



UNIVERSIDADE  
ESTADUAL DE LONDRINA

---

GIORGIO QUEIROZ PEREIRA

**TRANSPLANTE DE MICROBIOTA FECAL EM CÃES COM  
GASTREENTERITE HEMORRÁGICA**

---

Londrina  
2017

GIORGIO QUEIROZ PEREIRA

**TRANSPLANTE DE MICROBIOTA FECAL EM CÃES COM  
GASTREENTERITE HEMORRÁGICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para obtenção do título de mestre.

Orientador: Professor Dr Lucas Alécio Gomes

Londrina  
2017

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Pereira, Giorgio Queiroz.

Transplante de Microbiota Fecal em Cães com Gastreenterite Hemorrágica / Giorgio Queiroz Pereira. - Londrina, 2017.  
57 f. : il.

Orientador: Lucas Alécio Gomes.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, 2017.  
Inclui bibliografia.

1. Transplante de Microbiota Fecal em cães - Tese. 2. Diarreia hemorrágica aguda em cães - Tese. 3. Terapia adjuvante em cães com parvovirose - Tese. I. Gomes, Lucas Alécio. II. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. III. Título.

GIORGIO QUEIROZ PEREIRA

**TRANSPLANTE DE MICROBIOTA FECAL EM CÃES COM  
GASTREENTERITE HEMORRÁGICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual de Londrina como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Lucas Alécio Gomes  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. Dra. Maria Isabel Mello Martins  
Universidade Estadual de Londrina - UEL

---

Prof. PhD. Márcio Carvalho da Costa  
University of Montreal - UEL

Londrina, 16 de Fevereiro de 2017.

**DEDICO**

**Ao meu pai que me moldou com seu jeito  
todo especial e trouxe alegria a todos ao  
seu redor.**

## **AGRADECIMENTO**

Agradeço primeiramente a Deus que operou o milagre e a nossa mãe Maria que intercedeu por mim.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr. Lucas Alécio Gomes, por me orientar, dispondo seu pouco tempo a minha pessoa e ao nosso projeto. Exemplo a ser seguido como pessoa e como profissional, com sua paciência, prontidão, bondade e conhecimento.

Agradeço ao meu co-orientador Márcio Carvalho da Costa pela sugestão do tema, compartilhamento das experiências, correções, ajuda, parceria e paciência. Um pesquisador nato, sempre contribuindo para ciência animal.

Agradeço a todo setor da virologia e parasitologia animal, assim como ao Prof. João Luis Garcia e Profa. Dra. Alice Fernandes Alfieri, que além de me ajudar com as técnicas laboratoriais, disponibilizaram seus setores para o processamento das amostras.

Agradeço aos colegas que me ajudaram durante as coletas e realizações dos Transplantes de Microbiota Fecal , em especial ao aluno Iago Smaili Santos (UEL) e a aluna Letícia Fátima de Souza (UNIFIL) que foram essenciais, assim como aos residentes de ambas as instituições, para as avaliações diárias mesmo quando eu estava ausente.

Agradeço as pessoas que contribuíram para que este sonho se tornasse realidade, em especial a minha mãe Auta Maria de Queiroz Pereira e meu pai que nos deixou recentemente Jovelino Pereira Neto. Lembro ainda os exemplos de sucesso de meus irmãos Gustavo Queiroz Pereira e Gabriel Queiroz Pereira, assim com a sempre disposta a ajudar a todos, minha irmã Mariele Queiroz Pereira.

Agradeço a minha esposa Alessandra Tavares de Jesus Pereira, há anos parceira em todas as decisões de minha vida, que me deu um filho, o Francisco, uma bênção de Deus em nossas vidas. Sozinha, cuidou dele, da casa e de mim durante as minhas ausências devido ao trabalho e ao mestrado.

**“Ninguém é tão sábio que não possa  
aprender, nem tão tolo que não possa  
ensinar”  
Wilvo Leite**

PEREIRA, G.Q. **Transplante de Microbiota Fecal em Cães com Gastreenterite Hemorrágica**. 2017. 57f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

## RESUMO

A diarreia está entre os problemas mais comuns que acometem os cães e em muitos casos de parvovirose, os animais não se recuperam a despeito do tratamento. O tratamento adjuvante com a reposição de bactérias intestinais tem sido promissor em medicina humana e veterinária. Assim sendo, o objetivo desse trabalho foi investigar o efeito do transplante de microbiota fecal (TMF) na recuperação clínica de cães filhotes com diarreia pelo parvovírus canino (CPV). Foram avaliados 66 cães com diarreia atendidos em dois hospitais veterinários escola em Londrina, Paraná, Brasil. Todos os animais foram submetidos a terapia convencional para o tratamento da diarreia e aleatoriamente distribuídos em dois grupos: tratamento (TMF) e controle (CON). O grupo controle (n=33) recebeu apenas a terapia padrão e o grupo TMF (n=33) recebeu, adicionalmente, o transplante de microbiota fecal. O número de pacientes que recebeu alta hospitalar ou foi a óbito foi comparado pelo teste do Qui-Quadrado, e o tempo em dias para melhora clínica em relação a resolução da diarreia e o período de hospitalização pelo teste de Mann-Whitney. O transplante foi associado com menor tempo de internamento, devido a melhora clínica dos animais tratados ( $p=0,0007$ ). A mortalidade foi numericamente maior entre os filhotes que não receberam o tratamento, ficando em 18,18% (12/33), comparado com os transplantados na qual foi de 10,6% (7/33), mas não houve diferença estatística entre os grupos ( $p=0,174$ ). O TMF mostrou-se uma técnica segura e eficaz para ser realizada em cães com diarreia por parvovirose, uma vez que efeitos colaterais associados ao tratamento não foram detectados. Futuros estudos microbiológicos são necessários para investigar a colonização pelas bactérias transplantadas.

**Palavras chave:** Cães. Microbiota. Fecal. Parvovírus. CPV.

PEREIRA, G.Q. **Microbiota transplantation in dogs with hemorrhagic gastroenteritis**. 2017. 57p. Dissertation (Master of Science Candidate in Animal Science) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina.

### **ABSTRACT**

Diarrhea is one of the most common problems affecting dogs, and in cases of canine parvovirus animals do not recover despite treatment. Adjuvant treatment with intestinal bacterial replacement has been promising in human and veterinary medicine. The objective of this study was to investigate the effect of fecal microbiota transplantation on the clinical recovery of puppies with acute diarrhea caused by the canine parvovirus (CPV). Sixty six puppies with diarrhea were evaluated from two veterinary teaching hospitals in Londrina, South Brazil. All animals were subjected to standard therapy for diarrhea and randomly distributed into two groups: treatment (TMF) and control (CON). Controls (n = 33) received only standard therapy and the TMF group (n = 33) additionally receive fecal microbiota transplantation. The number of patients from each group who was discharged or died was compared by the Chi-Square test and the time in days for clinical recovery addressed by diarrhea resolution and hospitalization time by the Mann-Whitney test. Transplantation was associated with shorter hospitalization due to clinical improvement of treated animals ( $p = 0.0007$ ). Mortality was numerically higher among animals who did not receive treatment (12/33; 18.18%) compared to transplanted (7/33; 10.6%), although comparison of groups was not statistically ( $p = 0.174$ ). TMF was shown to be a safe technique to be performed on puppies with parvovirus diarrhea since treatment-associated side effects were not detected. New microbiological studies are required in order to better understand colonization by transplanted bacteria.

**Key words:** Dogs. Microbiota. Faecal. Parvovirus. CPV.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1 -</b>	Fezes do doador canino diluídas em soro fisiológico para realização do TMF. ....	31
<b>Figura 2 -</b>	Sonda uretral sendo introduzida via retal em paciente canino durante o TMF .....	31
<b>Figura 3 -</b>	Paciente canino com a pelve elevada para auxiliar a progressão do conteúdo fecal depositado na porção proximal do reto.....	31
<b>Figura 4 -</b>	Gráfico de comparação entre filhotes caninos em relação ao tempo de evolução das fezes líquidas para consistências pastosas, firmes ou ausência de fezes, dos grupos controle e TMF, no período de julho de 2015 a agosto de 2016, na região norte do Paraná. ....	41
<b>Figura 5 -</b>	Gráfico de comparação entre o número de pacientes caninos que recebeu alta ou foi a óbito, entre os grupos controle e TMF, no período de julho de 2015 a agosto de 2016, na região norte do Paraná .....	41

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 -** Distribuição das médias de dias de internamento e para melhora da diarreia dos caninos dos grupos Controle e TMF, excetuando-se os óbitos, no período de julho de 2015 a agosto de 2016, na região norte do Paraná.....42
- Tabela 2 -** Distribuição dos caninos dos grupos Controle e TMF, de acordo com o grupo pertencente e o número de óbitos e alta hospitalar, no período de julho de 2015 a agosto de 2016, na região norte do Paraná. ....42

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CHV1	Grupo Controle Hospital Veterinário 1
CHV2	Grupo Controle Hospital Veterinário 2
CON	Grupo Controle
CPV	Parvovírus Canino
CPV-2	Parvovírus Canino Tipo 2
CPV-2a	Parvovírus Canino Tipo 2a
CPV-2b	Parvovírus Canino Tipo 2b
CPV-2c	Parvovírus Canino Tipo 2c
DII	Doença Inflamatória Intestinal
DNA	Ácido desoxirribonucleico
FISH	Hibridação Fluorescente <i>in situ</i>
GI	Gastrointestinal
HV	Hospital Veterinário
PCR	Reação da Polimerase em Cadeia
SNG	Sequenciamento de Nova Geração
TMF	Transplante de Microbiota Fecal
THV1	Grupo Tratamento Hospital Veterinário 1
THV2	Grupo Tratamento Hospital Veterinário 2
TGI	Trato Gastrointestinal
UEL	Universidade Estadual de Londrina
UNIFIL	Centro Universitário Filadélfia
VP	Proteína Viral

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO</b> .....	<b>15</b>
2.1	MICROBIOTA INTESTINAL .....	15
2.1.1	Identificação das Bactérias Intestinais .....	15
2.1.2	Disbiose Intestinal .....	17
2.1.3	Interação com Vírus .....	18
2.2	DIARREIA AGUDA EM CÃES.....	18
2.2.1	Diarreia Responsiva a Antibiótico .....	19
2.3	PARVOVIROSE .....	20
2.4	TRANSPLANTE DE MICROBIOTA FECAL.....	21
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>23</b>
<b>4</b>	<b>HIPÓTESE</b> .....	<b>24</b>
<b>5</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>25</b>
5.1	GERAL.....	25
5.2	ESPECÍFICOS.....	25
<b>6</b>	<b>ARTIGO - TRANSPLANTE DE MICROBIOTA FECAL ACELERA MELHORA CLÍNICA EM CÃES COM GASTRENERITE HEMORRÁGICA POR PARVOVIROSE</b> .....	<b>26</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	<b>43</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>44</b>
	<b>ANEXOS</b> .....	<b>54</b>

ANEXO 1 - Formulário para caracterização do paciente canino com diarreia no atendimento inicial .....	54
ANEXO 2 - Acompanhamento clínico do paciente internado.....	55
ANEXO 3 - Termo de consentimento livre e esclarecido para pesquisa.....	56

## 1 INTRODUÇÃO

A diarreia está entre os problemas mais comuns que acometem os cães. No Brasil ela usualmente é causada por infecções virais e um estudo na região norte do Paraná demonstrou que o parvovírus (CPV-2) é responsável por mais de 40% dos casos de diarreia em cães jovens, acometendo principalmente filhotes até seis meses de idade (SANTOS, 2006). Entretanto, outras causas potenciais são bactérias, fungos, protozoários, co-infecções, alterações alimentares, ingestão de objetos, parasitas helmintos e doença imunomediada (GARCIA et al., 2000; GRELLET et al., 2016; WILLARD, 2010). A detecção precoce dessas afecções pode evitar retardo no crescimento de filhotes e evolução para formas graves da doença (GRELLET et al., 2016). Em quadros graves, a referida alteração pode levar o paciente a um estado crítico e pode estar relacionada à alta taxa de morbidade e mortalidade, a exemplo da parvovirose (PINTO et al., 2012; SPIBEY et al., 2008).

O trato gastrointestinal (TGI) de cães é colonizado por imensa população de microrganismos que são coletivamente chamados de microbiota, a qual é composta por bactérias, fungos, vírus e protozoários (SUCHODOLSKI, 2016). Novos métodos de identificação revelaram que a microbiota gastrointestinal de cães é um ecossistema extremamente complexo, composto principalmente por centenas de diferentes espécies bacterianas (SUCHODOLSKI et al., 2009; HANDL et al. 2011; SWANSON et al., 2011; HAND et al. 2013). Fungos e vírus também são membros importantes da microbiota, mas o seu papel na saúde e na doença ainda está sendo avaliado (SUCHODOLSKI, 2016).

A microbiota intestinal beneficia o hospedeiro, agindo como barreira de defesa contra enteropatógenos, regulando o sistema imune, ajudando na digestão de fibras complexas, produzindo ácidos graxos de cadeia curta e outros metabolitos que fornecem suporte nutricional para os enterócitos, estimulando a motilidade gastrointestinal (SUNVOLD et al. 1995; KARST, 2016).

Esta nova visão sobre a complexidade da microbiota intestinal e sua relação com o hospedeiro tem estimulado pesquisas, para compreender melhor a importância de um ecossistema microbiano equilibrado, para a regulação da saúde e da imunidade (SUCHODOLSKI, 2016).

Recentemente, estudos moleculares como o sequenciamento de nova geração (SNG) têm avaliado as comunidades bacterianas do TGI canino, e tem

1 mostrado a presença de disbiose intestinal, situação caracterizada pelo desequilíbrio  
2 da microbiota bacteriana intestinal, em cães com doenças gastrointestinais  
3 (MINAMOTO et al., 2014). Embora tenha sido demonstrado que a inflamação  
4 entérica induza a disbiose (CRAVEN et al., 2012), acredita-se que o inverso também  
5 ocorra (DUBOC et al., 2013).

6 Assim como em humanos, foi demonstrado que cães com doenças  
7 gastrointestinais agudas e crônicas, incluindo doença inflamatória intestinal, estão  
8 associadas com alterações nas comunidades microbianas intestinais  
9 (ALLENSPACH, 2010; HONNOFFER; MINAMOTO; SUCHODOLSKI, 2014). Embora  
10 seja possível a recuperação espontânea da microbiota, não é garantido que ela  
11 ocorra em todos os casos. Várias estratégias podem ser utilizadas para se restaurar  
12 esta microbiota, como por exemplo, o uso de probióticos, prebióticos ou até mesmo  
13 o transplante do ecossistema microbiano inteiro, a partir de fezes de um indivíduo  
14 sadio, processo este denominado de “transplante de microbiota fecal” (TMF) ou  
15 “bacterioterapia” (GOUGH; SHAIKH; MANGES, 2011).

