



Onfalite associada a pneumonia embólica em neonatos caninos

Omphalitis associated with embolic pneumonia in canine neonates

Leonardo Lima Gorza^{1,2*}, Gustavo Henrique Bastos dos Santos³, Victor Martinelli Casagrande³, Kamila Luiz de Souza³, Laísa Alves da Cruz Azevedo³, Mayra Cunha Flecher⁴, Priscila Camargo Granadeiro Farias⁴, Tayse Domingues de Souza⁴.

Mestrando em Patologia Animal¹, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brasil, Programa de Residência em Patologia Animal², Universidade Vila Velha, Vila Velha, ES, Brasil, Graduando em Medicina Veterinária³, Universidade Vila Velha, Vila Velha, ES, Brasil, Professor do Curso de Medicina Veterinária⁴, Universidade Vila Velha, Vila Velha, ES, Brasil.

Resumo

Quatro neonatos caninos, nascidos em ambiente com higiene precária, apresentaram prostração, diarreia não hemorrágica, mucosa oral cianótica e dispneia intensa 48 horas após o nascimento. Apesar dos cuidados de suporte, os filhotes morreram e foram submetidos à necropsia. Na avaliação anatomopatológica, foi diagnosticada onfalite bacteriana supurativa em todos os animais, caracterizada macroscopicamente por aumento de volume em região umbilical, e, microscopicamente, por infiltrado inflamatório neutrofílico e necrose, associado a numerosas colônias bacterianas intralesionais. Pneumonia intersticial multifocal a coalescente com necrose alveolar e grande quantidade de colônias bacterianas intralesionais foi diagnosticada em todos os filhotes, morfologia típica de pneumonia embólica. *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp., *Klebsiella pneumoniae* e *Klebsiella ozaenae* e *Bacillus cereus* foram isolados dos fragmentos pulmonares. Este caso demonstra a associação entre onfalite e pneumonia. Falhas nos cuidados neonatais podem ocasionar infecção bacteriana generalizada e elevada mortalidade. A antisepsia do umbigo deve ser realizada logo após o nascimento a fim de reduzir os casos de onfalite e consequentemente a mortalidade neonatal.

Palavras-chave: Morte neonatal, infecção umbilical, *Escherichia coli*.

Abstract

Four canine neonates, that were born in poor hygiene condition, presented prostration, non-hemorrhagic diarrhea, cyanotic oral mucous membranes, and intense dyspnea 48 hours after the birth. Despite supportive care, the animals died and were necropsied. Anatomopathological examination revealed suppurative bacterial omphalitis in all animals, macroscopically characterized by umbilicus enlargement and, microscopically, by neutrophilic inflammatory infiltrate and necrosis, associated with intralesional bacterial colonies. Multifocal to coalescent interstitial pneumonia with alveolar necrosis and numerous intralesional bacterial colonies was diagnosed in all neonates, morphologically suggestive of embolic pneumonia. *Escherichia coli*, *Staphylococcus* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella ozaenae* and *Bacillus cereus*, were isolated from lung tissue samples. This case demonstrates the association between omphalitis and pneumonia. Inappropriate neonatal care can predispose neonates to generalized bacterial infection and death. Therefore, umbilical cord treatment should be performed immediately after birth to reduce neonatal mortality.

Keywords: Neonatal death, umbilical cord infection, *Escherichia coli*.

Introdução

O correto manejo do neonato durante os primeiros dias de vida e a identificação precoce dos filhotes em risco são pontos de grande relevância no controle da mortalidade neonatal canina (Vela et al., 2006). Diferentes causas relacionadas à morte neonatal são citadas na literatura, como as doenças infecciosas, podendo-se citar brucelose, herpesvirose, parvovirose, ou não infecciosas, como a queilossquise, palatosquise, fenda palatina, malformações cardíacas, e onfalocele, ou alterações como hipóxia, desnutrição, trauma e desidratação (Nielen et al., 1998; Indrebø et al., 2007; Young et al., 2015; Souza et al., 2017). A maior parte das causas não infecciosas são consideradas fatores predisponentes

*Correspondência: leonardo_limagorza@hotmail.com

Recebido: 11 de março de 2019

Aceito: 17 de janeiro de 2020

para as infecções em filhotes (Münnich e Küchenmeister, 2014), sendo as infecções bacterianas a principal causa infecciosa de mortalidade neonatal canina (Münnich, 2008; Young et al., 2015).

