros da raça Puro Sangue Inglês, criados em um haras no Município de Aceguá, RS. Os animais com idade entre 45 e 90 dias apresentavam diarreia, prostração e desidratação. A suspeita clínica do agente partiu da epidemiologia, descarte de causas não infecciosas, apresentação dos sinais clínicos, e exame de fezes negativo para agentes parasitários e bacterianos. A identificação do coronavírus foi realizada por microscopia eletrônica de varredura por contraste de fase nas amostras de fezes de seis potros que apresentavam quadro clínico de enterite.

PALAVRAS-CHAVE: Coronavírus, diarreia, potros.

## ABSTRACT

CORONAVIRUS-ASSOCIATED ENTERITIS IN THOROUGHBRED FOALS ON A FARM IN RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL. Enteritises are considered important causes of morbidity and mortality in neonatal foals. Among the agents involved, coronavirus has been described as an etiologic agent of enterocolitis in horses and can act as a primary pathogen in young and immunocompromised foals. This study reports enteric disease associated with coronavirus in 69 thoroughbred foals, bred on a farm located in Aceguá, RS, Brazil. The animals with age between 45 to 90 days had diarrhea, prostration and dehydration. The clinical suspicion of the viral agent came from epidemiological data, the discarding of non-infectious causes, the presentation of clinical signs, and negative results in fecal samples upon parasitological and bacteriological tests. Coronavirus identification was performed by scanning electron microscopy by phase contrast in the stool samples from six foals with clinical enteritis.

KEY WORDS: Coronavirus, diarrhea, foals.

As enterites são causas comuns de alterações do trato gastrointestinal de potros, sendo importantes na clínica de neonatos (MELO *et al.*, 2007). Trata-se de inflamação aguda do intestino delgado, sendo a diarreia o principal sinal clínico (HODGSON, 2006). Essa manifestação clínica resulta em distúrbios metabólicos como rápida desidratação, desequilíbrio ácido-básico e hidreletrolítico, podendo levar os potros à morte em um curto espaço de tempo (KOTERBA, 1990). O curso clínico da doença pode durar de 1 a 12 dias, iniciando com anorexia, reconhecida pela redução na ingestão de leite, apatia e rápida progressão para diarreia profusa de aspecto aquoso (REED, 2000).

As enterites podem ser de origem infecciosa, associadas a agentes bacterianos, virais ou parasitários; e de origem não infecciosa, como diarreia do "cio do potro", distúrbios dietéticos, gastroenteropatia associada à asfixia, entre outras (LESTER, 2001; ZIMMEL, 2008).

Vários métodos diagnósticos são utilizados para diferenciar e estabelecer as causas de enterite em potros, porém a etiologia apresenta-se indeterminada em 70% dos casos resultando no agravamento da enfermidade (REED, 2005). O diagnóstico é baseado na história clínica do local de criação, avaliação física e laboratorial do potro e resposta à terapia com

<sup>2</sup>Haras Santa Maria de Araras, Aceguá, RS, Brasil.<sup>3</sup>Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Santa Maria, RS, Brasil.

antibióticos. Cultura de fezes, exames parasitológicos, sorologia, PCR, isolamento e teste de identificação de vírus são ferramentas úteis de diagnóstico. O isolamento do patógeno nas fezes não indica diretamente o agente causador do distúrbio, já que este pode fazer parte da microbiota intestinal (LESTER, 2001). Muitas vezes o diagnóstico é definido somente por exclusão, caracterizando um diagnóstico presuntivo.

O presente trabalho descreve um surto de enterite em potros neonatos e discute a forma de diagnóstico utilizada para caracterização da etiologia.

### Descrição dos casos clínicos

Os casos ocorreram em um plantel de um haras localizado no Município de Aceguá, RS, que tem 450 equinos criados em manejo rotativo conjuntamente com bovinos, em uma área com lotação de 1 UA (Unidade Animal) por hectare. Foram monitorados 118 potros nascidos no ano de 2008. Destes, 69 (58,5%) apresentaram sinais clínicos de enterite durante os meses de setembro a dezembro, sendo que a faixa etária dos animais acometidos encontrava-se entre 45 e 90 dias, e o curso médio dos sinais clínicos foi de 8 dias (entre 5 e 21 dias).