16 O TMF visa transferir a microbiota saudável de um “doador” para o paciente,  
17 aumentando a diversidade, normalizando a estrutura global da comunidade  
18 bacteriana (KHORUTS et al., 2010; FUENTES et al., 2014), e se mostrou promissor  
19 para o tratamento de diarreia crônica em cães, sendo a resposta clínica consistente  
20 com mudança acentuada no microbioma fecal após o tratamento (WEESE; COSTA;  
21 WEBB, 2013). Esta prática tem sido cada vez mais adotada em seres humanos  
22 acometidos por enterocolites, porém a investigação de sua eficácia em medicina  
23 veterinária já teve início (MURPHY; CHAITMAN; HAN, 2014). No entanto, dados da  
24 literatura que caracterizem a colonização eficaz pela microbiota transplantada são  
25 escassos (WEINGARDEN et al. 2015).

26 Em humanos, com infecção recorrente por *Clostridium difficile*, o TMF resultou  
27 em uma rápida recomposição da microbiota intestinal, evoluindo de um estado  
28 disbiótico a um estado de normal em dois a três dias, podendo atingir até 92% de  
29 resolução dos casos (GOUGH; SHAIKH; MANGES, 2011; WEINGARDEN et al.,  
30 2015).

31 Assim sendo, o objetivo geral desse trabalho foi avaliar a eficácia do TMF na  
32 melhora clínica de cães com gastrenterite hemorrágica aguda.

33

## 2 REFERENCIAL BIBLIOGRÁFICO

### 2.1 Microbiota intestinal

Um ecossistema microbiano equilibrado é de importância crucial para a saúde do hospedeiro, uma vez que proporciona estímulos para o sistema imunológico, ajuda na defesa contra enteropatógenos e fornece benefícios nutricionais (SUCHODOLSKI, 2016).

Atualmente, um grande obstáculo para a compreensão das interações hospedeiro-microbiota em cães é o fato de que a maioria dos estudos avaliando microbiota em doenças gastrintestinais examinou apenas um único momento ou um pequeno número de animais doentes (HONNEFFER; MINAMOTO; SUCHODOLSKI, 2014). No entanto, este tipo de análise, é complicado pelo fato de que as comunidades microbianas são intrinsecamente dinâmicas e afetadas por flutuações diárias dependentes do meio ambiente, da dieta, das atividades e da saúde do hospedeiro, além de fatores genéticos (DETHLEFSEN, 2011; KNIGHTS, 2014; KARST, 2016).

Nos mamíferos, a microbiota intestinal exerce influência marcante no hospedeiro, tanto durante a homeostase quanto nas doenças (KARST, 2016). Em seres humanos, foi demonstrado que desempenha papel importante na manutenção da saúde e na patogenia de várias doenças como, por exemplo, obesidade, diabetes *mellitus*, alergias, síndrome do intestino irritável, entre outras (BLASER; FALKOW, 2009; HONNEFFER; MINAMOTO; SUCHODOLSKI, 2014). A estimulação do sistema imune do hospedeiro e a produção de metabólitos microbianos são considerados uma das mais importantes forças motrizes por trás da co-evolução de microbiota com seu hospedeiro (OCHMAN et al., 2010).

#### 2.1.1 Identificação das bactérias intestinais

O intestino delgado abriga uma mistura de bactérias aeróbicas e anaeróbicas facultativas, enquanto o intestino grosso é um habitat quase exclusivamente para anaeróbios (SUCHODOLSKI, 2008).

Reconhece-se que a cultura bacteriana não é o método mais adequado para a caracterização de ambientes complexos, tais como o TGI de mamíferos. Apesar da importância da cultura bacteriana em outras situações, a maioria das bactérias intestinais não pode ser cultivada com técnicas convencionais. Este método não

1 pode ser usado para quantificar número de bactérias totais e também não permite a  
2 identificação da maioria dos grupos de bactérias. As razões para a incapacidade de  
3 cultura da maioria das bactérias incluem a falta de conhecimento a respeito de seus  
4 requisitos de crescimento ideais. Atualmente, estima-se que menos de 20% das  
5 bactérias intestinais são cultiváveis com técnicas padrão de laboratório  
6 (SUCHODOLSKI, 2016).

7 Enquanto métodos de cultura são necessários para caracterizar novas  
8 espécies de bactérias e podem proporcionar melhor resolução para a identificação  
9 de microrganismos, os métodos de sequenciamento tem sido eletivos para uma  
10 caracterização mais ampla da microbiota intestinal, mas até o momento nenhuma  
11 técnica padrão foi boa suficiente para identificação da maioria das bactérias  
12 anaeróbias residentes no TGI canino (SUCHODOLSKI, 2016).

13 O SNG de genes 16S rRNA é uma ferramenta útil para avaliar a microbiota  
14 intestinal, visto que fornece uma visão geral das proporções de todos grupos  
15 bacterianos dentro da microbiota. Devido aos custos e tempo para os resultados,  
16 SNG não está disponível na rotina diagnóstica. É importante observar que os grupos  
17 bacterianos com baixa abundância, estão tipicamente presentes em uma proporção  
18 tão baixa do total de bactérias que podem não ser identificados mesmo quando são  
19 empregadas técnicas de alto rendimento. Portanto, para a detecção ou quantificação  
20 de grupos bacterianos em baixa abundância é recomendado o uso adicional de  
21 Reação da Polimerase em Cadeia (Polymerase Chain Reaction - PCR) com primers  
22 específicos (SUCHODOLSKI, 2016).

23 Atualmente, o uso de hibridação fluorescente *in situ* (FISH: fluorescence *in*  
24 *situ* hybridization) é considerado o método mais acurado para a quantificação de  
25 grupos bacterianos, porque é baseado em contagens microscópicas ao invés de  
26 amplificação de DNA e permite visualizar a localização de bactérias no epitélio, por  
27 exemplo, intracelular, aderidas ou invasivas. Uma desvantagem desta técnica é não  
28 permitir alto rendimento na análise de amostras (SUCHODOLSKI, 2016).

29 Alguns primers habitualmente utilizados e protocolos de PCR subestimam a  
30 presença de grupos específicos de bactérias, por exemplo, *Bifidobacterium spp.*  
31 Assim, deve-se ter cuidado quando se comparam resultados quantitativos entre os  
32 estudos que usaram diferentes protocolos de extração de DNA para PCR. Em  
33 adição à identificação de grupos bacterianos, uma peça-chave para a compreensão  
34 do impacto da microbiota sobre a saúde gastrointestinal é o de explorar a

1 funcionalidade da comunidade microbiana. A análise metabolômica pode melhorar a  
2 compreensão das vias metabólicas complexas, com o objetivo de encontrar novos  
3 biomarcadores para a etiologia, progressão e tratamento de doenças  
4 gastrointestinais (SUCHODOLSKI, 2016).

### 6 **2.1.2 Disbiose intestinal**

7 O termo disbiose refere-se às alterações nas comunidades bacterianas e  
8 desempenha um papel essencial na patogênese de várias doenças intestinais  
9 (PACKEY; SARTOR, 2009; ROUND; MAZMANIAN, 2009; HALL, 2011). A disbiose  
10 tem sido apontada como um fator de risco para exacerbação da inflamação  
11 intestinal. Portanto, o restabelecimento da normobiose é um resultado terapêutico  
12 desejado (SUCHODOLSKI, 2016). Essas alterações são semelhantes à disbiose  
13 observada em seres humanos e em modelos animais de inflamação intestinal  
14 (SOKOL, 2009; SWIDSINSKI, 2008), sugerindo que as respostas microbianas em  
15 estados inflamatórios intestinais são conservadas entre diferentes espécies de  
16 mamíferos. Desta forma, cães podem servir como modelo para estudar abordagens  
17 terapêuticas para condições inflamatórias espontâneas do TGI (HONNEFFER;  
18 MINAMOTO; SUCHODOLSKI, 2014).

19 Disbiose, incluindo sinais clínicos associados, também pode ser induzida por  
20 administração de antibióticos (PÉREZ-COBAS et al., 2013; SUCHODOLSKI, 2016).  
21 Alguns agentes antimicrobianos de amplo espectro, tais como metronidazol,  
22 induzem grandes mudanças na população bacteriana; estas alterações  
23 assemelham-se aos padrões de disbiose que são observados em enterite crônica  
24 (MINAMOTO et al., 2014, 2015; GEVERS et al., 2014).

25 Mudanças na composição da microbiota geram consequências funcionais e  
26 imunológicas para o hospedeiro, mas a extensão dessas mudanças dependerá da  
27 magnitude e o padrão de disbiose (isto é, quais grupos bacterianos são alterados) e  
28 qual localização desta (intestino delgado ou intestino grosso). Um melhor  
29 entendimento destas consequências filogenéticas e funcionais pode resultar numa  
30 melhor compreensão da patogênese da doença (SUCHODOLSKI, 2016).

31 Estudos epidemiológicos em seres humanos têm revelado que disbiose  
32 causada pela administração de fármacos, como antibióticos, anti-inflamatórios,  
33 inibidores da secreção ácida, é um importante fator de risco para algumas doenças  
34 crônicas (GARCIA-MAZCORRO et al., 2012). Exposição precoce aos antibióticos na

1 infância está associada ao desenvolvimento de alergias e obesidade,  
2 presumivelmente devido a disbiose induzida pelo antibiótico (METSALA et al., 2015;  
3 SAARI et al., 2015).

4 Estes dados iniciais em seres humanos, combinado com a melhor  
5 compreensão das propriedades imunomoduladoras da microbiota intestinal,  
6 sugerem que o diagnóstico e correção adequada da disbiose vai se tornar um alvo  
7 terapêutico importante. Isso poderia incluir o uso de dietas e/ou prebióticos  
8 altamente digestíveis, uso de probiótico e agentes antimicrobianos. No entanto,  
9 apenas os dados clínicos atuais, não são suficientes para fazer recomendações para a  
10 escolha da melhor terapia para padrões diferentes de disbiose (SUCHODOLSKI,  
11 2016).

12

### 13 **2.1.3 Interação com vírus**

14 Comumente os vírus entéricos patogênicos interagem com as bactérias  
15 comensais do TGI, podendo haver resultados benéficos ou inibitórios para a  
16 infecção. Apesar da discussão quanto ao uso dos antibióticos em casos de diarreias  
17 virais, há relatos de vírus entéricos que utilizam as bactérias comensais para  
18 aumentar sua virulência. Estes se utilizam de mecanismos que facilitam a infecção  
19 viral direta, incluindo a estabilização bacteriana de partículas virais e a facilitação da  
20 ligação viral para acessar as células-alvo prejudicando a resposta imune anti-viral de  
21 um modo indireto. Isto é, alguns vírus entéricos se utilizam da microbiota intestinal  
22 para a infecção. Embora a influência de bactérias comensais na infecção com os  
23 vírus entéricos tenha sido em grande parte inexplorada até os últimos anos, está  
24 rapidamente se tornando claro que a microbiota intestinal tem grande importância  
25 sobre o resultado de infecções por vírus intestinais (KARST, 2016).

26

### 27 **2.2 Diarreia aguda em cães**

28 Nos cães, as enterites agudas podem ser ocasionadas por agentes  
29 infecciosos, dietas deficientes, mudanças abruptas na alimentação, alimentos  
30 inadequados e parasitas. Na maioria das vezes a causa não é diagnosticada e, com  
31 exceção dos quadros mais graves, os animais melhoram espontaneamente  
32 (WILLARD, 2010). Tal fato raramente é observado em filhotes, que estão mais  
33 sujeitos a adquirir doenças virais e apresentam altas taxas de mortalidade nos casos  
34 de infecção por parvovírus (JU et al., 2012).

1 A terapia sintomática é a mais indicada, com reposição de fluídos e  
2 restabelecimento do equilíbrio eletrolítico e ácido-básico. Uma inflamação intestinal  
3 grave pode levar a vômitos, devendo ser adicionado anti-emético na terapia e, nos  
4 casos de parvovirose, tradicionalmente associa-se antibióticos devido a acentuada  
5 leucopenia (WILLARD, 2010).

### 6 7 **2.2.1 Diarreia responsiva a antibiótico**

8 Nos seres humanos, supercrescimento bacteriano intestinal é definido como  
9 um aumento da contagem de bactérias no intestino delgado (JOHNSTON, 1999).  
10 Em cães, a existência de uma síndrome semelhante está atualmente em debate  
11 (SUCHODOLSKI, 2016).

12 Alguns autores estão usando o termo Diarreia Antibiótico Responsiva (DAR),  
13 uma vez que esta responde ao tratamento com antibiótico (HALL, 2011). Além disso,  
14 um subgrupo de cães com DAR parece reagir especificamente à tilosina; o termo  
15 Diarreia Responsiva a Tilosina (DRT) tem sido proposto para este subgrupo  
16 (WESTERMARCK et al., 2005). Atualmente, nenhuma investigação diagnóstica está  
17 disponível que permita uma melhor definição destes subgrupos. Não é claro se estes  
18 cães têm a mesma síndrome ou se existem subgrupos que poderiam ser  
19 classificados como pequeno supercrescimento bacteriano intestinal, pequena  
20 disbiose intestinal, DRT ou geralmente como DAR.

21 É importante notar que os distúrbios causados pelas bactérias potencialmente  
22 patogênicas, tais como *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Clostridium*  
23 *perfringens* enterotoxigenico e *C. difficile*, não estão incluídos neste grupo  
24 (SUCHODOLSKI, 2016).

25 É difícil de diagnosticar uma pequena disbiose ou uma DAR, já que cultura a  
26 partir de material colhido não é útil e estudos moleculares não foram relatados.  
27 Portanto, não está claro quais os grupos de bactérias que estão alterados. A  
28 tentativa diagnóstica pode ser feita com base em sinais clínicos, alterações nas  
29 concentrações séricas de cobalamina e folato e terapia com antibióticos. No entanto,  
30 uma vez que doenças causadas por patógenos intestinais não identificados podem  
31 responder ao tratamento com antibióticos, uma resposta positiva a terapia não  
32 necessariamente confirma a presença de uma pequena disbiose intestinal  
33 (SUCHODOLSKI, 2016).

## 2.3 Parvovirose

Parvovírus canino (CPV-2) é um vírus DNA fita simples, responsável por uma infecção aguda causando gastroenterite e leucopenia em cães jovens, gatos e carnívoros selvagens, sendo algumas vezes fatal (SPIBEY et al. 2008; DECARO et al., 2009). É o vírus entérico mais importante para cães e parece estar em evolução contínua, gerando novas variantes genéticas e antigênicas em todo o mundo (CASTRO et al., 2010).

O CPV-2 surgiu no final dos anos 1970, causando epizootias em canis e abrigos de todo o mundo. Logo após a sua emergência, o CPV-2 sofreu evolução dando origem consecutivamente a duas variantes antigênicas, CPV-2a e CPV-2b que substituíram progressivamente o tipo original. Em 2000, uma nova variante antigênica, CPV-2c, foi detectada na Itália e rapidamente foi se espalhando para vários países e outros continentes (CASTRO et al., 2010; DECARO et al., 2009; DECARO; BUONAVOGLIA, 2012; PÉREZ et al. 2007; STRECK et al., 2009).

Em cães, as variantes antigênicas, quando comparadas com o CPV-2 original, apresentam maior patogenicidade, tempo prolongado no hospedeiro e são capazes de infectar e causar doenças até mesmo em gatos e espécies selvagens (DECARO; BUONAVOGLIA, 2012; PÉREZ et al., 2007).