O diagnóstico *ante mortem* de sepse em neonatos é considerado desafiador, devido aos sinais clínicos serem extremamente sutis e inespecíficos. Muitos desses sinais incluem extremidades frias, hipotermia, choro persistente, redução do débito urinário e relutância na amamentação (McMichael, 2005). A necropsia é um exame de extrema importância no diagnóstico das infecções bacterianas generalizadas em neonatos caninos (Münnich e Küchenmeister, 2014; Souza et al., 2017), porém, em alguns casos, o exame se mostra inconclusivo devido à escassez ou até mesmo ausência de lesões macroscópicas, tornando-se essencial a avaliação histopatológica, bem como a pesquisa de agentes infecciosos por meio da análise microbiológica e PCR (Souza et al., 2017). *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Proteus* spp., *Pseudomonas aeruginosa* e *Enterococcus* sp., são agentes frequentemente isolados nos casos de infecção bacteriana e sepse neonatal canina (Münnich, 2008; Meloni et al., 2014). A brucelose é uma doença negligenciada nos casos de sepse neonatal, contudo, estudos experimentais com *Brucella melitensis* sugerem um papel da *Brucella* spp., como agente potencializador da infecção por outras bactérias (Machelart et al., 2017).

O presente trabalho teve por objetivo relatar quadro de onfalite associada a pneumonia por sepse bacteriana em uma ninhada de cães.

Material e Métodos

Quatro neonatos caninos sem raça definida foram encaminhados para o setor de patologia animal do Hospital Veterinário Professor Ricardo Alexandre Hippler, da Universidade Vila Velha-ES. Os animais nasceram em uma ninhada de 10 filhotes, em ambiente com higiene precária e, 48 horas após o nascimento, apresentaram prostração, diarreia não hemorrágica, mucosa oral cianótica e dispneia intensa. Foi realizada alimentação via sonda orogástrica a cada duas horas com uma fórmula de sucedâneo caseiro (Tab. 1). Contudo, no mesmo dia em que se iniciou a alimentação via sonda, três neonatos morreram e o quarto neonato morreu 24 horas depois.

Tabela 1. Ingredientes da dieta caseira, instituída via sonda orogástrica, a cada duas horas, nos neonatos caninos.

| Ingrediente | Proporções |
|---|------------|
| Leite de vaca sem lactose | 150 ml |
| Gema de ovo | 40 ml |
| Óleo de girassol | 15 ml |
| Suplemento de cálcio e vitamina D (Cal-D-Mix [®]) | 1,2 ml/kg |
| Multivitamínico (Glicopan [®]) | 1,2 ml/kg |

Resultados

À necropsia, os pulmões de todos os animais (4/4) apresentaram alterações macroscópicas. Em três neonatos (3/4), foram observadas áreas de consolidação pulmonar, de coloração vermelho-escura, fluindo grande quantidade de líquido espumoso e avermelhado ao corte, com o padrão de distribuição variável (Fig. 1A). O pulmão de um animal (1/4) caracterizou-se por importante hiperemia dos lobos direitos, impressão de costelas e redução da crepitação (Fig. 1B). No fígado de um filhote (1/4), foram observadas áreas esbranquiçadas multifocais em superfície subcapsular (Fig. 1C). Em dois neonatos (2/4), foi observado aumento de volume do cordão umbilical.

