

1636 032 62
55862
1996

Hélia Lemos da Silva

**Transferência e declínio de anticorpos maternos para
parvovírus canino em filhotes**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de
Minas Gerais, como
requisito parcial para
obtenção do grau de
Mestre em Medicina Veterinária .
Área: Medicina Veterinária
Preventiva
Orientadora: Prof^a. Aurora M.
G. Gouveia

U. F. M. G. - BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA



293169709 0000

NÃO DANIFIQUE ESTA ETIQUETA

Belo Horizonte
UFMG- Escola de Veterinária
1996

on
02/03/04
OK/06



BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

19/12/97

2931697-09

IMPL.

0245.67260

S586t Silva, Hélia Lemos da, 1965

Transferência e declínio de anticorpos maternos
para parvovírus canino em filhotes / Hélia Lemos da
Silva. - Belo Horizonte: UFMG- Escola de Veterinária,
1996.

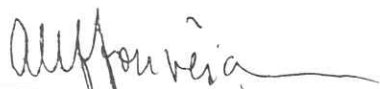
71p.: il.

Dissertação (mestrado)

1. Cão - Doenças - Teses. 2. Parvovirose - Aspectos
imunológicos - Teses. I Título.

CDD - 636.708 969 2

Dissertação defendida e aprovada em 25/11/96 pela Comissão Examinadora constituída por:



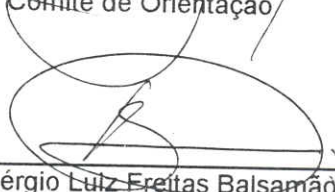
Prof.ª Aurora Maria Guimarães Gouveia
Orientadora



Prof.ª Celina Maria Modena
Comitê de Orientação



Prof. Vitor Márcio Ribeiro
Comitê de Orientação



Dr. Sérgio Luiz Freitas Balsamão



Dr. Maurílio Andrade Rocha



À minha mãe, pelo seu amor e
por suas orações, à Jô e José
Dimas pelo estímulo constante.

AGRADECIMENTOS

A Professora Aurora, pela sua orientação e amizade.
Ao comitê de orientação pelo auxílio e disponibilidade.
A querida amiga e companheira desta jornada, Patrícia, por sua alegria de viver.
As amigas Brasi, Margareth e Rita pelo incentivo e ajuda material.
Aos amigos Paulo, Andréa, Valéria, Zélia, Lúcia, Adelina, Humberto, pela amizade.
Aos amigos Adriano, Francisco e Aloísio pelo apoio técnico.
As funcionários e amigos Doracy Reis, Creuza Atanásio, Nádia Silva e João Nepomuceno pela disponibilidade constante.
A Elizabeth Pimenta pelo crédito ao trabalho.
A Cláudia Capistrano pela disponibilidade.
Aos laboratórios Lema e Smithkline pela atenção e interesse.
Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

O homem que sabia demais não sabia não sabia esquecer,
nem voltar atrás pois sabia mais e mais e mais...

(SKANK)

SUMÁRIO

	LISTA DE TABELAS, 13
	LISTA DE QUADROS, 14
	LISTA DE GRÁFICOS, 16
	LISTA DE ABREVIATURAS, 18
	RESUMO, 20
1	INTRODUÇÃO, 22
2	REVISÃO DE LITERATURA, 24
2.1	Etiologia, 24
2.2	Epidemiologia, 24
2.3	Doença, 25
2.4	Imunidade e imunização, 26
2.5	Diagnóstico sorológico, 31
3	MATERIAL E MÉTODOS, 34
3.1	Animais, 34
3.2	Amostras, 34
3.3	Vírus padrão, 35
3.4	Titulação do vírus padrão, 35
3.5	Inibição da hemaglutinação, 36
3.6	Análise de dados, 36
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO, 38
5	CONCLUSÕES, 68
6	SUMMARY, 69
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS, 71

LISTA DE TABELAS

- TABELA 1- Cadelas que participaram do experimento, **47**
- TABELA 2- Título médio de anticorpos HI contra PVC em 16 ninhadas (87 filhotes) testadas quinzenalmente de dois até 90 dias de idade, **50**
- TABELA 3- Porcentagem de transferência de imunidade passiva contra parvovírus canino de cadelas imunes para seus filhotes testados individualmente com 48/72 horas de idade, **51** .