O parvovírus canino é um grave patógeno de cães, responsável por ocorrência de alta morbidade e mortalidade, apesar da disponibilidade de vacinas seguras e eficazes (SPIBEY et al., 2008).

Um estudo realizado entre abril de 2008 e julho de 2010, reuniu 144 amostras de fezes de cães com ou sem diarreia de 20 cidades de seis estados do Brasil, com idade variando entre um mês e um ano de vida, identificou 42/144 (29,16%) positivos para CPV-2 e destes, 30/42 (71,43%) apresentavam gastroenterite hemorrágica (PINTO et al., 2012), demonstrando a alta prevalência da doença em nosso país e a possibilidade de infecção assintomática.

A emergência e ampla disseminação de variantes de CPV com diferentes propriedades epidemiológicas e antigênicas não tem apenas relevância evolutiva, mas também representa uma ameaça sanitária considerável em todo o mundo (PÉREZ et al., 2007). A detecção e caracterização das cepas de parvovírus canino (CPV-2) que circulam são essenciais para a compreensão da evolução viral e o desenvolvimento de medidas para controlar sua disseminação (PINTO et al., 2012).

1 No mundo todo, o CPV é um dos vírus mais comuns para causar sinais  
2 clínicos agudos entéricos, tais como vômitos, anorexia e diarreia (com ou sem  
3 sangue) em cães jovens até seis meses de idade, mesmo em animais vacinados  
4 (CASTRO et al., 2010; CASTRO et al., 2013). Aliado a estes, comumente os animais  
5 apresentam leucopenia, febre e letargia, havendo altas taxas de mortalidade em  
6 filhotes (JU et al., 2012; SPIBEY et al. 2008).

7 O prognóstico depende da condição do animal e pode ser influenciado pela  
8 sua idade. Animais muito jovens ou emaciados e aqueles com Síndrome de  
9 Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS) tem um prognóstico reservado, mas  
10 havendo a terapia adequada e se os animais sobreviverem aos primeiros quatro dias  
11 dos sinais clínicos o prognóstico é considerado bom (WILLARD, 2010).

#### 12

#### 13 **2.4 Transplante de Microbiota Fecal**

14 A proposta de repor a microbiota intestinal representa uma promessa como  
15 meio terapêutico na medicina veterinária, e estudos recentes confirmam que,  
16 manipulações diretas ou indiretas do microbiota intestinal por meio de antibióticos,  
17 dieta e / ou probióticos podem ter efeitos benéficos nas doenças gastrointestinais de  
18 cães (KELLEY et al., 2009; RAMADAN et al., 2014; ROSSI et al., 2014).

19 O TMF é caracterizado pela deposição de uma solução de fezes de um  
20 doador saudável no intestino de um paciente doente, restaurando a microbiota  
21 (GOUGH; SHAIKH; MANGES, 2011). Em poucos dias, a composição bacteriana  
22 intestinal do receptor poderá assemelhar-se a do doador havendo resolução da  
23 diarreia (KHORUTS et al., 2010).

24 O primeiro relato de seu uso em humanos foi em 1958, como adjuvante em  
25 colite pseudomembranosa (EISEMAN et al., 1958 apud GOUGH; SHAIKH;  
26 MANGES, 2011, p.994).

27 Embora o mecanismo exato da ação do TMF ainda permaneça desconhecido,  
28 acredita-se que este restaura a composição e a função da microbiota do receptor  
29 (GOUGH; SHAIKH; MANGES, 2011), fato que está sendo comprovado por estudos  
30 atuais (HAMILTON et al., 2013; JALANKA et al., 2016).

31 Ainda não há uma técnica padrão para o TMF, mas as fezes do doador  
32 podem ser usadas frescas ou congeladas, diluídas em água ou solução salina sem  
33 perda da eficácia (GOUGH; SHAIKH; MANGES, 2011; HAMILTON et al., 2012).

1           Em humanos, a solução com fezes é depositada no TGI mediante enemas,  
2 tubo nasogástrico (ou nasojejunal) ou por gastro, jejuno ou colonoscopia. Por ser  
3 seguro e acessível, o TMF está sendo usado em larga escala na medicina humana  
4 em casos de infecção recorrente por *Clostridium difficile*, colite pseudomembranosa,  
5 doença inflamatória intestinal e síndrome do intestino irritável (GOUGH; SHAIKH;  
6 MANGES, 2011; HAMILTON et al., 2013; KASSAM et al., 2014). Já foi provado que  
7 a mudança da microbiota é rápida e duradoura, ocorrendo a partir do 3º dia pós-TMF  
8 e permanecendo durante acompanhamentos de até um ano (JALANKA et al., 2016).

9           O uso de TMF foi descrito em cães com diarreia crônica (MURPHY;  
10 CHAITMAN; HAN, 2014; WEESE; COSTA; WEBB, 2013).

11           Na maioria das vezes, antibióticos são utilizados no tratamento das diarreias,  
12 o que pode agravar a disbiose intestinal (SUCHODOLSKI et al., 2009). O TMF pode  
13 minimizar os efeitos destes e restaurar a microbiota alterada pelo estado inflamatório  
14 causado pela doença. Na literatura consultada, não foram encontrados relatos sobre  
15 seu uso nos casos de diarreia hemorrágica aguda. Portanto, estudos clínicos  
16 controlados são necessários para que se possa comprovar a eficácia e segurança  
17 do uso do TMF na espécie canina.

18

19

### 3. JUSTIFICATIVA

A gastroenterite hemorrágica por agentes virais ou outra causa é sinal de afecção grave, frequente e com grande potencial para mortalidade nos cães filhotes, representando alta demanda nos atendimentos clínicos referentes a pequenos animais (SANTOS, 2006). O CPV-2 está entre as principais causas de diarreia, sendo considerado o vírus entérico mais importante em cães (CASTRO et al., 2010).

A caracterização epidemiológica e a identificação das causas da diarreia são de suma importância para permitir a escolha adequada do tratamento e para se evitar o uso indiscriminado de antibióticos, uma vez que essa prática contribui para o desequilíbrio da microbiota intestinal (PÉREZ-COBAS et al., 2013), a qual é fundamental para saúde do hospedeiro.

A alta incidência de gastroenterite hemorrágica por parvovirose em cães em áreas de clima quente como na região de Londrina, representa um estímulo para se pesquisar a respeito da eficácia do TMF em cães com diarreia aguda acometidos pelo CPV-2, o que é extremamente relevante uma vez que não há informações dessa natureza na literatura.

Como o TMF tem sido usado com sucesso em seres humanos com diarreia (JALANKA et al., 2016), estudos clínicos controlados são necessários para que se possa comprovar a eficácia e segurança do uso do TMF na espécie canina.

Baseado na literatura atual, o tipo de tratamento proposto proporciona melhora clínica rápida e possui baixo custo, entretanto, os aspectos estudados até o momento estão relacionados com quadros crônicos em seres humanos e animais.

Na medicina veterinária as pesquisas também têm sido direcionadas para os casos de doença inflamatória intestinal. Portanto, a realização de um estudo focado em gastroenterite hemorrágica aguda é inédito e pode ser promissor, investigando pela primeira vez o procedimento de TMF nesses casos, podendo causar melhora clínica e diminuição da taxa de mortalidade vinculada a esta afecção.

#### 1 **4 HIPÓTESE**

2

3 A terapia adjuvante com transplante de microbiota fecal em cães com  
4 gastrenterite hemorrágica não resulta em recuperação clínica precoce e diminuição  
5 da mortalidade.

6

7

## 1 **5 OBJETIVOS**

2

### 3 **5.1 Geral**

4

5 Avaliar a melhora clínica de cães com gastroenterite hemorrágica aguda  
6 tratados com transplante de microbiota fecal.

7

### 8 **5.2 Específicos**

9

- 10 1. Identificar as amostras de fezes positivas para parvovirus canino (CPV-2).
- 11 2. Investigar possíveis efeitos colaterais do transplante de microbiota fecal  
12 em cães filhotes com gastroenterite hemorrágica aguda.
- 13 3. Comparar o tempo de recuperação clínica e a mortalidade de cães com  
14 gastroenterite hemorrágica recebendo o transplante de microbiota fecal com  
15 um grupo controle.
- 16 4. Investigar a evolução da consistência das fezes após o transplante de  
17 microbiota fecal nos casos de gastroenterite hemorrágica refratária ao  
18 tratamento convencional.
- 19 5. Determinar a ocorrência de endoparasitas em cães com gastroenterite.

20

21

## 6 ARTIGO CIENTÍFICO

### TRANSPLANTE DE MICROBIOTA FECAL ANTECIPA A MELHORA CLÍNICA EM CÃES COM GASTREENTERITE HEMORRÁGICA

#### RESUMO

A diarreia está entre os problemas mais comuns que acometem os cães e em muitos casos não há um diagnóstico e tratamento específico. A terapia sintomática é a de eleição, mas em filhotes com doenças infecciosas pode haver prolongado tempo para melhora do quadro e alta taxa de mortalidade. O tratamento adjuvante com a reposição de bactérias intestinais tem sido promissor em medicina humana e veterinária. Assim sendo, o objetivo desse trabalho foi investigar o efeito do transplante de microbiota fecal na recuperação clínica de cães filhotes com gastreenterite hemorrágica aguda. Foram avaliados 66 cães com diarreia atendidos em dois hospitais veterinários escola do norte do Paraná, Brasil. Todos os animais foram submetidos a terapia convencional para o tratamento da diarreia e aleatoriamente distribuídos em dois grupos: tratamento (TMF) e controle (CON). Os denominados de controle (n=33) receberam apenas a terapia padrão e o grupo TMF (n=33) recebeu adicionalmente o transplante de microbiota fecal. O número de pacientes de cada grupo que recebeu alta hospitalar ou foi a óbito foi comparado pelo teste do Qui-Quadrado. O tempo em dias para melhora clínica em relação a diarreia e o tempo para alta hospitalar, pelo teste de Mann-Whitney. O transplante foi associado com menor tempo de internamento devido a melhora clínica dos animais tratados ( $p=0,0007$ ). A mortalidade foi numericamente maior entre os filhotes que não receberam o tratamento, 18,18% (12/33), comparado com os transplantados, 10,6% (7/33), mas não houve diferença estatística entre os grupos ( $p=0,174$ ). O TMF mostrou-se uma técnica segura para ser realizada em filhotes com diarreia por parvovirose já que efeitos colaterais associados ao tratamento não foram detectados.

**Palavras chave:** cães, microbiota, fecal, parvovírus, CPV.

## 1 INTRODUÇÃO

2  
3 A diarreia está entre os problemas mais comuns que acometem os cães  
4 filhotes. No Brasil ela usualmente é causada por infecções virais e a detecção  
5 precoce dessas afecções pode evitar retardo no crescimento de filhotes e evolução  
6 para formas graves da doença (GARCIA et al., 2000; GRELLET et al., 2016). Em  
7 quadros mais graves, a referida alteração pode levar o paciente a um estado crítico  
8 e, em alguns casos, está relacionada à altas taxas de morbidade e mortalidade,  
9 como acontece na parvovirose (PINTO et al., 2012; SPIBEY et al., 2008).

10 O trato gastrointestinal (TGI) de cães é colonizado por uma imensa população  
11 de microrganismos que são coletivamente chamados de microbiota, a qual é  
12 composta por bactérias, fungos, vírus e protozoários (SUCHODOLSKI, 2016).

13 A microbiota intestinal beneficia o hospedeiro, agindo como barreira de defesa  
14 contra enteropatógenos, regulando o sistema imune, digerindo fibras complexas  
15 fornecendo suporte nutricional para os enterócitos e estimulando a motilidade  
16 gastrointestinal (KARST, 2016; SUNVOLD et al. 1995).

17 Recentemente, estudos moleculares têm avaliado as comunidades  
18 bacterianas do TGI canino e têm mostrado a presença de alterações nas  
19 comunidades microbianas (disbiose intestinal), em cães com doenças  
20 gastrointestinais (MINAMOTO et al., 2014).

21 Assim como em humanos, foi demonstrado que em cães, doenças  
22 gastrointestinais agudas e crônicas estão associadas com alterações nas  
23 comunidades microbianas intestinais (ALLENSPACH et al., 2010; HONNOFFER;  
24 MINAMOTO; SUCHODOLSKI, 2014). Embora seja possível a recuperação  
25 espontânea da microbiota, não é garantido que ela ocorra em todos os casos. Várias  
26 estratégias têm sido utilizadas para restaurar esta microbiota, como o uso de  
27 probióticos, prebióticos ou até mesmo o transplante do ecossistema microbiano  
28 inteiro, a partir de fezes de um indivíduo sadio, processo este denominado de  
29 “transplante de microbiota fecal” (TMF) ou “bacterioterapia” (GOUGH; SHAIKH;  
30 MANGES, 2011).

31 O TMF se mostrou promissor para o tratamento de diarreia crônica em cães  
32 em um estudo piloto, sendo a resposta clínica consistente com uma mudança  
33 acentuada na microbiota fecal após o tratamento (WEESE; COSTA; WEBB, 2013).  
34 Esta prática tem sido cada vez mais adotada em seres humanos acometidos por

1 enterocolites, porém dados que caracterizem a colonização eficaz pela microbiota  
2 transplantada são limitados (MURPHY; CHAITMAN; HAN, 2014; WEINGARDEN et  
3 al., 2015).

4 A proposta de repor a microbiota intestinal representa uma promessa como  
5 meio terapêutico na medicina veterinária. Estudos recentes comprovam que  
6 manipulações diretas ou indiretas da microbiota intestinal, por meio de antibióticos,  
7 dieta e / ou probióticos podem ter efeitos benéficos nas doenças gastrointestinais de  
8 cães (KELLEY et al., 2009; RAMADAN et al., 2014; ROSSI et al., 2014).

9 Em humanos com infecção recorrente por *Clostridium difficile*, o TMF resultou  
10 na normalização rápida da composição bacteriana fecal a partir de um estado  
11 disbiótico a um estado normal (JALANKA et al., 2016; WEINGARDEN et al., 2015).  
12 Nestes, o TMF foi eficiente em solucionar em poucos dias até 92% dos casos  
13 (GOUGH; SHAIKH; MANGES, 2011).

14 O presente estudo foi desenvolvido para testar a hipótese de que o TMF é  
15 seguro e eficaz na melhora clínica e redução de óbitos de cães com gastroenterite  
16 hemorrágica aguda.

## 18 MATERIAL E MÉTODOS

### 20 Delineamento experimental e local de estudo

21 Foram avaliados 66 cães com gastroenterite hemorrágica aguda, no período  
22 de julho de 2015 a agosto de 2016, provenientes do atendimento de rotina de dois  
23 Hospitais Veterinários (HV1 e HV2) escola da região norte do Paraná, não havendo  
24 restrição quanto ao sexo e raça, porém, em relação à idade foram incluídos apenas  
25 animais com até um ano de vida.