Os tecidos foram coletados e processados pelos métodos de rotina para exame histopatológico e corados em hematoxilina e eosina. Amostras de pulmão, rim, coração, fígado, baço, língua, intestino e conteúdo fecal foram coletadas de maneira estéril e congeladas.

Na avaliação histopatológica dos pulmões, observou-se infiltrado inflamatório linfo-histiocitário e neutrofílico nos septos alveolares, necrose alveolar e grande quantidade de fibrina no lúmen dos alvéolos. Em todos os filhotes (4/4), numerosos cocos bacterianos foram evidenciados extracelularmente e, por vezes, no citoplasma de macrófagos (Fig. 2A). Em dois filhotes (2/4), havia raros bacilos extracelulares. Tais achados, foram compatíveis com pneumonia bacteriana tromboembólica. Microscopicamente, foi diagnosticada onfalite supurativa nos quatro animais (4/4), caracterizada por infiltrado inflamatório neutrofílico e necrose. Grande quantidade de cocos (4/4) e moderada quantidade de bacilos (2/4) extracelulares foram observados adjacentes à região de inserção do cordão umbilical. Em um neonato (1/4), havia peritonite purulenta (Fig. 2B), decorrente da onfalite.

No fígado de um filhote (1/4), foi observada necrose multifocal leve dos capilares sinusoides, e

colônias bacterianas no lúmen de ramos da veia porta, característicos de hepatite embólica secundária a onfalite supurativa.

Inclusões intracitoplasmáticas e intranucleares eosinofílicas foram identificados no epitélio da epiderme e de anexos adjacentes ao cordão umbilical de um filhote (1/4) (Fig. 3). Inclusões semelhantes foram observadas no epitélio da língua do mesmo animal, morfologia sugestiva de infecção viral.

Para identificação bacteriana, fragmentos de pulmão foram macerados em salina e inoculados em ágar base sangue Columbia (Oxoid[®]), suplementado com 5,0% de sangue de ovino e ágar MacConkey (Oxoid[®]). Em seguida, foi realizada avaliação das características morfológicas das colônias, coloração de gram e as seguintes provas bioquímicas: catalase, oxidase, coagulase, fermentação de lactose e bacitracina (Laborclin[®]) para as bactérias gram negativas. *E. coli*, *Staphylococcus* sp., *Klebsiella ozaenae*, *Klebsiella pneumoniae* e *Bacillus cereus* foram isolados dos fragmentos pulmonares, para identificação bacteriana. As características referentes à coloração e bioquímica dos isolados obtidos estão listadas na Tabela 2.