A avaliação dos animais foi composta por inspeção, exame clínico e coleta de sangue para avaliação hematológica. Além disso, foram coletadas amostras de fezes para estudo parasitário, bacteriológico e viral.

Na inspeção, os potros apresentavam apatia, depressão, anorexia com presença de diarreia aquosa e profusa. No exame clínico observaram-se mucosas róseas congestionadas e tempo de preenchimento capilar (TPC) superior a 2 segundos. Na avaliação dos parâmetros cardíaco e respiratório, apresentaram taquicardia e taquipneia, e na auscultação da cavidade abdominal foram constatados sons compatíveis com alterações na motilidade intestinal, caracterizando aumento do peristaltismo. A temperatura retal média variou entre 39,6 a 41,3° C.

### Caracterização das possíveis etiologias

A consideração da idade do potro ao início e apresentação dos sinais clínicos pode ser de grande ajuda para elaborar uma lista de possíveis etiologias. Os animais acometidos apresentavam apatia e idade entre 45 e 90 dias, tais fatores descartaram a possibilidade de diarreia do "cio do potro", devido ao distúrbio ocorrer em potros com 5 a 14 dias de vida, por uma adaptação do intestino e de sua microbiota, além disso, os animais acometidos geralmente não têm febre e apresentam atitude alerta (REED, 2002). Outra consideração foi relacionada ao primeiro sinal clínico observado, a diminuição da ingestão de leite, que permitiu o descarte de causas dietéticas, pois,

conforme ZIMMEL (2008), o aleitamento excessivo é um dos fatores predisponentes para diarreia.

A partir dos achados clínicos e a exclusão de causas não infecciosas foram conduzidos exames complementares para o reconhecimento do agente etiológico.

Na hematologia, foram observados leucopenia e hiperfibrinogenemia, evoluindo para linfocitose. Também se observou elevação na contagem das proteínas plasmáticas totais (PPT). A avaliação da temperatura retal e resultados hematológicos indicaram a presença de um processo infeccioso em 42 potros.

Foi utilizada a técnica de GORDON; WHITLOVK (1939) modificada, baseada na contagem de ovos por grama de fezes para pesquisa de nematódeos gastrintestinais e técnica de flutuação em açúcar para identificação de coccídeos na amostra de fezes de 38 potros.

Na avaliação microbiológica, foi realizada cultura bacteriana em meio ágar sangue e ágar MacConkey para reconhecimento da presença de bactérias patogênicas na amostra de fezes de 38 animais.

Os testes para pesquisa de agentes parasitários foram negativos e na avaliação microbiológica foram isolados micro-organismos como *E. coli*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Streptococcus sp.*, *Clostridium sp.* e *Bacillus*, presentes na microbiota intestinal de equinos saudáveis.

A suspeita de infecção vírica ocorreu a partir dos dados epidemiológicos, considerando a idade e o número de animais acometidos, o período de ocorrência dos casos e criação conjunta com bovinos, o que poderia tornar possível a transmissão de patógenos entre estas espécies (BRANDÃO *et al.*, 2006); associados a apresentação e duração dos sinais clínicos, e a avaliação hematológica, em que foi observada leucopenia por neutropenia, evoluindo para linfocitose, além do descarte de causas já mencionadas.

Amostras de fezes de seis potros foram encaminhadas para o Laboratório de Virologia da Universidade Federal de Santa Maria – UFSM, para identificação de agentes virais utilizando a técnica de microscopia eletrônica de varredura por contraste de fase conforme relatado por FLEWETT (1978) e GUY *et al.* (2000), com objetivo de identificar agentes como rotavírus, coronavírus e adenovírus, envolvidos nas enterites em neonatos.