26 Dos 66 cães avaliados, 33 (50%) foram alocados no grupo TMF e 33 (50%)  
27 no grupo CON de forma aleatória.

28 Todos os cães atendidos foram submetidos a terapia convencional (suporte)  
29 composta de fluidoterapia intravenosa com soluções poliônicas/isotônicas (Ringer  
30 com lactato ou Cloreto de sódio a 0,9% acrescidos de Cloreto de potássio) em taxa  
31 de infusão que variou de 50 a 150 ml/kg/24horas, além de anti-eméticos  
32 (ondansetrona 0,2 mg/kg/8horas via endovenosa ou maropitant 1 mg/kg/24horas via  
33 subcutânea), protetores gástricos (ranitidina 3mg/kg/12horas, via subcutânea) e  
34 antibióticos endovenosos (cefalotina 30 mg/kg/12horas ou sulfa + trimetoprima 30

1 mg/kg/12horas, associados ou não ao metronidazol 25 mg/kg/24horas). Os animais  
2 foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos: tratamento (TMF) e controle  
3 (CON). Os denominados de controle (n=33) receberam apenas a terapia padrão e o  
4 grupo TMF (n=33) recebeu adicionalmente o transplante de microbiota fecal. Os  
5 grupos foram sublocados de acordo com o local de atendimento em Tratamento  
6 Hospital Veterinário 1 (THV1, n=17) e 2 (THV2, n=16) e o grupo Controle Hospital  
7 Veterinário 1 (CHV1, n=17) e 2 (CHV2, n=16).

8 Inicialmente, um formulário foi utilizado, caracterizando cada paciente quanto  
9 à idade, sexo, hábito alimentar, evolução do quadro diarreico, histórico de vacinação  
10 e administração de vermífico (Anexo 1).

11 Após o internamento, exames físicos foram realizados diariamente  
12 (temperatura, frequências cardíaca e respiratória, postura, nível de consciência e  
13 apetite) e informações coletadas com o serviço de enfermagem para acompanhar e  
14 evolução do quadro (Anexo 2).

15 Em relação à característica das fezes, foram realizados registros da  
16 consistência/formato fecal a cada 24 horas, sendo classificadas em diarreia líquida,  
17 pastosa, fezes normais ou ausência de fezes até o momento da alta hospitalar.

18 O trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais das duas  
19 instituições. Os guardiões dos animais consentiram a participação dos mesmos na  
20 pesquisa e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para Pesquisa  
21 (Anexo 3).

22

### 23 **Coleta de amostra biológica e processamento**

24 Durante o atendimento inicial, amostras sanguíneas foram coletadas de  
25 todos os pacientes e acondicionadas em tubos com EDTA para a realização de  
26 hemograma completo. A primeira amostra de fezes de cada paciente foi obtida por  
27 defecação espontânea, armazenada em tubo coletor universal e refrigerada em  
28 geladeira convencional a 6°C para a realização de exames coproparasitológicos em  
29 no máximo 48 horas.

30 A detecção do parvovírus nas fezes foi realizada pela técnica de PCR a  
31 partir de material colhido por meio de swab retal obtido durante a consulta. Os  
32 swabs foram acondicionados em tubos plásticos e congelados a -80°C até a  
33 realização dos exames.

1 As fezes para o TMF foram obtidas de um cão saudável de seis anos de  
2 idade (doador) do canil da instituição, por meio de defecação espontânea. Os  
3 critérios de inclusão para o cão doador foram os seguintes: alimentação exclusiva  
4 com ração comercial, esquema de imunização e desverminação completos; não ter  
5 recebido tratamento com antibióticos nem apresentado episódio de vômito e/ou  
6 diarreia nos últimos seis meses de vida. O doador foi submetido a avaliações  
7 clínicas e laboratoriais antes e durante o experimento, realização de hemograma,  
8 exames bioquímicos séricos e coproparasitológico. Além disso, foi submetido a PCR  
9 para exclusão de parvovírus, vírus da cinomose e *Ehrlichia canis*.

10 As fezes do doador foram colhidas diariamente ao longo de duas semanas,  
11 divididas em alíquotas de 10 gramas e congeladas a – 20°C. Este procedimento foi  
12 realizado com o intuito de minimizar variações normais da microbiota do doador que  
13 podem ocorrer ao longo do tempo, para que todos os pacientes recebessem o TMF  
14 com uma microbiota semelhante.

#### 15

#### 16 **Análise das amostras**

17 As técnicas empregadas para os exames coproparasitológicos foram Willis  
18 (1921), Hoffman, Pons e Janer (1934), Faust modificada (De CARLI, 2001) e Ziehl-  
19 Neelsen modificada (HENRIKSEN; POLENZ, 1981).

20 A extração do ácido nucléico, a PCR para detecção de parvovirus canino  
21 (CPV-2) e o sequenciamento dos produtos amplificados na PCR foram realizados  
22 conforme as técnicas descritas por Alfieri et al. (2006) e Hong et al. (2007).

#### 23

#### 24 **Procedimento do Transplante de Microbiota Fecal**

25 Para realização do TMF, foram diluídos 10 gramas de fezes do doador em  
26 10 mL de solução de cloreto de sódio 0,9% (Figura 1), que foi aspirada em seringa  
27 de 20 mL, conectada a sonda uretral nº 08, introduzida via anal e o conteúdo  
28 depositado na porção proximal do reto (Figura 2).

29 O animal foi mantido em decúbito lateral por dois minutos com a pelve  
30 elevada a aproximadamente 45° da superfície, para auxiliar a difusão do conteúdo  
31 transplantado por gravidade (Figura 3). A primeira aplicação do TMF em cada  
32 paciente foi realizada entre 6 a 12 horas pós-internamento e repetido a cada 48  
33 horas até a resolução da diarreia ou por um total de cinco aplicações.

- 1 Figura 1 - Fezes do doador canino diluídas em soro fisiológico para realização do TMF.



2

3 Fonte: arquivo pessoal.

4

- 5 Figura 2 - Sonda uretral sendo introduzida via retal em paciente canino durante o TMF.



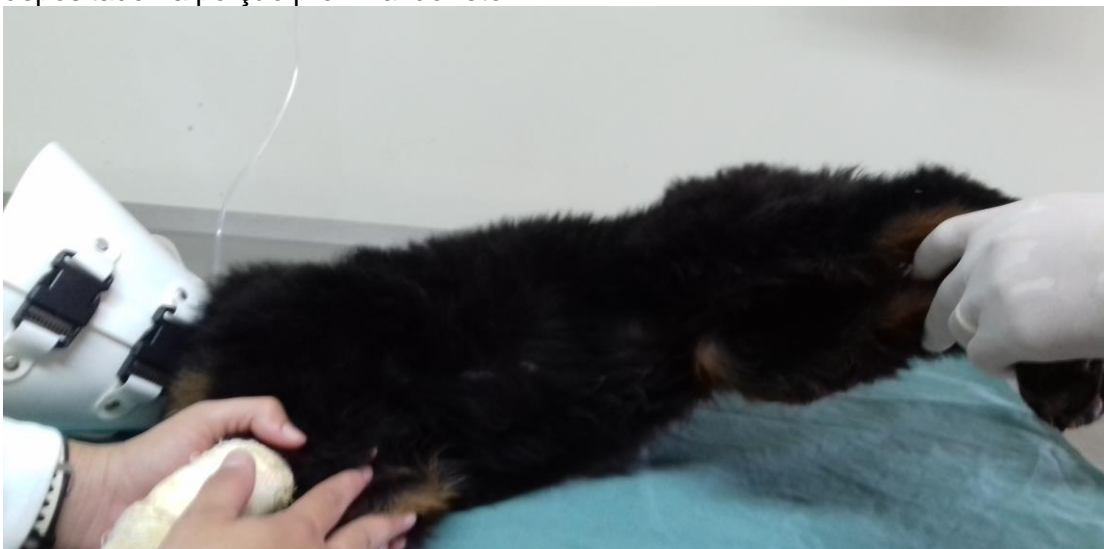
6

7 Fonte: arquivo pessoal.

8

- 9 Figura 2 - Paciente canino com a pele elevada para auxiliar a progressão do conteúdo fecal depositado na porção proximal do reto.

10



11

12 Fonte: arquivo pessoal.

## 1 **Análise estatística**

2

3 A análise estatística em relação à mortalidade entre os grupos foi comparada  
4 pelo teste do Qui-Quadrado. Para comparar o tempo de internamento e para  
5 resolução da diarreia, foi utilizada metodologia não paramétrica, aplicando-se o  
6 Teste de Mann-Whitney, através do programa Minitab® 16.

7

## 8 **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

9

10 Dentre os animais do grupo controle (CON), 17/33 (51,52%) eram machos e  
11 16/33 (48,48%) fêmeas, com idades variando de 2 a 9 meses (média 3,7; mediana  
12 3; desvio padrão 1,86), sendo 24/33 (72,72%) cães com raça definida e 9/33  
13 (27,28%) sem definição racial. Dos animais do grupo tratamento (TMF), 20/33  
14 (60,60%) eram machos e 13/33 (39,40%) fêmeas, com idades variando de 2 a 12  
15 meses (média 5,2; mediana 4; desvio padrão 2,54), sendo 18/33 (54,55%) com raça  
16 definida e 15/33 (45,45%) sem definição racial. Os pacientes que evoluíram para  
17 óbito (19/66 [28,78%]) foram excluídos do trabalho, ou seja, permaneceram 21 de 33  
18 animais no CON e 26 de 33 no TMF.

19 O TMF demonstrou ser um procedimento seguro não havendo qualquer  
20 reação adversa nos animais estudados. Mesmo se tratando de filhotes, o  
21 desconforto durante o procedimento foi mínimo não havendo necessidade de  
22 contenção física vigorosa, sedação ou analgesia.

23 A resolução da diarreia também foi considerada um dos fatores para  
24 inferência quanto a recuperação clínica dos pacientes e parâmetro para determinar a  
25 eficácia do TMF. Para tanto, foi registrado se houve evolução para fezes de  
26 consistência firme ou ausência de conteúdo fecal no momento da alta hospitalar. No  
27 grupo controle (CON) 21/33 (63,63%), apenas 1/21 (4,8%) apresentou fezes de  
28 evoluindo de líquidas para pastosas, firmes ou com ausência de conteúdo em 48  
29 horas após a hospitalização, enquanto que no grupo TMF 26/33 (78,78%), 16/26  
30 (61,5%) cães apresentaram este sinal de melhora nas primeiras 48 horas de  
31 internamento, isto é, com apenas uma aplicação de TMF. Neste mesmo parâmetro,  
32 9/21 (42,8%) cães do grupo controle e 8/26 (30,8%) do grupo TMF demonstraram  
33 melhora entre 72 e 96 horas e, 11/21 (52,38%) cães do grupo CON enquanto

1 apenas 2/26 (7,7%) cães do grupo TMF apresentaram esse tipo de melhora após  
2 120 horas de internamento (Figura 4).

3 Em relação à quantidade de aplicações de TMF necessárias para  
4 recuperação clínica, ou seja, resolução da diarreia e presença de fezes normais,  
5 verificou-se que 16/26 (61,5%) cães necessitaram de apenas uma aplicação para  
6 apresentar recuperação clínica, 8/26 (30,8%) duas e 2/26 (7,7%) três aplicações,  
7 não sendo necessário utilizar a quarta ou quinta aplicação. Perante esses  
8 resultados, houve diferença estatística entre os grupos sendo  $p = 0,0001$  (Tabela 1).

9 Outro parâmetro de avaliação foi o tempo de hospitalização dos cães. No  
10 grupo CON a média, mediana e desvio padrão dos dias de internamento foi 5,57;  
11 6,00 e 2,76 respectivamente, e no grupo TMF a média de dias hospitalizado foi 3,30,  
12 mediana 3,00 e desvio padrão 1,49, demonstrando, evidente diferença estatística  
13 ( $p=0,0007$ ). Essa diferença infere-se que esteja relacionada à reconstituição da  
14 microbiota bacteriana intestinal após o TMF (ALLENSPACH et al., 2010;  
15 HONNOFFER; MINAMOTO; SUCHODOLSKI, 2014; WEESE; COSTA; WEBB,  
16 2013).

17 A taxa de mortalidade nos cães tratados com TMF foi de 7/33 (21,21%) e de  
18 12/33 (36,36%) no grupo CON (Figura 5). Sabe-se que a mortalidade é alta em cães  
19 com parvovirose, podendo alcançar 36% em cães tratados e até 91% em animais  
20 sem tratamento (OTTO, 1997). Ambos os grupos responderam bem a terapia, mas  
21 houve quase o dobro de óbitos no grupo CON, reforçando a hipótese proposta  
22 nesse estudo de que o TMF pode auxiliar na diminuição da mortalidade de cães com  
23 gastroenterite hemorrágica causada por parvovírus. Os menores índices de  
24 mortalidade entre os animais que receberam o TMF podem ser explicados pelo fato  
25 de que o procedimento foi associado com a resolução precoce da diarreia,  
26 quebrando assim o ciclo de desequilíbrios hídrico e eletrolíticos, possibilitando a  
27 melhora clínica e conseqüente diminuição da mortalidade. Apesar da diferença  
28 numérica, não houve diferença estatística entre os grupos ( $p=0,174$ ), sendo este  
29 resultado provavelmente decorrente do número reduzido de animais utilizados no  
30 estudo. Os dados comparativos entre o número de altas e óbitos dos grupos CON e  
31 TMF estão representados na Tabela 2.

32 Weese, Costa e Webb (2013) relataram o uso do TMF em um cão com  
33 diarreia crônica e Murphy, Chaitman e Han (2014) em oito cães com diarreia  
34 refratária por *Clostridium perfringens*, todos com sucesso. No presente, estudo o

1 TMF foi utilizado pela primeira vez em cães com quadros agudos de diarreia tendo a  
2 parvovirose como agravante ou causa de base. É importante ressaltar que filhotes  
3 com gastroenterite hemorrágica são considerados críticos e necessitam de terapia  
4 intensiva, o que difere das condições relacionadas com diarreia crônica, condição  
5 que talvez explique o fato dos resultados em medicina humana terem sido mais  
6 promissores, ou seja, a causa de base da diarreia usualmente está relacionada a  
7 menores índices de mortalidade. Além disso, no presente estudo todos os cães  
8 receberam antibióticos respeitando o protocolo convencional de tratamento para  
9 cães com gastroenterite hemorrágica, fator que pode ter ocasionado algum grau de  
10 disbiose (SUCHODOLSKI et al., 2009), prejudicando a eficácia do TMF. Futuros  
11 estudos microbiológicos são necessários para investigar a colonização pelas  
12 bactérias transplantadas. De fato, o uso empírico e excessivo de antimicrobianos,  
13 deve ser evitado em casos de diarreia, pois pode agravar a disbiose (MINAMOTO et  
14 al., 2014, 2015; GEVERS et al., 2014). Outro motivo é o surgimento de bactérias  
15 multirresistentes na medicina veterinária e humana. Portanto, futuros esforços  
16 devem ser realizados para o desenvolvimento de abordagens alternativas para o  
17 tratamento de tais doenças (BRADLEY et al., 2016).