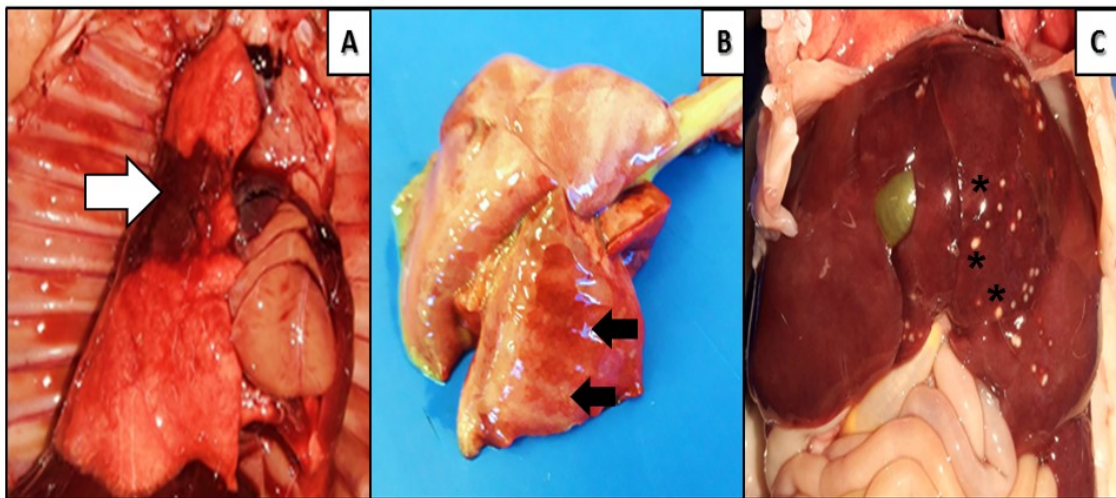


Figura 1. (A) Pulmão: Lobos armados, com áreas de consolidação vermelho-escuras (seta branca). (B) Pulmão: Impressão das costelas em porção dorsal dos lobos pulmonares (setas pretas). (C) Fígado: Áreas esbranquiçadas multifocais, em superfície subcapsular (*).

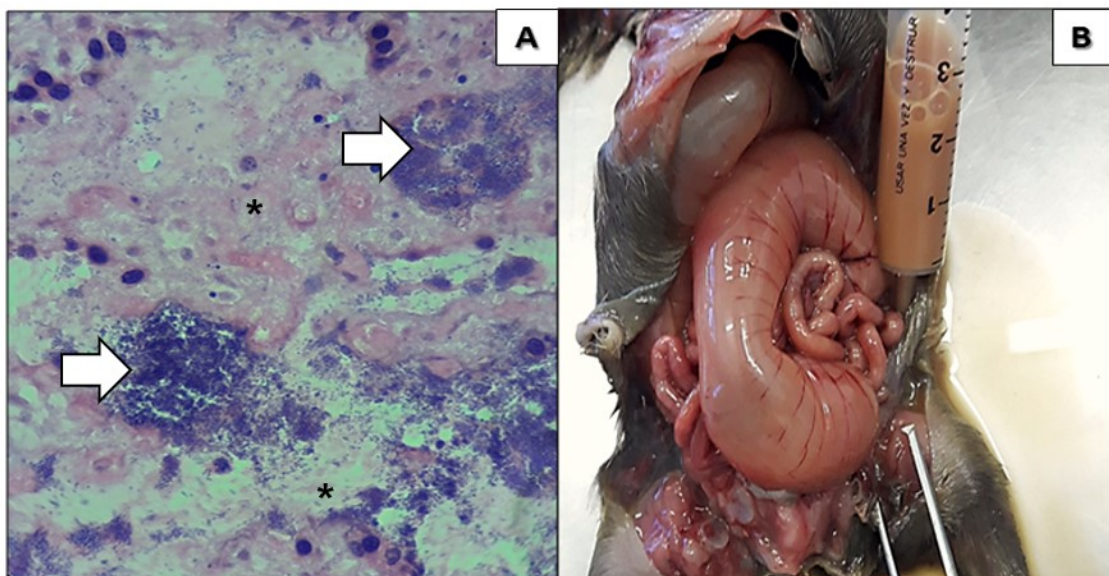


Figura 2. (A) Pulmão: Colônias bacterianas (setas brancas), associadas a necrose e inflamação; notar presença de fibrina no lúmen dos alvéolos (*). Aumento de 400x. Hematoxilina e Eosina. (B) Cavidade abdominal: Peritonite supurativa caracterizada por grande quantidade de pus em cavidade abdominal, possivelmente em decorrência da onfalite bacteriana.