LISTA DE QUADROS

- QUADRO 1- Títulos HI de 16 cadelas (C1 a C16) imunes para PVC, **48**
- QUADRO 2- Títulos HI de anticorpos para PVC da cadela C10 e seus filhotes, **52**
- QUADRO 3- Títulos HI de anticorpos para PVC da cadela C9 e seus filhotes, **53**
- QUADRO 4- Títulos HI de anticorpos para PVC da cadela C13 e seus filhotes, **54**
- QUADRO 5- Títulos HI de anticorpos para PVC da cadela C1 e seus filhotes, **55**
- QUADRO 6- Títulos HI de anticorpos para PVC da cadela C2 e seus filhotes, **56**
- QUADRO 7- Títulos HI de anticorpos para PVC da cadela C7 e seus filhotes, **57**
- QUADRO 8- Títulos HI de anticorpos para PVC da cadela C12 e seus filhotes, **58**
- QUADRO 9- Títulos HI de anticorpos para PVC da cadela C4 e seus filhotes, **59**
- QUADRO 10- Títulos HI de anticorpos para PVC da cadela C5 e seus filhotes, **60**
- QUADRO 11- Títulos HI de anticorpos para PVC da cadela C14 e seus filhotes, **61**
- QUADRO 12- Títulos HI de anticorpos para PVC da cadela C3 e seus filhotes, **62**
- QUADRO 13- Títulos HI de anticorpos para PVC da cadela C15 e seus filhotes, **63**



- QUADRO 14- Títulos HI de anticorpos para PVC da cadela C16 e seus filhotes, **64**
- QUADRO 15- Títulos HI de anticorpos para PVC da cadela C11 e seus filhotes, **65**
- QUADRO 16- Títulos HI de anticorpos para PVC da cadela C8 e seus filhotes, **66**
- QUADRO 17- Títulos HI de anticorpos para PVC da cadela C6 e seus filhotes (mamaram em outra cadela), **67**

LISTA DE GRÁFICOS

- GRÁFICO 1- Perfil sorológico para parvovirose canina em 16 cadelas imunes, **49**
- GRÁFICO 2- Perfil sorológico da cadela C10 e seus filhotes, **52**
- GRÁFICO 3- Perfil sorológico da cadela C9 e seus filhotes, **53**
- GRÁFICO 4- Perfil sorológico da cadela C13 e seus filhotes, **54**
- GRÁFICO 5- Perfil sorológico da cadela C1 e seus filhotes, **55**
- GRÁFICO 6- Perfil sorológico da cadela C2 e seus filhotes, **56**
- GRÁFICO 7- Perfil sorológico da cadela C7 e seus filhotes, **57**
- GRÁFICO 8- Perfil sorológico da cadela C12 e seus filhotes, **58**
- GRÁFICO 9- Perfil sorológico da cadela C4 e seus filhotes, **59**
- GRÁFICO 10- Perfil sorológico da cadela C5 e seus filhotes, **60**
- GRÁFICO 11- Perfil sorológico da cadela C14 e seus filhotes, **61**
- GRÁFICO 12- Perfil sorológico da cadela C3 e seus filhotes, **62**
- GRÁFICO 13- Perfil sorológico da cadela C15 e seus filhotes, **63**

GRÁFICO 14- Perfil sorológico da cadela C16 e seus filhotes,
64

GRÁFICO 15- Perfil sorológico da cadela C11 e seus filhotes,
65

GRÁFICO 16- Perfil sorológico da cadela C8 e seus filhotes,
66

GRÁFICO 17- Perfil sorológico da cadela C6 e seus filhotes,
67

LISTA DE ABREVIATURAS

BBS - Salina borato ("buffer borate solution")
C - Cadela
F - Filhote
HI - Inibição da hemaglutinação
MVC - Minute virus canino
N -Ninhada
PLF - Vírus da panleucopenia felina
PT - Porcentagem de transferência
PVC - Parvovirus canino
SAB - Soroalbumina bovina
SN - Soroneutralização
SPF - Specific pathogen free
UHA - Unidade hemaglutinante
VAD - Diluente de hemácias ("virus adjusting diluent")