18 Em relação aos dados hematológicos verificou-se que 60/66 (90,90%)  
19 animais apresentaram leucopenia grave no momento da admissão, sendo 31/33  
20 (93,33%) do grupo CON e 29/33 (87,87%) do grupo TMF, não permitindo  
21 diferenciação adequada quanto ao tipo celular. Existem evidências de que a  
22 infecção pelo CPV-2 não necessariamente vem acompanhada de linfopenia  
23 (SPIBEY et al., 2008), por isso o diagnóstico não deve se basear apenas nas  
24 alterações do hemograma.

25 Das 66 amostras coletadas para o estudo, 64/66 (96,96%) foram positivas  
26 para CPV-2b, demonstrando a alta prevalência deste em cães filhotes com diarreia  
27 aguda na região norte do Paraná. Santos (2006) examinou 150 amostras de cães  
28 com diarreia aguda nesta mesma localidade, independentemente da idade,  
29 relatando a presença de CPV-2 em 61/150 (40,7%) casos, sendo 55/61 (90,1%)  
30 destes em filhotes até um ano de idade. Tal fato, ressalta a importância de um  
31 esquema de vacinação profilático na mãe e, posteriormente, nos filhotes visto que o  
32 CPV-2 acomete principalmente cães filhotes e jovens.

33 No Brasil, a presença do parvovírus canino do tipo 2a e 2b já havia sido  
34 descrita, contudo, ainda não havia sido verificada a presença do tipo 2c até o ano de

1 2009. Em um estudo realizado com amostras colhidas no ano de 2008 no Rio  
2 Grande do Sul, aproximadamente 80% foram caracterizadas como CPV-2c  
3 (STRECK et al., 2009). Em outro estudo avaliando amostras fecais de cães filhotes  
4 de seis estados houve aproximadamente 30% de amostras positivas para CPV,  
5 sendo que 71,4% destes tinham sinais de gastroenterite hemorrágica. Entre as  
6 amostras positivas, 78,6% eram do tipo 2c, 19% do tipo 2b e 2,4% do tipo 2a. A  
7 análise filogenética das variantes circulantes na população canina brasileira mostrou  
8 que elas são muito semelhantes às encontradas em outros países e o tipo 2c tornou-  
9 se o predominante circulando no Brasil (PINTO et al., 2012). No entanto, no  
10 presente estudo, todos os CPVs foram do tipo 2b, exceto em dois animais do grupo  
11 THV1 que tinham histórico, hemograma e sinais clínicos compatíveis com  
12 parvovirose, mas com PCR negativos.

13 Apenas 3/59 (5%) animais apresentaram resultado positivo para o teste  
14 coproparasitológico, sendo um dos animais do grupo THV2 com *Toxocara* sp. e dois  
15 do grupo CHV1, um com *Toxocara* sp e outro com *Entamoeba* sp., demonstrando  
16 que algumas doenças, responsáveis por ocasionar diarreia em cães a exemplo de  
17 giardíase e/ou isosporíase, toxocaríase e ancilostomíase (GARCIA et al., 2000),  
18 parecem ter baixa ocorrências em cães com gastroenterite atendidos nessa região.  
19 Em sete cães do grupo CHV1 não foram realizados exames coproparasitológicos.  
20 Em um estudo com 150 cães com diarreia aguda realizado na mesma região, 44/150  
21 (29,3%) dos cães estavam infectados por helmintos e/ou protozoários, havendo  
22 relação estatisticamente significativa entre o parasitismo e ocorrência de diarreia  
23 (SANTOS et al., 2007). Esta divergência pode estar relacionada às diferenças de  
24 idades das populações estudadas ou à maior conscientização de proprietários que  
25 passaram a aderir a protocolos de desverminação.

26 O TMF nas condições propostas para essa pesquisa é de fácil aplicabilidade,  
27 baixo custo podendo ser empregado em situações que há restrição financeira e  
28 proporcionou a obtenção de resultados inéditos em relação ao tratamento de cães  
29 com gastroenterite hemorrágica por parvovirose, diminuindo o tempo de permanência  
30 do paciente no hospital. Esses fatores são promissores no que tange à recuperação  
31 dos animais perante uma doença com alto índice de mortalidade e em relação aos  
32 custos com o tratamento.

## 34 CONCLUSÕES

1  
2 O TMF foi associado a recuperação clínica mais rápida e diminuição no  
3 período de hospitalização e mostrou-se uma técnica segura para ser realizada em  
4 cães com gastroenterite hemorrágica aguda.

5 Novos estudos caracterizando a microbiota do doador e do receptor são  
6 necessários para o melhor entendimento dos mecanismos de ação deste  
7 procedimento.

## 8 9 **REFERÊNCIAS**

10  
11 ALFIERI, A.A.; PARAZZI, M.E.; TAKIUCHI, E.; MÉDICI, K.C.; ALFIERI, A.F.  
12 Frequency of group A rotavirus in diarrheic calves in Brazilian cattle herds, 1998-  
13 2002. **Tropical Animal Health and Production**, n. 38, p. 521-526, 2006.

14  
15  
16 ALLENSPACH, K.; HOUSE, A.; SMITH, K.; MCNEILL, F.M.; HENDRICKS, A.;  
17 ELSON-RIGGINS, J.; RIDDLE, A.; STEINER, J.M.; WERLING, D.; GARDEN, O.A.  
18 CATCHPOLE, B.; SUCHODOLSKI, J.S. Evaluation of mucosal bacteria and  
19 histopathology, clinical disease activity and expression of Toll-like receptors in  
20 German shepherd dogs with chronic enteropathies. **Veterinary Microbiology**, n.  
21 146, p. 326-335, 2010.

22  
23  
24 BRADLEY, C.W.; MORRIS, D.O.; RANKIN, S.C.; CAIN, C.L.; MISIC, A.M.;  
25 HOUSER, T.; MAULDIN, E.A.; GRICE, E.A. Longitudinal evaluation of the skin  
26 microbiome and association with microenvironment and treatment in canine atopic  
27 dermatitis. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 136, n. 6, p. 1182-1890,  
28 jun. 2016.

29  
30  
31 CASTRO, T.X.; COSTA, E.M.; LEITE, J.P.G.; LABARTHE, N.V.; CUBEL GARCIA,  
32 R.C.N. Parcial VP2 sequencing of canine parvovirus (CPV) strains circulating in the  
33 state of Rio de Janeiro, Brazil: detection of the new variant CPV-2c. **Brazilian**  
34 **Journal of Microbiology**, n. 41, p. 1093-1098, 2010.

35  
36  
37 De CARLI, G.A. **Parasitologia Clínica: seleção de métodos e técnicas de**  
38 **laboratório para o diagnostic dos parasitos humanos.** São Paulo: Ed. Atheneu, 2001.

39  
40  
41 GARCIA, R.C.N.C.; PINTO, A.M.V.; COSTA, A.P.; MACIEL, B.M.; OLIVEIRA, L.H.S.;  
42 NASCIMENTO, J.P.; SANTOS, A.O.; CASTRO, M.C.N.; WILLI, L.M.V.; LABARTHE,  
43 N.V. Canine parvovirus infection in puppies with gastroenteritis in Niterói, Rio de  
44 Janeiro, Brazil from 1995 to 1997. **Brazilian Journal of Veterinary Research and**  
45 **Animal Science**, v. 37, n. 2, p. 56-68, 2000.

1  
2  
3 GEVERS, D., KUGATHASAN, S., DENSON, L.A., VAZQUEZ-BAEZA, Y., VAN  
4 TREUREN, W., REN, B., SCHWAGER, E., KNIGHTS, D., SONG, S.J., YASSOUR,  
5 M., et al. The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn's disease. **Cell Host  
6 and Microbe**, n. 15, p. 382–392, 2014.

7  
8  
9 GOUGH, E.; SHAIKH, H.; MANGES, A.R. Systematic review of intestinal microbiota  
10 transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection.  
11 **Clinical Infectious Diseases**, v. 53, n. 10, p. 994-1002, nov. 2011.

12  
13  
14 GRELLET, A.; HEILMANN, R.M.; POLACK, B.; FEUGIER, A.; BOUCRAUT-  
15 BARALON, C.; GRANDJEAN, D.; GRUTZNER, N.; SUCHODOLSKI, J.S.; STEINER,  
16 J.M.; CHASTANT-MAILLARD, S. Influence of Breed Size, Age, Fecal Quality, and  
17 Enteropathogen Shedding on Fecal Calprotectin and Immunoglobulin A  
18 Concentrations in Puppies During the Weaning Period. **Journal of Veterinary  
19 Internal Medicine**, v. 30, n. 4, p. 1056-1064, jul. 2016.

20  
21  
22 GUARD, B.C.; BARR, J.W.; REDDIVARI, L.; KLEMASHEVICH, C.; JAYARAMAN, A.;  
23 STEINER, J.M.; VANAMALA, J.; SUCHODOLSKI, J.S. Characterization of Microbial  
24 Dysbiosis and Metabolomic Changes in Dogs with Acute Diarrhea. **PLOS One**, v. 10,  
25 n. 5, p. 1-24, 2015.

26  
27  
28 HALL, E.J. Antibiotic-responsive diarrhea in small animals. **Veterinary Clinics of  
29 North America Small Animal Practice Journal**, n. 41, p. 273–286, 2011.

30  
31  
32 HENRIKSEN, S.A.; POLENZ, J. Staining of Cryptosporidia by a modified Ziehl-  
33 Neelsen technique. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 22, p. 294-269, 1981.

34  
35  
36 HOFFMAN, W.A.; PONS, J.A.; JANER, J.L. The sedimentation concentration method  
37 in schistosomiasis mansoni. **Journal of Public Health**, v.9, p.238-291, 1934.

38  
39  
40 HONG, C.; DECARO, N.; DESARIO, C.; TANNER, P.; PARDO, M. C.; SANCHEZ,  
41 S.; BUONAVOGLIA, C.; SALIKI, J.T. OCCURRENCE of canine parvovirus type 2c in  
42 the United States. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.19, p.535-  
43 539, 2007.

44  
45  
46 HONNEFFER, J.B.; MINAMOTO, Y.; SUCHODOLSKI, J.S. Microbiota alterations in  
47 acute and chronic gastrointestinal inflammation of cats and dogs. **World Journal  
48 Gastroenterology**, v. 20, n. 44, p. 16489-16497, nov. 2014.

49  
50

- 1 JALANKA, J.; MATTILA, E.; JOUHTEN, H.; HARTMAN, J.; VOS, W.M.; ARKKILA,  
2 P.; SATOKARI, R. Long-term effects on luminal and mucosal microbiota and  
3 commonly acquired taxa in faecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium*  
4 *difficile* infection. **BMC Medicine**, n. 14, p. 155-165, 2016.  
5  
6  
7 KARST, S.M. The influence of commensal bacteria on infection with enteric viruses.  
8 **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, n. 4, p. 197-204, apr. 2016.  
9  
10  
11 KELLEY, R.L.; MINIKHIEM, D.; KIELY, B.; O'MAHONY, L.; O'SULLIVAN, D.;  
12 BOILEAU, T.; PARK, J.S. Clinical benefits of probiotic canine derived *Bifidobacterium*  
13 *animalis* strain AHC7 in dogs with acute idiopathic diarrhea. **Veterinary**  
14 **therapeutics**, n. 10, p.121-130, 2009.  
15  
16  
17 MINAMOTO, Y.; DHANANI, N.; MARKEL, M. E.; STEINER, J. M.; SUCHODOLSKI,  
18 J. S.. Prevalence of *Clostridium perfringens*, *Clostridium perfringens* enterotoxin and  
19 dysbiosis in fecal samples of dogs with diarrhea. **Veterinary Microbiology**, n. 174, p.  
20 463-473, 2014.  
21  
22  
23 MINAMOTO, Y.; OTONI, C.C.; STEELMAN, S.M.; BUYUKLEBLEBICI, O.; STEINER,  
24 J.M.; JERGENS, A.E.; SUCHODOLSKI, J.S. Alteration of the fecal microbiota and  
25 serum metabolite profiles in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. **Gut**  
26 **Microbes**, n. 6, p. 33–47, 2015.  
27  
28  
29 MURPHY, T.; CHAITMAN, J.; HAN, E. Use of Fecal Transplant in Eight Dogs with  
30 Refractory *Clostridium perfringens* Associated Diarrhea. **2014 ACVIM Forum**  
31 **abstract**, 2014.  
32  
33  
34 PINTO, L.D.; STRECK, A.F.; GONÇALVES, K.R.; SOUZA, C.K.; CORBELLINI, A.O.;  
35 CORBELLINI, L.G.; CANAL, C.W. Typing of canine parvovirus strains circulating in  
36 Brazil between 2008 and 2010. **Virus Research**, n. 165, p. 29–33, 2012.  
37  
38  
39 RAMADAN, Z.; XU, H.; LAFLAMME, D.; CZARNECKI-MAULDEN, G.; LI, Q.J.;  
40 LABUDA, J.; BOURQUI, B. Fecal microbiota of cats with naturally occurring chronic  
41 diarrhea assessed using 16S rRNA gene 454-pyrosequencing before and after  
42 dietary treatment. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n. 28, p. 59-65, 2014.  
43  
44  
45 ROSSI, G.; PENGO, G.; CALDIN, M.; PALUMBO PICCIONELLO, A.; STEINER,  
46 J.M.; COHEN, N.D.; JERGENS, A.E.; SUCHODOLSKI, J.S. Comparison of  
47 microbiological, histological, and immunomodulatory parameters in response to  
48 treatment with either combination therapy with prednisone and metronidazole or  
49 probiotic VSL#3 strains in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. **PLoS**  
50 **One**, v. 9, ed. 4, e94699, apr. 2014.

1  
2  
3 SANTOS, F. A. G. **Agentes de etiologia parasitária e viral envolvidos nos**  
4 **quadros de diarreia aguda em cães da região metropolitana de Londrina** – norte  
5 do estado do Paraná. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) –  
6 Universidade Estadual de Londrina, UEL, Londrina, 2006.

7  
8  
9 SANTOS, F.A.G.; YAMAMURA, M.H.; VIDOTTO, O.; CAMARGO, P.L. Ocorrência de  
10 parasitos gastrintestinais em cães (Canis familiaris) com diarreia aguda oriundos da  
11 região metropolitana de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. **Semina: Ciências**  
12 **Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 2, p. 257-268, abr./jun. 2007.

13  
14  
15 SPIBEY, N.; GREENWOOD, N.M.; SUTTON, D.; CHALMERS, W.S.K.; TARPEY, I.  
16 Canine parvovirus type 2 vaccine protects against virulent challenge with type 2c  
17 vírus. **Veterinary Microbiology**, n. 128, p. 48–55, 2008.

18  
19  
20 STRECK, A.F.; SOUZA, C.K.; GONÇALVES, K.R.; ZANG, L.; PINTO, L.D.;  
21 CANAL, C.W. First detection of STRECK, A.F.; SOUZA, C.K.; GONÇALVES, K.R.;  
22 ZANG, L.; PINTO, L.D.; CANAL, C.W. First detection of canine parvovirus type 2c in  
23 Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, n. 40, p. 465-469, 2009.  
24 n of canine parvovirus type 2c in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, n. 40, p.  
25 465-469, 2009.

26  
27  
28 SUCHODOLSKI, J.S. Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and  
29 cats. **The Veterinary Journal**, n. 215, p. 30-37, 2016.