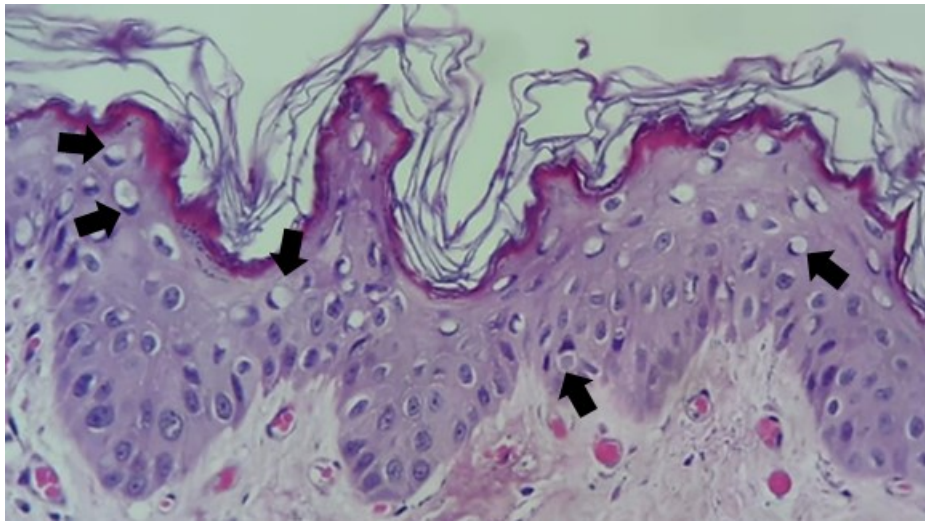


Figura 3. Pele: Inclusões intracitoplasmáticas eosinofílicas e degeneração vacuolar (seta), em epitélio da epiderme adjacente do cordão umbilical. Aumento de 200x. Hematoxilina e Eosina

A fim de avaliar a possibilidade de infecção pelo Parvovírus canino tipo 2, foi realizado imunoenensaio cromatográfico, para detecção qualitativa de antígenos do parvovírus (Alere[®] parvovirose Ag Test Kit, EUA), utilizando amostras de fezes congeladas, com resultado negativo nos quatro animais.

Discussão

Inúmeras condições tornam os neonatos caninos altamente vulneráveis a diversas infecções durante as duas primeiras semanas de vida, como falha na ingestão do colostro, hipoglicemia, hipóxia e hipotermia (Münnich e Küchenmeister, 2014). No presente caso, não foi possível relacionar tais fatores com o desenvolvimento da infecção bacteriana, pela falta de informações mais precisas antes do resgate dos filhotes. A imaturidade do sistema imunológico, contudo, também é considerada um importante fator predisponente para a ocorrência das infecções bacterianas e consequente sepse neonatal.

Como discutido anteriormente, neonatos em quadros de sepse apresentam sintomatologia discreta e inespecífica, o que dificulta o diagnóstico dessa condição (McMichael, 2005). No entanto, alguns sinais clínicos relacionados com a sepse neonatal canina, como letargia e perda do reflexo de sucção, são importantes e frequentes, e muitas vezes são os primeiros sinais a serem detectados, devido a maior facilidade de percepção se comparado, por exemplo, a redução do débito urinário. Logo, o tutor ou médico veterinário responsável pela ninhada deve suspeitar de sepse ao detectar tais alterações clínicas, o que não ocorreu no presente caso.

Em muitos casos, a sepse é secundária a onfalite bacteriana (McMichael, 2005). A infecção do coto umbilical muitas vezes se associa com falta de experiência dos tutores nos cuidados neonatais e ambiente inadequado. Antes de serem transferidos para um local adequado, os animais do presente caso permaneceram dois dias após o nascimento em ambiente com higiene precária, fator esse que, associado à imaturidade imunológica, pode ter desencadeado a onfalite e consequente infecção generalizada. O uso de técnicas de antisepsia na cura do umbigo, manejo ambiental, vacinação, vermifugação e boa higienização da cadela, são aspectos que devem ser enfatizados a fim de reduzir a mortalidade neonatal canina.

Quatro diferentes agentes bacterianos foram isolados das amostras de tecido pulmonar, com destaque para a *E. coli*, presente em todos os cães. A bactéria é considerada um importante agente etiológico nos casos de morte septicêmica em filhotes, sendo a mesma isolada de diversas fontes de infecção (Münnich e Lübke-Becker, 2004). A cadela é considerada um importante reservatório da bactéria. Um estudo epidemiológico, realizado em cinco canis, isolou cepas de *E. coli* da vagina, fezes e cavidade oral das cadelas, além do leite materno (Münnich e Lübke-Becker, 2004), ratificando a importância da cadela como fonte da bactéria para os filhotes, sendo considerada também constituinte da microbiota normal do cão.