RESUMO

A transferência e o declínio de títulos de anticorpos maternos para parvovirose canina (PVC) foram determinados no soro por inibição da hemaglutinação (HI) em 16 cadelas imunes e seus respectivos filhotes, antes do parto e 48/72 horas pós-parto respectivamente. Amostras do soro foram coletadas a cada duas semanas até quatro meses, dependendo da ninhada. Somente uma variação mínima nos níveis de anticorpos para PVC foi observada entre as cadelas durante todo o período do experimento. Títulos de anticorpos para PVC foram constantes e semelhantes e sempre acima do nível protetor. Anticorpos transferidos através do colostro com títulos acima de 80 persistiram por até 12 semanas em alguns filhotes. Muitos dos filhotes tiveram títulos de anticorpos protetores que permaneceram por até seis semanas de idade. Anticorpos variaram dentro e entre ninhadas. Filhotes de cadelas com altos títulos de anticorpos tiveram também altos títulos de anticorpos. A porcentagem média de anticorpos transferidos foi de 86%. Observou-se que a queda de anticorpos adquiridos passivamente ocorreu nos filhotes e a duração foi proporcional aos níveis de anticorpos.

Palavras-chave:

Cão

Parvovirose canina

Transferência de anticorpos

1 INTRODUÇÃO

Neste final de século, observa-se, em relação aos cães, a crescente importância dada a eles. Deixaram de ser apenas o melhor amigo do homem para ser também socializadores, força de trabalho e fonte de renda direta e indiretamente. Com isto, tudo que se relaciona a eles exigiu aplicação de tecnologia, pesquisas e até mesmo propaganda. Assim as enfermidades relacionadas a estes animais mereceram e vem merecendo estudos, bem como o desenvolvimento de medicamentos e vacinas.

Antes dos anos 70, a cinomose era uma das doenças infecciosas que mais acometia cães. Em 1978, nos Estados Unidos ocorreu um surto de gastroenterite viral em cães. Esta síndrome foi associada com a panleucopenia felina devido a semelhança das lesões intestinais. A partir daí, com os surtos de gastroenterite viral e com o isolamento do parvovírus (PVC) nos Estados Unidos, Europa, Austrália e Canadá, a parvovirose tem se apresentado como uma das mais importantes doenças infecciosas em cães, principalmente em animais com menos de um ano de idade (Carmichael et al, 1980; Osterhaus et al, 1980; Tennant et al, 1991)

No Brasil, por volta de 1980 iniciaram-se pesquisas em torno do parvovírus canino com tentativas de isolamento, determinação de frequência e incidência (Hagiwara et al, 1980; Barcelos et al, 1985; Lobato et al, 1988).

Por ser uma doença altamente letal, vem merecendo papel de destaque para a cinofilia e para o proprietário pois a morte do animal significa prejuízo e quebra de relação afetiva.

Em cães, a imunidade passiva é transmitida antes e após o nascimento, sendo entretanto a maioria dos anticorpos maternos adquiridos através do colostro e do leite (Greene, 1990). A transferência de anticorpos maternos em doenças como cinomose, hepatite infecciosa, raiva, parvovirose canina e panleucopenia felina tem sido documentada (Scott

et al, 1970; Carmichael et al, 1962; Baker et al, 1959; Olson et al, 1988; Winters, 1981; Carmichael et al, 1984.).

- * A quantidade de anticorpos recebida por cada filhote está relacionada com a meia-vida dos anticorpos, com o tamanho da ninhada, com a quantidade de colostro ingerido e com o título de anticorpos do soro materno. Com o passar do tempo ocorre queda uniforme de anticorpos dos filhotes devido à impermeabilidade da membrana intestinal aos anticorpos, embora eles ainda estejam presentes em quantidade no leite (Tizard, 1996).

Durante um período variável os anticorpos maternos transferidos para os filhotes são suficientes para neutralizar antígenos vacinais, mas não para impedir a infecção pelo PVC virulento, devido a sua concentração (Baker et al, 1959; Meunier et al, 1980; Carmichael et al, 1983; Pollock & Carmichael, 1983; Macartney et al, 1988).

O fato da idade de maior frequência da doença coincidir com o decréscimo da quantidade de anticorpos maternos leva a falhas no programa de imunização ativa. A determinação da época em que os anticorpos maternos não mais interferem na vacinação, tornando-a bem sucedida, pode minimizar o risco de falha vacinal, que muitas vezes leva à perda de animais de estimação ou de alto valor comercial, bem como contribuir para a credibilidade do profissional veterinário e/ou do fabricante de vacina.