30  
31  
32 SUCHODOLSKI, J.S.; DOWD, S.E.; WESTERMARCK, E.; STEINER, J.M.;  
33 WOLCOTT, R.D.; SPILLMANN, T.; HARMOINEN, J.A. The effect of the macrolide  
34 antibiotic tylosin on microbial diversity in the canine small intestine as demonstrated  
35 by massive parallel 16S rRNA gene sequencing. **BMC Microbiology**, n. 9, p. 210,  
36 oct. 2009.

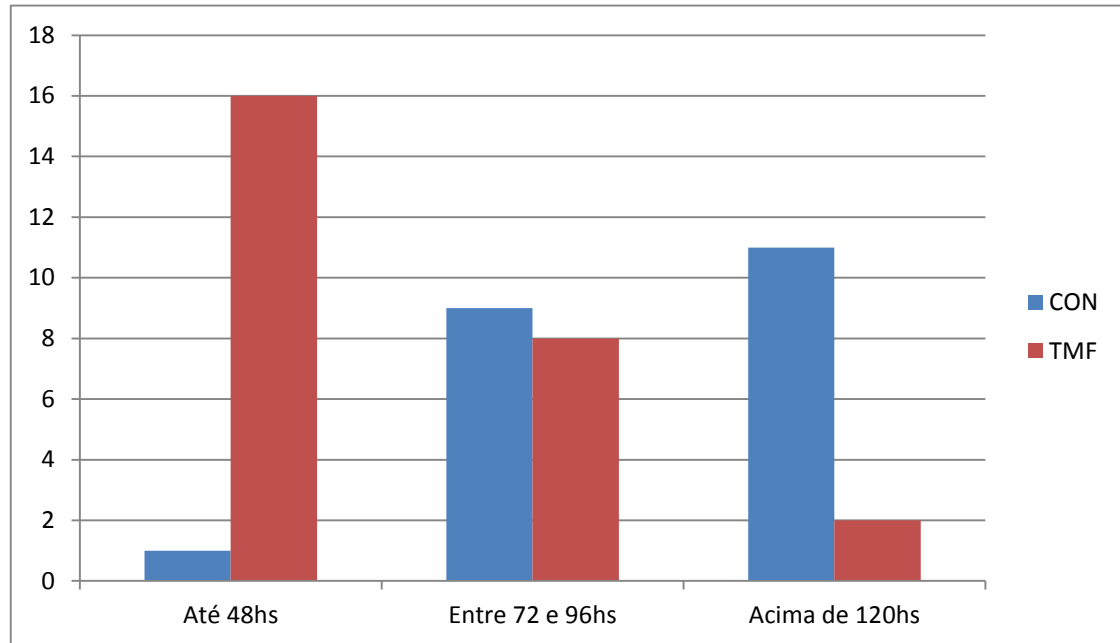
37  
38  
39 SUNVOLD, G.D.; FAHEY, G.C.; MERCHEN, N.R.; TITGEMEYER, E.C.;  
40 BOURQUIN, L.D.; BAUER, L.L.; REINHART, G.A. Dietary fiber for dogs: IV. In vitro  
41 fermentation of selected fiber sources by dog fecal inoculum and in vivo digestion  
42 and metabolism of fibersupplemented diets. **Journal of Animal Science**, n. 73, p.  
43 1099-1109, 1995.

44  
45  
46 WEESE, J.S.; COSTA, M.C.; WEBB, J.A. Preliminary Clinical and Microbiome  
47 Assesmente of Stool Transplantation in the dog and cat. **2013 ACVIM Forum**  
48 **abstract**, 2013.

49  
50

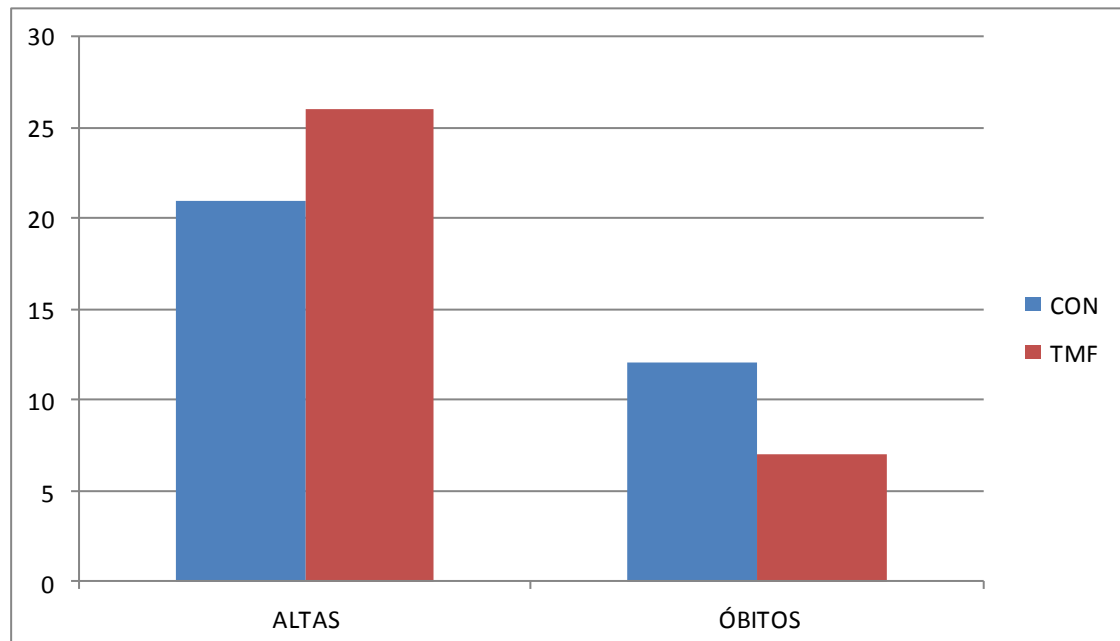
- 1 WEINGARDEN, A.; GONZÁLEZ, A.; VÁZQUEZ-BAEZA, Y.; WEISS, S.; HUMPHRY,  
2 G.; BERG-LYONS, D.; KNIGHTS, D.; UNNO, T.; BOBR, A.; KANG, J.; KHORUTS,  
3 A.; KNIGHT, R.; SADOWSKY, M.J. Dynamic changes in short- and long-term  
4 bacterial composition following fecal microbiota transplantation for recurrent  
5 *Clostridium difficile* infection. **Microbiome**, n. 3, p. 10, 2015.  
6  
7  
8 WILLIS, H.H. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. **Medical**  
9 **Journal of Australia**, v.8, p.375-376, 1921.  
10  
11

1 Figura 4 – Gráfico de comparação entre filhotes caninos em relação ao tempo de  
 2 evolução das fezes líquidas para consistências pastosas, firmes ou ausência de  
 3 fezes, dos grupos controle e TMF, no período de julho de 2015 a agosto de 2016, na  
 4 região norte do Paraná.



5  
 6 Fonte: próprio autor.

7  
 8  
 9 Figura 5 – Comparação entre o número de pacientes caninos que recebeu alta ou foi  
 10 a óbito, entre os grupos controle e TMF, no período de julho de 2015 a agosto de  
 11 2016, na região norte do Paraná.



12  
 13 Fonte: próprio autor.

14  
 15

1 Tabela 1 - Distribuição das médias de dias de internamento e para melhora da  
 2 diarreia dos caninos dos grupos Controle e TMF, excetuando-se os óbitos, no  
 3 período de julho de 2015 a agosto de 2016, na região norte do Paraná.

GRUPO	NÚMERO DE ANIMAIS	DIAS DE INTERNAMENTO		DIAS PARA A MELHORA DA DIARREIA	
		MEDIANA	MÉDIA±SD	MEDIANA	MÉDIA±SD
CONTROLE	21	6 <sup>a</sup>	5,57± 2,77	5 <sup>a</sup>	5,33±2,63
TRATADO	26	3 <sup>b</sup>	3,30±1,49	2 <sup>b</sup>	2,30±1,16
p-VALOR	#	0,0007		0,0001	

4 Letras diferentes na mesma coluna indicam haver diferença significativa pelo teste de Mann-  
 5 Whitney ( $p < 0,05$ )

6  
 7  
 8 Tabela 2 - Distribuição dos caninos dos grupos Controle e TMF, de acordo com o  
 9 grupo pertencente e o número de óbitos e alta hospitalar, no período de julho de  
 10 2015 a agosto de 2016, na região norte do Paraná.

Grupos	Alta hospitalar	Óbitos	Total
Controle	21 (31,82%)	12 (18,18%)	33 (50%)
Tratamento	26 (39,40%)	07 (10,60%)	33 (50%)
Total	47 (71,22%)	19 (28,78%)	66 (100%)

17 Análise feita pelo qui-quadrado, não houve diferença estatística ( $p=0,174$ )

18  
 19  
 20

## 1 7 CONCLUSÕES

2

3 O TMF mostrou-se uma técnica segura para ser realizada em cães com  
4 gastroenterite hemorrágica aguda e foi associado com menor tempo de internamento  
5 devido a melhora clínica dos animais tratados.

6 A mortalidade foi menor entre os pacientes que receberam o tratamento com  
7 TMF, apesar de não apresentar diferença estatística. Animais que não receberam o  
8 TMF apresentaram aproximadamente o dobro de tempo para receber alta e para  
9 melhorar a diarreia, além do dobro de mortalidade.

10 Os resultados deste estudo indicam que o TMF pode ser recomendado como  
11 adjuvante na terapia em casos de gastroenterite hemorrágica aguda, incluindo a  
12 causada pelo CPV-2b.

13

14

15

## 1 REFERÊNCIAS

2  
3 ALFIERI, A.A.; PARAZZI, M.E.; TAKIUCHI, E.; MÉDICI, K.C.; ALFIERI, A.F.  
4 Frequency of group A rotavirus in diarrheic calves in Brazilian cattle herds, 1998-  
5 2002. **Tropical Animal Health and Production**, n. 38, p. 521-526, 2006.

6  
7  
8 ALLENSPACH, K.; HOUSE, A.; SMITH, K.; MCNEILL, F.M.; HENDRICKS, A.;  
9 ELSON-RIGGINS, J.; RIDDLE, A.; STEINER, J.M.; WERLING, D.; GARDEN, O.A.  
10 CATCHPOLE, B.; SUCHODOLSKI, J.S. Evaluation of mucosal bacteria and  
11 histopathology, clinical disease activity and expression of Toll-like receptors in  
12 German shepherd dogs with chronic enteropathies. **Veterinary Microbiology**, n.  
13 146, p. 326-335, 2010.

14  
15  
16 BLASER, M.J.; FALKOW, S. What are the consequences of the disappearing human  
17 microbiota? **Nature Publishing Group**, n. 7, p. 887–94, 2009.

18  
19  
20 BORDIN, A.I.; SUCHODOLSKI, J.S.; MARKEL, M.E.; WEAVER, K.B.; STEINER,  
21 J.M.; DOWD, S,E. Effects of administration of live or inactivated virulent  
22 *Rhodococcus equi* and Age on the fecal microbiome of neonatal foals. **PLoS ONE**,  
23 v. 8, ed. 8, e66640, jun. 2013.

24  
25  
26 BRADLEY, C.W.; MORRIS, D.O.; RANKIN, S.C.; CAIN, C.L.; MISIC, A.M.;  
27 HOUSER, T.; MAULDIN, E.A.; GRICE, E.A. Longitudinal evaluation of the skin  
28 microbiome and association with microenvironment and treatment in canine atopic  
29 dermatitis. **The Journal of Investigative Dermatology**, v. 136, n. 6, p. 1182-1890,  
30 jun. 2016.

31  
32  
33 CASTRO, T.X.; COSTA, E.M.; LEITE, J.P.G.; LABARTHE, N.V.; CUBEL GARCIA,  
34 R.C.N. Parcial VP2 sequencing of canine parvovirus (CPV) strains circulating in the  
35 state of Rio de Janeiro, Brazil: detection of the new variant CPV-2c. **Brazilian**  
36 **Journal of Microbiology**, n. 41, p. 1093-1098, 2010.

37  
38  
39 CASTRO, T.X.; GARCIA, R.C.N.C.; GONÇALVES, L.P.S.; COSTA, E.M.;  
40 MARCELLO, G.C.G.; LABARTHE, N.V.; MENDES-DE-ALMEIDA, F. Clinical,  
41 hematological, and biochemical findings in puppies with coronavirus and parvovirus  
42 enteritis. **The Canadian Veterinary Journal**, n. 54, p. 885–888, 2013.

43  
44  
45 CLOOTEN, J.; KRUTH, S.; ARROYO, L.; WEESE, J.S. Prevalence and risk factors  
46 for *Clostridium difficile* colonization in dogs and cats hospitalized in an intensive care  
47 unit. **Veterinary Microbiology**, v. 25, n. 129 (1-2), p. 209-14, may. 2008.