No presente caso, apesar dos animais terem sido sondados para alimentação, não houve aspiração de leite, pois não havia material com morfologia semelhante a leite nos pulmões. Morfologicamente,



Tabela 2. Características dos isolados bacterianos obtidos dos pulmões em casos de pneumonia embólica secundária a onfalite supurativa em neonatos caninos.

| Identificação | Meio de cultura | Gram | Lactose | Oxidase | Catalase | Coagulase | Bactéria diagnosticada |
|---------------|-----------------|------|---------|---------|----------|-----------|------------------------------|
| Filhote 1 P-3 | BHI | C+ | - | - | + | + | <i>Staphylococcus</i> sp |
| Filhote 1 P-4 | BHI | B- | + | - | + | + | <i>Escherichia coli</i> |
| Filhote 1 P-5 | BHI | B- | - | - | NA | NA | <i>Klebsiella ozaenae</i> |
| Filhote 2 P-3 | BHI | C+ | - | - | + | - | <i>Staphylococcus</i> sp |
| Filhote 2 P-4 | BHI | B- | + | - | NA | NA | <i>Escherichia coli</i> |
| Filhote 2 P-5 | BHI | B- | NA | - | NA | NA | <i>Klebsiella pneumoniae</i> |
| Filhote 3 P-3 | BHI | B+ | NA | NA | + | NA | <i>Bacillus cereus</i> |
| Filhote 3 P-4 | BHI | B- | + | - | NA | NA | <i>Escherichia coli</i> |
| Filhote 3 P-5 | BHI | B- | NA | - | NA | NA | <i>Escherichia coli</i> |
| Filhote 4 P-3 | BHI | B+ | NA | NA | + | NA | <i>Bacillus cereus</i> |
| Filhote 4 P-4 | BHI | B- | + | - | NA | NA | <i>Escherichia coli</i> |
| Filhote 4 P-5 | BHI | B- | NA | - | NA | NA | <i>Escherichia coli</i> |

Legendas: + (Positivo); - (Negativo); C+ (Coco Gram-positivo); B+ (Bacilo Gram-positivo); B- (Bacilo Gram-negativo); NA (Não se aplica).



a pneumonia era característica de processo embólico, indicando que a infecção pulmonar se desenvolveu em consequência da onfalite, já que não foram observados, nas análises macroscópicas e histopatológicas, achados sugestivos de aspiração alimentar por falsa via.

Na avaliação histopatológica, cocos bacterianos foram observados nos pulmões de todos os filhotes, contudo, *Staphylococcus* spp. foi isolado de dois neonatos apenas, o que pode ter decorrido do congelamento e descongelamento dos tecidos. Apesar de não ter sido investigada, a *Brucella* spp. é um agente presente em cães de canis (Keid et al., 2017), devendo ser considerada um diagnóstico diferencial em casos de aborto e mortalidade fetal e neonatal canina. Em estudo realizado por Machelart et al. (2017), foi sugerido que a *B. melitensis* pode atuar como um agente potencializador de infecções bacterianas, e apesar da *B. canis* não ter sido incluída no estudo citado, a brucelose canina pode ser mais um agravante nos casos de infecções neonatais na espécie.

As inclusões intranucleares e intracitoplasmáticas observadas no epitélio de língua dos neonatos necropsiados são considerados típicos de infecção por parvovírus canino (Matsui et al., 1993; McKnight et al., 2007). Contudo, os quatro animais tiveram resultado negativo do imunoensaio cromatográfico para detecção de parvovírus canino nas amostras de fezes. Embora a infecção pelo parvovírus não possa ser descartada, diante da possibilidade de resultados falsos negativos caso o vírus esteja presente em pequena quantidade nas amostras analisadas, outros agentes virais devem ser considerados, como o vírus da Cinomose canina

Conclusão

O presente caso relata infecção generalizada caracterizada onfalite com embolização bacteriana disseminada em neonatos caninos, pneumonia e hepatite. A infecção generalizada e a grande carga bacteriana foram achados característicos nos animais relatados. O congelamento das amostras de tecidos não inviabilizou totalmente o isolamento bacteriano.