Na microscopia eletrônica a identificação de coronavírus foi realizada na amostra de fezes dos seis potros que apresentavam o quadro clínico de enterite pela observação de partículas típicas deste vírus, que apresentavam entre 80 e 160 nanômetros de diâmetro, uma fileira dupla de peplômeros: uma linha externa grande de peplômeros conformados compatíveis com glicoproteínas de superfície e uma pequena linha interna pequena de peplômeros compatíveis com proteínas esterases-hemaglutinantes (GUY *et al.*, 2000).

A suspeita de infecção por coronavírus foi fortalecida a partir da consulta aos estudos realizados por GUY *et al.* (2000) e ZIMMEL (2008). Que descreveram o coronavírus como causador de enterocolite em equinos, podendo atuar como patógeno primário em potros jovens e imunocomprometidos. Experimento realizado por SUZUKI *et al.* (2008) demonstraram que células derivadas de rim bovino infectadas experimentalmente com coronavírus equino apresentaram características morfológicas e bioquímicas de apoptose via caspase - dependente, sugerindo que esta pode ser a base das lesões patológicas nas infecções do trato digestório. No entanto, segundo DAVIS *et al.* (2000), a patogenicidade do vírus em equinos ainda não está bem estabelecida.

No presente estudo observou-se que mais de 58% dos potros do criatório foram acometidos pela doença. Essa taxa de morbidade contrasta com dados da literatura, onde se encontra poucos relatos de coronavírus em potros jovens. Relatos de DAVIS *et al.* (2000), GUY *et al.* (2000) e BRANDÃO *et al.* (2006) descreveram apenas casos isolados do agente em potros. A taxa de morbidade pode estar associada ao período em que ocorreu a enterite viral, coincidindo com a idade do potro, que variou de 45 a 90 dias, quando estariam mais suscetíveis às doenças, tanto pela queda dos anticorpos maternos adquiridos passivamente pelo colostro, quanto ao fato de estarem iniciando a resposta imune própria (CRAWFORD; PERRYMAN, 1980).

Na propriedade, os equinos eram criados em manejo consorciado com bovinos, podendo este fator estar relacionado à fonte de infecção para os equinos, corroborando com BRANDÃO *et al.* (2006), os quais relataram que a transmissão do agente entre essas espécies pode ter ocorrido. Porém, KUO (2000) caracterizou uma estirpe de coronavírus como específico da espécie equina.

Foi sugerida a infecção das éguas a partir dos bovinos. Estas se tornariam portadoras crônicas e disseminadoras do vírus no ambiente por um período prolongado. Essa forma de transmissão foi também sugerida por DAVIS *et al.* (2000), que descreveram que bovinos adultos com infecção crônica são, frequentemente, fonte de transmissão para bezerros neonatos.

Portadores crônicos eliminam o vírus pelas fezes, reforçando a suspeita de infecção dos potros pela ingestão de fezes contaminadas, acidentalmente ou por coprofagia, conforme mencionado por KUO (2000). Já HECKERT *et al.* (1991) descreveram que, em bezerros, o coronavírus pode infectar o trato intestinal, tanto pela via nasal como oral.

### Considerações finais

Nesta série de casos, o vírus foi identificado por microscopia eletrônica de varredura nas amostras de fezes coletadas de seis potros que

apresentavam sinais clínicos de enterite. Cabe ressaltar que a presença do vírus nas fezes não significa necessariamente que este seja o patógeno responsável pelo distúrbio, visto que o agente pode ser eliminado nas fezes de animais saudáveis ou portadores crônicos. Exames complementares como sorologia pareada, cultivo de vírus e histopatologia e/ou imunohistoquímica de lesões entéricas poderiam confirmar o diagnóstico. Não obstante, os dados epidemiológicos, avaliação hematológica e resultado negativo para os demais agentes pesquisados remeteram a suspeita clínica de infecção por coronavírus.

### AGRADECIMENTOS

Haras Santa Maria de Araras.