48  
49

- 1 COCHETIÈRE, M.F.; DURAND, T.; LALANDE, V.; PETIT, J.C.; POTEL, G.;  
 2 BEAUGERIE, L. Effect of antibiotic therapy on human fecal microbiota and the  
 3 relation to the development of *Clostridium difficile*. **Microbial Ecology**, n. 56, p. 395–  
 4 402, 2008.
- 5  
 6  
 7 COSTA, M.C.; STÄMPFLI, H.R.; ARROYO, L.G.; ALLEN-VERCOE, E.; GOMES,  
 8 R.G.; WEESE, J.S. Changes in the equine fecal microbiota associated with the use  
 9 of systemic antimicrobial drugs. **BMC Veterinary Research**, n. 11, p. 19, 2015.
- 10  
 11  
 12 CRAVEN, M.; EGAN, C.E.; DOWD, S.E.; MCDONOUGH, S.P.; DOGAN, B.;  
 13 DENKERS, E.Y.; BOWMAN, D.; SCHERL, E.J.; SIMPSON, K.W. Inflammation drives  
 14 dysbiosis and bacterial invasion in murine models of ileal Crohn's disease. **PLoS**  
 15 **ONE**, v. 7, ed. 7, e41594, jul. 2012.
- 16  
 17  
 18 De CARLI, G.A. **Parasitologia Clínica: seleção de métodos e técnicas de**  
 19 **laboratório para o diagnostic dos parasitos humanos.** São Paulo: Ed. Atheneu, 2001.
- 20  
 21  
 22 DECARO, N.; BUONAVOGLIA, C. Canine parvovirus - A review of epidemiological  
 23 and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c. **Veterinary Microbiology**, n. 155,  
 24 p. 1-12, 2012. idem. epidemiological and diagnostic aspects, with emphasis on type 2c.  
 25 **Veterinary Microbiology**, n. 155, p. 1-12, 2012.
- 26  
 27  
 28 DECARO, N.; DESARIO, C.; PARISI, A.; MARTELLA, V.; LORUSSO, A.;  
 29 MICCOLUPO, A.; MARI, V.; COLAIANNI, L.; CAVALLI, A.; TRANI, L.;  
 30 BUONAVOGLIA, C. Genetic analysis of canine parvovirus type 2c. **Virology**, n. 385,  
 31 p. 5-10, 2009.
- 32  
 33  
 34 DETHLEFSEN, L.; RELMAN, D.A. Incomplete recovery and individualized responses  
 35 of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. **Proceedings**  
 36 **of the National Academy of Sciences**, n.108, Suppl 1, p. 4554–61, 2011.
- 37  
 38  
 39 DUBOC, H.; RAJCA, S.; RAINTEAU, D.; BENAROUS, D.; MAUBERT, M.A.;  
 40 QUERVAIN, E.; THOMAS, G.; BARBU, V.; HUMBERT, L.; DESPRAS, G.;  
 41 BRIDONNEAU, C.; DUMETZ, F.; GRILL, J.P.; MASLIAH, J.; BEAUGERIE, L.;  
 42 COSNES, J.; CHAZOULLERES, O.; POUPON, R.; WOLF, C.; MALLET, J.M.;  
 43 LANGELLA, P.; TRUGNAN, G.; SOKOL, H.; SEKSIK, P. Connecting dysbiosis, bile-  
 44 acid dysmetabolism and gut inflammation in inflammatory bowel diseases. **Gut**, n.  
 45 62, p. 531–539, 2013.
- 46  
 47  
 48 FUENTES, S.; VAN NOOD, E.; TIMS, S.; HEIKAMP-DE J. I.; BRAAK, C.J.; KELLER,  
 49 J.J. Reset of a critically disturbed microbial ecosystem: faecal transplant in recurrent

- 1 Clostridium difficile infection. **International Society for Microbial Ecology Journal**,  
2 n. 8, p. 1621–33, 2014.  
3  
4
- 5 GARCIA, R.C.N.C.; PINTO, A.M.V.; COSTA, A.P.; MACIEL, B.M.; OLIVEIRA, L.H.S.;  
6 NASCIMENTO, J.P.; SANTOS, A.O.; CASTRO, M.C.N.; WILLI, L.M.V.; LABARTHE,  
7 N.V. Canine parvovirus infection in puppies with gastroenteritis in Niterói, Rio de  
8 Janeiro, Brazil from 1995 to 1997. **Brazilian Journal of Veterinary Research and**  
9 **Animal Science**, v. 37, n. 2, p. 56-68, 2000.  
10  
11
- 12 GARCIA-MAZCORRO, J.F., SUCHODOLSKI, J.S., JONES, K.R., CLARK-PRICE,  
13 S.C., DOWD, S.E., MINAMOTO, Y., MARKEL, M., STEINER, J.M., DOSSIN, O.  
14 Effect of the proton pump inhibitor omeprazole on the gastrointestinal bacterial  
15 microbiota of healthy dogs. **FEMS Microbiology Ecology**, n. 80, p. 624–636, 2012.  
16  
17
- 18 GEVERS, D., KUGATHASAN, S., DENSON, L.A., VAZQUEZ-BAEZA, Y., VAN  
19 TREUREN, W., REN, B., SCHWAGER, E., KNIGHTS, D., SONG, S.J., YASSOUR,  
20 M., et al. The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn's disease. **Cell Host**  
21 **and Microbe**, n. 15, p. 382–392, 2014.  
22  
23
- 24 GOHARI, I.M.; PARREIRA, V.R.; NOWELL, V.J.; NICHOLSON, V.M.; OLIPHANT,  
25 K.; PRESCOTT, J.F. A Novel Pore-Forming Toxin in Type A *Clostridium perfringens*  
26 Is Associated with Both Fatal Canine Hemorrhagic Gastroenteritis and Fatal Foal  
27 Necrotizing Enterocolitis. **PLoS ONE**, 10(4):e0122684, 2015.  
28  
29
- 30 GOUGH, E.; SHAIKH, H.; MANGES, A.R. Systematic review of intestinal microbiota  
31 transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent *Clostridium difficile* infection.  
32 **Clinical Infectious Diseases**, v. 53, n. 10, p. 994-1002, nov. 2011.  
33  
34
- 35 GRELLET, A.; HEILMANN, R.M.; POLACK, B.; FEUGIER, A.; BOUCRAUT-  
36 BARALON, C.; GRANDJEAN, D.; GRUTZNER, N.; SUCHODOLSKI, J.S.; STEINER,  
37 J.M.; CHASTANT-MAILLARD, S. Influence of Breed Size, Age, Fecal Quality, and  
38 Enteropathogen Shedding on Fecal Calprotectin and Immunoglobulin A  
39 Concentrations in Puppies During the Weaning Period. **Journal of Veterinary**  
40 **Internal Medicine**, v. 30, n. 4, p. 1056-1064, jul. 2016.  
41  
42
- 43 GUARD, B.C.; BARR, J.W.; REDDIVARI, L.; KLEMASHEVICH, C.; JAYARAMAN, A.;  
44 STEINER, J.M.; VANAMALA, J.; SUCHODOLSKI, J.S. Characterization of Microbial  
45 Dysbiosis and Metabolomic Changes in Dogs with Acute Diarrhea. **PLOS One**, v. 10,  
46 n. 5, p. 1-24, 2015.  
47  
48
- 49 HALL, E.J. Antibiotic-responsive diarrhea in small animals. **Veterinary Clinics of**  
50 **North America Small Animal Practice Journal**, n. 41, p. 273–286, 2011.

1  
2  
3 HAMILTON, M.J.; WEINGARDEN, A.R.; UNNO, T.; KHORUTS, A.; SADOWSKY,  
4 M.J. High-throughput DNA sequence analysis reveals stable engraftment of gut  
5 microbiota following transplantation of previously frozen fecal bacteria. **Gut**  
6 **Microbes**, v. 4, n. 2, p. 125-135, mar/apr. 2013.

7  
8  
9 HAMILTON, M.J.; WEINGARDEN, A.R.; SADOWSKY, M.J.; KHORUTS, A.  
10 Standardized Frozen Preparation for Transplantation of Fecal Microbiota for  
11 Recurrent *Clostridium difficile* Infection. **The American Journal of Gastroenterology**,  
12 v. 107, n. 5, p. 761-767, 2012.

13  
14  
15 HAND, D.; WALLIS, C.; COLYER, A.; PENN, C.W. Pyrosequencing the canine faecal  
16 microbiota: breadth and depth of biodiversity. **PLoS ONE**, v. 8, ed. 1, e53115, jan.  
17 2013.

18  
19  
20 HANDL, S.; DOWD, S.E.; GARCIA-MAZCORRO, J.F.; STEINER, J.M.;  
21 SUCHODOLSKI, J.S. Massive parallel 16S rRNA gene pyrosequencing reveals  
22 highly diverse fecal bacterial and fungal communities in healthy dogs and cats.  
23 **FEMS Microbiology Ecology**, n. 76, p. 301-310, 2011.

24  
25  
26 HENRIKSEN, S.A.; POLENZ, J. Staining of Cryptosporidia by a modified Ziehl-  
27 Neelsen technique. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 22, p. 294-269, 1981.

28  
29  
30 HOFFMAN, W.A.; PONS, J.A.; JANER, J.L. The sedimentation concentration method  
31 in schistosomiasis mansoni. **Journal of Public Health**, v.9, p.238-291, 1934.

32  
33  
34 HONG, C.; DECARO, N.; DESARIO, C.; TANNER, P.; PARDO, M. C.; SANCHEZ,  
35 S.; BUONAVOGLIA, C.; SALIKI, J.T. OCCURRENCE of canine parvovirus type 2c in  
36 the United States. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.19, p.535-  
37 539, 2007.

38  
39  
40 HONNEFFER, J.B.; MINAMOTO, Y.; SUCHODOLSKI, J.S. Microbiota alterations in  
41 acute and chronic gastrointestinal inflammation of cats and dogs. **World Journal**  
42 **Gastroenterology**, v. 20, n. 44, p. 16489-16497, nov. 2014.

43  
44  
45 JAKOBSSON, H.E.; JERNBERG, C.; ANDERSSON, A.F.; SJOLUND-KARLSSON,  
46 M.; JANSSON, J.K.; ENGSTRAND, L. Short-term antibiotic treatment has differing  
47 long-term impacts on the human throat and Gut microbiome. **PLoS One**, v. 5, ed. 3,  
48 e9836, mar.2010.

49

- 1 JALANKA, J.; MATTILA, E.; JOUHTEN, H.; HARTMAN, J.; VOS, W.M.; ARKKILA,  
2 P.; SATOKARI, R. Long-term effects on luminal and mucosal microbiota and  
3 commonly acquired taxa in faecal microbiota transplantation for recurrent *Clostridium*  
4 *difficile* infection. **BMC Medicine**, n. 14, p. 155-165, 2016.  
5  
6  
7 JANCZYK, P.; PIEPER, R.; SOUFFRANT, W.B.; BIMCZOK, D.; ROTHKOTTER,  
8 H.J.; SMIDT, H. Parenteral long-acting amoxicillin reduces intestinal bacterial  
9 community diversity in piglets even 5 weeks after the administration. **International**  
10 **Society for Microbial Ecology Journal**, n. 1, p. 180–183, 2007.  
11  
12  
13 JOHNSTON, K.L. Small intestinal bacterial overgrowth. **Veterinary Clinics of North**  
14 **America: Small Animal Practice**, n. 29, p. 523–550, 1999.  
15  
16  
17 JU, C.; CHENG, Y.; JI, Y.; WANG, Y.; SUN, L.; HUANG, J. Genome Sequence of  
18 Canine Parvovirus Strain SC02/2011, Isolated from a Puppy with Severe Diarrhea in  
19 South China. **Journal of Virology**, v. 86, n. 24, p. 13805, dec. 2012.  
20  
21  
22 KARST, S.M. The influence of commensal bacteria on infection with enteric viruses.  
23 **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, n. 4, p. 197-204, apr. 2016.  
24  
25  
26 KASSAM, Z.; LEE, C. H.; HUNT, R.H. Review of the Emerging Treatment of  
27 *Clostridium difficile* Infection with Fecal Microbiota Transplantation and Insights into  
28 Future Challenges. **Clinics in Laboratory Medicine**, n. 34, p. 787-798, 2014.  
29  
30  
31 KATAGIRI, S. OLIVEIRA-SEQUEIRA, T.C.G. Zoonoses causadas por parasitas  
32 intestinais de cães e o problema do diagnóstico. **Arquivos do Instituto Brasileiro**  
33 **Biológico**, São Paulo, v.74, n.2, p.175-184, abr./jun., 2007.  
34  
35  
36 KELLEY, R.L.; MINIKHIEM, D.; KIELY, B.; O'MAHONY, L.; O'SULLIVAN, D.;  
37 BOILEAU, T.; PARK, J.S. Clinical benefits of probiotic canine derived *Bifidobacterium*  
38 *animalis* strain AHC7 in dogs with acute idiopathic diarrhea. **Veterinary**  
39 **therapeutics**, n. 10, p.121-130, 2009.  
40  
41  
42 KHORUTS, A.; DICKSVED, J.; JANSSON, J.K.; SADOWSKY, M.J. Changes in the  
43 composition of the human fecal microbiome after bacteriotherapy for recurrent  
44 *Clostridium difficile*-associated diarrhea. **Journal Of Clinical Gastroenterology**, n.  
45 44, p. 354–60, 2010.  
46  
47  
48 KNIGHTS, D.; WARD, T.L.; MCKINLAY, C.E.; MILLER, H.; GONZALEZ, A.;  
49 MCDONALD, D. Rethinking "enterotypes". **Cell Host Microbe**, n. 16, p.433–437,  
50 2014.

- 1  
2  
3 MARKS, S.L.; KATHER, E.J.; KASS, P.H.; MELLI, A.C. Genotypic and phenotypic  
4 characterization of *Clostridium perfringens* and *Clostridium difficile* in diarrheic and  
5 healthy dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, n. 5, p. 533-540, sep-  
6 oct. 2002.  
7  
8  
9 METSALA, J., LUNDQVIST, A., VIRTA, L.J., KAILA, M., GISSLER, M., VIRTANEN,  
10 S.M. Prenatal and post-natal exposure to antibiotics and risk of asthma in childhood.  
11 **Clinical & Experimental Allergy**, n. 45, p. 137–145, 2015.  
12  
13  
14 MINAMOTO, Y.; DHANANI, N.; MARKEL, M. E.; STEINER, J. M.; SUCHODOLSKI,  
15 J. S.. Prevalence of *Clostridium perfringens*, *Clostridium perfringens* enterotoxin and  
16 dysbiosis in fecal samples of dogs with diarrhea. **Veterinary Microbiology**, n. 174, p.  
17 463-473, 2014.  
18  
19  
20 MINAMOTO, Y.; OTONI, C.C.; STEELMAN, S.M.; BUYUKLEBLEBICI, O.; STEINER,  
21 J.M.; JERGENS, A.E.; SUCHODOLSKI, J.S. Alteration of the fecal microbiota and  
22 serum metabolite profiles in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. **Gut**  
23 **Microbes**, n. 6, p. 33–47, 2015.  
24  
25  
26 MURPHY, T.; CHAITMAN, J.; HAN, E. Use of Fecal Transplant in Eight Dogs with  
27 Refractory *Clostridium perfringens* Associated Diarrhea. **2014 ACVIM Forum**  
28 **abstract**, 2014.  
29  
30  
31 OCHMAN, H.; WOROBEY, M.; KUO, C.H.; NDJANGO, J.B.; PEETERS, M.; HAHN,  
32 B.H.; HUGENHOLTZ, P. Evolutionary relationships of wild hominids recapitulated by  
33 gut microbial communities. **PLoS Biology**. 2010 Nov 16;8(11):e1000546. doi:  
34 10.1371/journal.pbio.1000546.  
35  
36  
37 OTTO, C.M.; DROBATZ, K.J.; SOTER, C. Endotoxemia and Tumor Necrosis Factor  
38 Activity in Dogs With Naturally Occurring Parvoviral Enteritis. **Journal of Veterinary**  
39 **Internal Medicine**, v.11, n. 2, p. 65-70, mar-apr, 1997.  
40  
41  
42 PACKEY, C.D., SARTOR, R.B. Commensal bacteria, traditional and opportunistic  
43 pathogens, dysbiosis and bacterial killing in inflammatory bowel diseases. **Current**  
44 **Opinion in Infectious Diseases**, n. 22, p. 292–301, 2009.  
45  
46  
47 PÉREZ, R.; FRANCIA, L.; ROMERO, V.; MAYA, L.; LÓPEZ, I.; HERNÁNDEZ, M.  
48 First detection of canine parvovirus type 2c in South America. **Veterinary**  
49 **Microbiology**, n. 124, p. 147–152, 2007.  
50