O correto tratamento do umbigo deve ser sempre realizado pelos tutores e médicos veterinários logo após o nascimento, a fim de reduzir os casos de onfalite e conseqüentemente a mortalidade neonatal.

Referências

- Indrebø A, Trangerud C, Moe L.** Canine neonatal mortality in four large breeds. *Acta Vet Scand*, v.49, n.S2, p.1-5, 2007.
- Keid LB, Chiebao DP, Batinga MCA, Faita T, Diniz JA, Oliveira TMFS, Ferreira HL, Soares RM.** *Brucella canis* infection in dogs from commercial breeding kennels in Brazil. *Transbound Emerg Dis*, v. 64, n.3, p.691-697, 2017.
- Machelart A, Khadrawi A, Demars A, Willemart K, Trez CD, Letesson JJ, Muraille E.** Chronic *Brucella* Infection Induces Selective and Persistent Interferon Gamma-Dependent Alterations of Marginal Zone Macrophages in the Spleen. *Infect Immun*, v.85, n.11, p.1-17, 2017.
- Matsui T, Matsumoto J, Kanno T, Awakura T, Taniyama H, Furuoka H, Ishikawa H.** Intranuclear inclusions in the stratified squamous epithelium of the tongue in dogs and cats with parvovirus infection. *Vet Pathol*, v.30, n.3, p.303-305, 1993.
- McMichael M.** Pediatric Emergencies. *Vet Clin Small Anim*, v.35, n.2, p.421-434, 2005.
- McKnight CA, Maes RK, Wise AG, Kiupel M.** Evaluation of tongues as a complementary sample for the diagnosis of parvoviral infection in dogs and cats. *J Vet Diagn Invest*, v.19, n.4, p.409-413, 2007.
- Meloni T, Martino PA, Grieco V, Pisu MC, Banco B, Rota A, Veronesi MC.** A survey on bacterial involvement in neonatal mortality in dogs. *Vet Ital*, v.50, n.4, p.293-299, 2014.
- Münnich A.** The pathological newborn in small animals: the neonate is not a small adult. *Vet Res Commun*, v.32, n.S1-S8, p.81-85, 2008.
- Münnich A, Küchenmeister U.** Causes, Diagnosis and Therapy of Common Diseases in Neonatal Puppies in the First Days of Life: Cornerstones of Practical Approach. *Reprod Dom Anim*, v.49, n.S2, p.64-74, 2014.
- Münnich A, Lübke-Becker A.** *Escherichia coli* infections in newborn puppies clinical and epidemiological investigations. *Theriogenology*, v.62, n.S3-S4, p.562-575, 2004.
- Nielen AL, Van der-Gaag I, Knol BH, Schukken YH.** Investigation on mortality and pathological changes in 14-months birth cohort of boxer puppies. *Vet Rec*, v.142, n.22, p.602-606, 1998.
- Souza TD, Mol JPS, Paixão TA, Santos RL.** Mortalidade fetal e neonatal canina: etiologia e diagnóstico. *Rev Bras Reprod Anim*, v.41, n.2, p.639-649, 2017.
- Vela AI, Falsen E, Simarro I, Rollan E, Collins MD, Domínguez L, Fernandez-Garayzabal JF.**



Neonatal Mortality in Puppies Due to Bacteremia by *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae*. J Clin Microbiol, v.44, n.2, p.666-668, 2006.

Young CN, Haldorson G, Memon MA. Diagnosis of canine and feline neonatal death: a retrospective study of 107 cases (2000-2010). Clin Therio, v.7, n.1, p.53-57, 2015.