Prof. Dr. Eduardo Furtado Flores, Departamento de Veterinária Preventiva - UFSM.

### REFERÊNCIAS

- BRANDÃO, P.E.; GREGORI, F.; HEINEMANN, M.B.; LIMA, C.H.A.; RODRIGUEZ, C.A.R.; RUIZ, V.L.A.; JEREZ, J. Animal coronaviruses. *Virus Reviews & Research*, v.6, p.7-13, 2001.
- BRANDÃO, P.E.; SOUZA, S.L.P.; TABEL, A.F.; VILLARREAL, L.Y.B.; JEREZ, J.A.. An enteric coronavirus in a 3-day-old diarrheic foal. *Arquivo do Instituto Biológico*, São Paulo, v.73, n.1, p.101-103, 2006.
- CRAWFORD, T.B.; PERRYMAN, L.E. Diagnosis and treatment of failure of passive transfer in the foal. *Equine Practice*, v.2, p.17-23, 1980.
- DAVIS, E.; RUSH, B.R.; COX, J.; DeBAY, B.; KAPIL, S. Neonatal enterocolitis associated with coronavirus infection in a foal: a case report. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v.12, p. 153-155, 2000.
- FLEWETT, T.H. Electron microscopy in the diagnosis of infectious diarrhea. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, v.173, p.538-541, 1978.
- GORDON, H.M.; WHITLOCK, H.V. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. *Journal Commonwealth Scientific and Industrial Organisation*, v.12, n.1, p.50-62, 1939.
- GUY, J.S.; BRESLIN, J.J.; BREUHAUS, B.; VIVRETTE, S.; SMITH, L.G. Characterization of a coronavirus isolated from diarrheic foal. *Journal of Clinical Microbiology*, v.38, n.12, p. 4523-4526, 2000.
- HECKERT, R.A.; SAIF, L.J.; MYERS, G.W.; AGNES, A.G. Epidemiologic factors and isotype-specific

antibody responses in serum and mucosal secretions of dairy calves with bovine coronavirus respiratory tract and enteric tract infections. *American Journal of Veterinary Research*, v.52, p.845-851, 1991.

HODGSON, J.L. Diarrhoea in foals. In: *Proceedings of the International Congress of World Equine Veterinary Association*, v.9, p.222-227, 2006.

KOTERBA, A.M. *Equine clinical neonatology*. Philadelphia: Lea e Febiger, 1990. 846p.

KUO, L.; GODEKE, G.; RAAMSMAN, M.J.B.; MASTERS, P.S.; ROTTIER, P.J.M. Retargeting of coronavirus by substitution of the spike glycoprotein ectodomain: crossing the host cell species barrier. *Journal of Virology*, v.74, p.1393-1406, 2000.

LESTER, G.D. Infectious Diarrhea in Foals. In: *Proceedings of Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*, v. 47, p.468-471, 2001.

MELO, U.P.; FERREIRA, C.; PALHARES, M.S. Doenças gastrintestinais em potros: etiologia e tratamento. *Ciência Animal Brasileira*, v.8, n.4, p.733-744, 2007.

REED, S.M.; BAYLY, W.M. *Medicina interna equina*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 938p.

REED, S. Diarrhea in the foal. In: CONGRESSO NAZIONALE MULTISALA, 11., 2005, Pisa. *Proceedings*. SIVE: Pisa, 2005. Disponível em: <[www.ivis.org/proceedings/sive/2005/lectures/reed2.pdf](http://www.ivis.org/proceedings/sive/2005/lectures/reed2.pdf)>. Acesso em: 12 jun. 2009.

SUZUKI, K.; MATSUI, Y.; MIURA, Y.; SENTSU, H. Equine coronavirus induces apoptosis in cultured cells. *Veterinary Microbiology*, v.129, p.390-395, 2008.

ZIMMEL, D. Neonatal Foal Diarrhea. In: *Annual Convention of the American Association Equine Practitioners*, p.207-213, 2008.

Recebido em 25/3/11

Aceito em 26/10/11