- 1  
2 PÉREZ-COBAS, A.E.; GOSALBES, M.J.; FRIEDRICH, A.; KNECHT, H.;  
3 ARTACHO, A.; EISMANN, K. Gut microbiota disturbance during antibiotic therapy: a  
4 multi-omic approach. **Gut**, n. 62, p. 1591–601, 2013.  
5  
6  
7 PINTO, L.D.; STRECK, A.F.; GONÇALVES, K.R.; SOUZA, C.K.; CORBELLINI, A.O.;  
8 CORBELLINI, L.G.; CANAL, C.W. Typing of canine parvovirus strains circulating in  
9 Brazil between 2008 and 2010. **Virus Research**, n. 165, p. 29–33, 2012.  
10  
11  
12 RAMADAN, Z.; XU, H.; LAFLAMME, D.; CZARNECKI-MAULDEN, G.; LI, Q.J.;  
13 LABUDA, J.; BOURQUI, B. Fecal microbiota of cats with naturally occurring chronic  
14 diarrhea assessed using 16S rRNA gene 454-pyrosequencing before and after  
15 dietary treatment. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n. 28, p. 59-65, 2014.  
16  
17  
18 ROSSI, G.; PENGO, G.; CALDIN, M.; PALUMBO PICCIONELLO, A.; STEINER,  
19 J.M.; COHEN, N.D.; JERGENS, A.E.; SUCHODOLSKI, J.S. Comparison of  
20 microbiological, histological, and immunomodulatory parameters in response to  
21 treatment with either combination therapy with prednisone and metronidazole or  
22 probiotic VSL#3 strains in dogs with idiopathic inflammatory bowel disease. **PLoS**  
23 **One**, v. 9, ed. 4, e94699, apr. 2014.  
24  
25  
26 ROUND, J.L.; MAZMANIAN, S.K. The gut microbiota shapes intestinal immune  
27 responses during health and disease. **Nature Reviews Immunology**, n. 9, v. 5, p.  
28 313–323, may. 2009.  
29  
30  
31 SAARI, A., VIRTA, L.J., SANKILAMPI, U., DUNKEL, L., SAXEN, H. Antibiotic  
32 exposure in infancy and risk of being overweight in the first 24 months of life.  
33 **Pediatrics**, n. 135, p. 617–626, 2015.  
34  
35  
36 SANTOS, F. A. G. **Agentes de etiologia parasitária e viral envolvidos nos**  
37 **quadros de diarreia aguda em cães da região metropolitana de Londrina** – norte  
38 do estado do Paraná. 2006. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) –  
39 Universidade Estadual de Londrina, UEL, Londrina, 2006.  
40  
41  
42 SANTOS, F.A.G.; YAMAMURA, M.H.; VIDOTTO, O.; CAMARGO, P.L. Ocorrência de  
43 parasitos gastrintestinais em cães (*Canis familiaris*) com diarreia aguda oriundos da  
44 região metropolitana de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. **Semina: Ciências**  
45 **Agrárias**, Londrina, v. 28, n. 2, p. 257-268, abr./jun. 2007.  
46  
47  
48 SCHLEGEL, B.J.; DREUMEL, T.D.; SLAVIC, D.; PRESCOTT, J.F. *Clostridium*  
49 *perfringens* type A fatal acute hemorrhagic gastroenteritis in a dog. **Canadian**  
50 **Veterinary Journal**, n. 53, p. 555-557.

- 1  
2  
3 SOKOL, H.; SEKSIK, P.; FURET, J.P.; FIRMESSE, O.; NION-LARMURIER, I.;  
4 BEAUGERIE, L.; COSNES, J.; CORTHER, G.; MARTEAU, P.; DORÉ, J.; Low  
5 counts of *Faecalibacterium prausnitzii* in colitis microbiota. **Inflammatory Bowel**  
6 **Diseases**, n. 15, p. 1183-1189, 2009.  
7  
8  
9 SPIBEY, N.; GREENWOOD, N.M.; SUTTON, D.; CHALMERS, W.S.K.; TARPEY, I.  
10 Canine parvovirus type 2 vaccine protects against virulent challenge with type 2c  
11 vírus. **Veterinary Microbiology**, n. 128, p. 48–55, 2008.  
12  
13  
14 STEELMAN, S.M.; CHOWDHARY, B.P.; DOWD, S.; SUCHODOLSKI, J.; JANECKA,  
15 J.E. Pyrosequencing of 16S rRNA genes in fecal samples reveals high diversity of  
16 hindgut microflora in horses and potential links to chronic laminitis. **BMC Veterinary**  
17 **Research**, n. 8, p. 1–1, 2012.  
18  
19  
20 STRECK, A.F.; SOUZA, C.K.; GONÇALVES, K.R.; ZANG, L.; PINTO, L.D.;  
21 CANAL, C.W. First detectio STRECK, A.F.; SOUZA, C.K.; GONÇALVES, K.R.;  
22 ZANG, L.; PINTO, L.D.; CANAL, C.W. First detection of canine parvovirus type 2c in  
23 Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, n. 40, p. 465-469, 2009.  
24 n of canine parvovirus type 2c in Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, n. 40, p.  
25 465-469, 2009.  
26  
27  
28 SUCHODOLSKI, J.S. Companion animals symposium: microbes and gastrointestinal  
29 health of dogs e cats. **Journal of Animal Science and Biotechnology**, n. 89, v. 5,  
30 p. 1520-1530, may. 2011.  
31  
32  
33 SUCHODOLSKI, J.S. Diagnosis and interpretation of intestinal dysbiosis in dogs and  
34 cats. **The Veterinary Journal**, n. 215, p. 30-37, 2016.  
35  
36  
37 SUCHODOLSKI, J.S.; CAMACHO, J.; STEINER, J.M. Analysis of bacterial diversity  
38 in the canine duodenum, jejunum, ileum, and colon by comparative 16S rRNA gene  
39 analysis. **FEMS Microbiology Ecology**, n. 66, p. 567–578, 2008.  
40  
41  
42 SUCHODOLSKI, J.S.; DOWD, S.E.; WESTERMARCK, E.; STEINER, J.M.;  
43 WOLCOTT, R.D.; SPILLMANN, T.; HARMOINEN, J.A. The effect of the macrolide  
44 antibiotic tylosin on microbial diversity in the canine small intestine as demonstrated  
45 by massive parallel 16S rRNA gene sequencing. **BMC Microbiology**, n. 9, p. 210,  
46 oct. 2009.  
47  
48  
49 SUCHODOLSKI, J.S.; MARKEL, M.E.; GARCIA-MAZCORRO, J.F.; UNTERER, S.;  
50 HEILMANN, R.M.; DOWD, S.E.; KACHROO, P.; IVANOV, I.; MINAMOTO, Y.;

1 DILLMAN, E.M.; STEINER, J.M.; COOK, A.K.; TORESSON, L. The fecal microbiome  
2 in dogs with acute diarrhea and idiopathic inflammatory bowel disease. **PLoS One**, v.  
3 7, ed. 12, e51907, dec. 2012.

4  
5  
6 SUNVOLD, G.D.; FAHEY, G.C.; MERCHEN, N.R.; TITGEMEYER, E.C.;  
7 BOURQUIN, L.D.; BAUER, L.L.; REINHART, G.A. Dietary fiber for dogs: IV. In vitro  
8 fermentation of selected fiber sources by dog fecal inoculum and in vivo digestion  
9 and metabolism of fibersupplemented diets. **Journal of Animal Science**, n. 73, p.  
10 1099-1109, 1995.

11  
12  
13 SWANSON, K.S.; DOWD, S.E.; SUCHODOLSKI, J.S.; MIDDELBOSS, I.S.; VESTER,  
14 B.M.; BARRY, K.A.; NELSON, K.E.; TORRALBA, M.; HENRISSAT, B.; COUTINHO,  
15 P.M.; CANN, I.K.O.; WHITE, B.A.; FAHEY JR, G.C. Phylogenetic and gene-centric  
16 metagenomics of the canine intestinal microbiome reveals similarities with humans  
17 and mice. **The ISME Journal**, v. 5, n. 4, p. 639-649, apr. 2011.

18  
19  
20 SWIDSINSKI, A.; LOENING-BAUCKE, V.; VANECHOUTTE, M.; DOERFFEL, Y.  
21 Active Crohn's disease and ulcerative colitis can be specifically diagnosed and  
22 monitored based on the biostructure of the fecal flora. **Inflammatory Bowel**  
23 **Diseases**, n. 14, p. 147-161, 2008.

24  
25  
26 WEESE, J.S.; COSTA, M.C.; WEBB, J.A. Preliminary Clinical and Microbiome  
27 Assessment of Stool Transplantation in the dog and cat. **2013 ACVIM Forum**  
28 **abstract**, 2013.

29  
30  
31 WEESE, J.S.; STAEMPFLI, H.R.; PRESCOTT, J.F.; KRUTH, S.A.; GREENWOOD,  
32 S.J.; WEESE, H.E. The Roles of *Clostridium difficile* and *Enterotoxigenic Clostridium*  
33 *perfringens* in Diarrhea in Dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n. 15,  
34 p.374–378, 2001.

35  
36  
37 WEINGARDEN, A.; GONZÁLEZ, A.; VÁZQUEZ-BAEZA, Y.; WEISS, S.; HUMPHRY,  
38 G.; BERG-LYONS, D.; KNIGHTS, D.; UNNO, T.; BOBR, A.; KANG, J.; KHORUTS,  
39 A.; KNIGHT, R.; SADOWSKY, M.J. Dynamic changes in short- and long-term  
40 bacterial composition following fecal microbiota transplantation for recurrent  
41 *Clostridium difficile* infection. **Microbiome**, n. 3, p. 10, 2015.

42  
43  
44 WESTERMARCK, E., SKRZYPCZAK, T., HARMOINEN, J., STEINER, J.M., RUAUX,  
45 C.G., WILLIAMS, D.A., EEROLA, E., SUNDBOECK, P., RINKINEN, M. Tylosin-  
46 responsive chronic diarrhea in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, n.  
47 19, p. 177–186, 2005.

48  
49

- 1 WILLARD, M.D. Manifestações Clínicas dos Distúrbios Gastrointestinais. In: Nelson,
- 2 R.W.; Couto, G.C. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. 4. ed. Rio de Janeiro:
- 3 Elsevier, 2010. p. 360-365.
- 4
- 5
- 6 WILLIS, H.H. A simple levitation method for the detection of hookworm ova. **Medical**
- 7 **Journal of Australia**, v.8, p.375-376, 1921.

1 **ANEXO 1**

2

3 **FORMULÁRIO PARA CARACTERIZAÇÃO DO PACIENTE CANINO COM**  
4 **DIARREIA NO ATENDIMENTO INICIAL**

5

6 NOME: \_\_\_\_\_ RG/HV: \_\_\_\_\_

7 IDADE: \_\_\_\_\_ SEXO: \_\_\_\_\_

8 TIPO DE ALIMENTAÇÃO HABITUAL: \_\_\_\_\_

9 HOUVE MUDANÇA NA DIETA RECENTEMENTE? QUAL O TIPO DE ALIMENTO?

10 \_\_\_\_\_

11 \_\_\_\_\_

12 EVOLUÇÃO DO QUADRO EM DIAS: \_\_\_\_\_

13  DIARREIA AGUDA14  DIARREIA CRÔNICA

15 CLASSIFICAÇÃO DAS FEZES:

16  LÍQUIDAS17  PASTOSAS18  NORMAIS

19 ESQUEMA DE VACINAÇÃO:

20  ATUALIZADO21  DESATUALIZADO

22 ADMINISTRAÇÃO DE VERMICIDA:

23  ATUALIZADA24  DESATUALIZADA

25 ESTADO CLÍNICO DO PACIENTE:

26  ALERTA27  DEPRIMIDO28  ESTUPOR29  CHOQUE

30 GRAU DE DESIDRATAÇÃO:

31  LEVE32  MODERADA33  SEVERA

34

## ANEXO 2 – ACOMPANHAMENTO CLÍNICO DO PACIENTE INTERNADO

PACIENTE:

RG/HV:

PROPRIETÁRIO:

1º DIA:	2º DIA:	3º DIA:	4º DIA:	5º DIA:
FC:	FC:	FC:	FC:	FC:
FR:	FR:	FR:	FR:	FR:
TPC:	TPC:	TPC:	TPC:	TPC:
TPT:	TPT:	TPT:	TPT:	TPT:
MUCOSAS:	MUCOSAS:	MUCOSAS:	MUCOSAS:	MUCOSAS:
HIDRAT.:	HIDRAT.:	HIDRAT.:	HIDRAT.:	HIDRAT.:
VÔMITOS:	VÔMITOS:	VÔMITOS:	VÔMITOS:	VÔMITOS:
FEZES:	FEZES:	FEZES:	FEZES:	FEZES:
DISPOSIÇÃO:	DISPOSIÇÃO:	DISPOSIÇÃO:	DISPOSIÇÃO:	DISPOSIÇÃO:
APETITE:	APETITE:	APETITE:	APETITE:	APETITE:

### ANEXO 3

#### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PESQUISA

Eu, \_\_\_\_\_, portador de RG nº \_\_\_\_\_, telefone: \_\_\_\_\_ residente à \_\_\_\_\_, proprietário/responsável pelo animal(is) \_\_\_\_\_, espécie \_\_\_\_\_, raça \_\_\_\_\_, sexo \_\_\_\_\_, autorizo o pesquisador Dr. Lucas Alécio Gomes, da Universidade Estadual de Londrina, a utilizar o animal citado na pesquisa "TRANSPLANTE DE MICROBIOTA FECAL NO TRATAMENTO DE CÃES COM DIARREIA".

Após esclarecimentos prévios, estou ciente da participação do animal na pesquisa, assim como a utilização dos resultados para fins didáticos, publicações em revistas especializadas e apresentação em eventos científicos.

Afirmo que a qualquer momento poderei suspender a participação do animal na pesquisa e que caso isso ocorra, o animal não sofrerá prejuízos em seu tratamento ou retorno a esta instituição, \_\_\_\_\_.

Estou ciente que não serei gratificado monetariamente e que não receberei qualquer outro benefício pela participação na pesquisa.

O pesquisador está autorizado a utilizar o resultado da pesquisa e/ou imagens em publicações científicas ou em demais eventos referentes ao conteúdo da pesquisa, entretanto a identidade do proprietário será reservada. Poderei receber maiores informações sobre esta pesquisa caso deseje, e também poderei esclarecer minhas dúvidas com o pesquisador responsável.

Fui informado dos riscos e benefícios da pesquisa e estou ciente que na ocorrência de danos decorrentes da **aplicação do protocolo de pesquisa**, o animal poderá ser atendido gratuitamente por profissionais especializados.

Concordo em seguir corretamente todas as recomendações dos pesquisadores durante e após o protocolo de pesquisa e caso haja qualquer dano ao animal referente ao **não cumprimento dessas recomendações**, não responsabilizarei o pesquisador pelo evento.

##### Identificação do Pesquisador

Professor Orientador: Lucas Alécio Gomes

Instituição/Departamento: Universidade Estadual de Londrina / Dep. Clínicas Veterinárias

Endereço: Campus Universitário, Londrina - PR, 86051-990.

Telefone: (43) 3371-4559

Disciplina: Clínica Médica de Animais de Companhia

Pesquisador Responsável: Giorgio Queiroz Pereira

Instituição/Departamento: Universidade Estadual de Londrina / Pós-Graduação Ciência Animal

Endereço: Campus Universitário, Londrina - PR, 86051-990.

Telefone: (43) 9841-3000

Disciplina: Clínica Médica de Animais de Companhia

Data:

Proprietário  
(assinatura)

Professor Orientador  
(assinatura)

Pesquisador Responsável  
(assinatura)