No Brasil, não é comum a prática de realização de teste sorológico previamente à vacinação. O diagnóstico sorológico pode ser efetuado dentre outras técnicas pela inibição da hemaglutinação(HI), baseado na propriedade hemaglutinante do PVC. É um teste com rápido resultado, leitura fácil que não emprega equipamentos sofisticados, com reagentes de baixo custo e fácil armazenamento e cujo custo comercial está muito aquém de uma dose vacinal.

O esquema de imunização para parvovirose canina é variável, sendo indicadas de duas a quatro doses vacinais intervaladas de 15 a 30 dias, a partir da sexta a oitava semana de idade (Pollock & Coyne, 1993).

Este trabalho teve como objetivo determinar o perfil sorológico de anticorpos hemaglutinantes contra parvovírus canino em cadelas e seus filhotes recém-nascidos, em condições de campo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Etiologia

O parvovírus canino (PVC) é um vírus pequeno (Latim: Parvus = pequeno), com 18-26 nm de diâmetro, não envelopado, pertencente a família Parvoviridae. Por apresentar genoma do tipo DNA de fita simples, replica-se somente em células na fase mitótica como as do intestino delgado, sistema linfóide, medula óssea e tecido fetal. Possui a capacidade de hemaglutinar hemácias de suínos, macaco Rhesus e gato. O PVC é altamente relacionado aos vírus da panleucopenia felina (PLF) e da enterite de mink (EVM) diferenciando-se apenas por algumas bases de DNA, daí acreditar-se que tenha surgido devido a mutação de vírus vacinal da PLF em cultura de tecidos (Pollock & Coyne, 1993; Greene, 1990).

Há amplas evidências que o PVC é um vírus novo, pois Carmichael et al, (1980), analisando 757 amostras de soros, coletadas nos Estados Unidos, no período de 1971 a 1978, demonstraram que até na metade do ano de 1978 a soroprevalência permanecia em torno de 10%.

Gordon & Angrick, (1986) mostraram que o PVC é muito resistente a inativação, podendo permanecer por até 12 meses no solo contaminado com material fecal, em condições favoráveis. Sobrevive por 15 minutos a 80° C, 24 horas a 56° C, duas semanas a 37° C e por três meses a 20° C. Em freezer -70° C o título viral em 12 meses varia de $10^{5.5}$ para $10^{4.3}$ TCID₅₀/ ml, podendo ser inativado por formalina a 0,5% ou solução de hipoclorito comercial 1:32.

2.2 Epidemiologia

A infecção por PVC tem sido descrita em cães domésticos, cachorro do mato, coiotes, raposas silvestres, lobos-guarás, raposas azuis e lobos cinzentos, sendo provável que muitos canídeos, senão todos, sejam susceptíveis (Greene, 1990).



Em 1982 observou-se alta prevalência em canis comerciais, cães de rua e canídeos silvestres dos Estados Unidos (Pollock & Carmichael, 1982)

Estudos realizados no Brasil mostraram que o vírus parece ser bastante prevalente, atingindo cães, na grande maioria, jovens não vacinados e organicamente deficientes (Barcelos et al, 1985).

Ribeiro (1988) encontrou a frequência parvovirose canina em Belo Horizonte MG (Brasil) no período de 1985/86 como sendo 11,19 %.

Alves (1996) também encontrou em Belo Horizonte - MG (Brasil), no período de 1987 a 1984 doenças do aparelho digestivo com frequência de 17,84 %, estando a parvovirose incluída entre elas por não ter sido feito o diagnóstico etiológico da doença.

2.3 Doença

Antes do isolamento do PVC, acreditava-se que a causa do surto súbito de diarreia ocorrido em pelo menos três continentes, era devido ao Minute Virus Canino (MVC). Após investigações por microscopia eletrônica e tentativas de multiplicação do vírus em células descobriu-se que o MVC possuía patogenicidade incerta e anticorpos contra MVC eram comuns em cães (Binn et al, 1981; Carmichael et al, 1980; Meunier et al, 1981).

Embora a parvovirose seja sistêmica, a apresentação clínica em populações indenes se dá como miocardite ou enterite, que atinge cães na faixa de duas a 20 semanas de idade. A persistência de anticorpos no nível acima do protetor, na maioria dos animais, logo após o nascimento, interfere com o aparecimento da forma miocárdica. Os anticorpos, neste período, são suficientes para defender o organismo do agente agressor enquanto ocorre o desenvolvimento do coração por hiperplasia. A fase crítica ou refratária da imunidade coincidiria com o desenvolvimento do coração por hipertrofia não sendo mais as células miocárdicas alvo do PVC (Greene, 1990) .

O vírus é transmitido principalmente por meio de contato oral com fezes que contém grande número de partículas infecciosas. Os principais sinais clínicos são a febre, vômito, diarreia hemorrágica (55%) ou não hemorrágica (45%), desidratação, depressão, anorexia, letargia (Kramer et al, 1980) .

Após a ingestão do vírus, ocorre a replicação primária nos tecidos linfóides da orofaringe, linfonodos mesentéricos e timo. Viremia de baixa magnitude tem sido detectada no primeiro ou segundo dia pós-infecção. O desenvolvimento de lesões histológicas é paralelo à replicação do vírus. Necrose do epitélio germinal de glândulas intestinais leva à incapacidade de recuperação do epitélio intestinal. Necrose das criptas intestinais levam ao aumento da permeabilidade e diminuição da absorção, seguida por enterite e diarreia. Medula óssea e tecido linfóide também são afetados resultando em leucopenia e linfopenia (Pollock & Carmichael, 1990).

2.4 Imunidade e imunização

Como em outros vertebrados, no desenvolvimento do sistema imunitário dos canídeos, o timo é o primeiro órgão a iniciar a produção de linfócitos. Geralmente está protegido da exposição ao antígeno, em parte por meio de uma barreira criada por membrana epitelial que cerca os vasos sanguíneos da cortical tímica. Ele não participa diretamente das reações imunes, mas, por outro lado, oferece o microambiente necessário para a maturação de células do sistema imunitário. Em cães, a diferenciação do timo ocorre no terço inicial da gestação (aproximadamente aos 28 dias). Mas, somente no terço final da gestação, o feto se torna imunocompetente (Tizard, 1996; Stites & Teer, 1992).

Apesar de saírem de um ambiente essencialmente estéril como o útero, os cães neonatos, mesmo encontrando um ambiente rico em antígenos são capazes de responder imunologicamente a esses estímulos. A resposta imune no cão neonato entretanto é imatura, em comparação com a resposta completa desenvolvida no cão adulto imunocompetente. A lentidão no aparecimento da resposta imunológica, acompanhada por baixa concentração de anticorpos pode levar os neonatos a morte, quando diante de organismos que facilmente seriam superados por animais adultos imunocompetentes (Tizard, 1996).

A persistência de anticorpos maternos está relacionada com a atividade proteolítica no trato intestinal a qual, em animais mais jovens, é menor e pela permeabilidade da mucosa intestinal que é mais alta após o nascimento, declinando rapidamente. Níveis máximos de imunoglobulinas podem ser encontrados de 12 a 24 horas após o nascimento. No período de um a dois dias após o nascimento, as imunoglobulinas, mesmo estando presentes no leite, não são mais

absorvidas pelo intestino delgado, como logo após o nascimento, por ocorrer substituição nas células intestinais por células intestinais por um grupo celular impermeável às imunoglobulinas (Brambell, 1970; Tizard, 1996).

Carmichael et al (1962), estimaram que títulos máximos de anticorpos neutralizantes para hepatite infecciosa canina (HIC) podem ser atingidos até 72 horas após o nascimento. Os anticorpos maternos podem persistir por um período variável até que o animal possa responder de forma adequada aos estímulos antigênicos.

Gooding & Robinson (1982), determinando títulos de anticorpos HI maternos para PVC em soros de 39 filhotes de sete ninhadas demonstraram que 71 % das ninhadas havia recebido anticorpos maternos via colostro e que persistiram por até 10 semanas.

Carmichael et al (1981), testando a resposta imune à vacina viva modificada para PVC em cães vacinados via oro-nasal em várias idades encontraram a persistência de anticorpos maternos por até 14 a 18 semanas de idade, promovendo falha na resposta vacinal.

Muitos fatores, como a morte da mãe, competição entre filhotes, mamite infecciosa, agalaxia, manejo inadequado dos filhotes, fatores genéticos entre outros, podem afetar a transmissão e a absorção de anticorpos através do colostro e consequentemente a duração da imunidade passiva. A baixa concentração de anticorpos no colostro, como ocorre em caso de parto pré-maturo, pode levar a baixos níveis de absorção. Scott et al (1970a), coletando o soro de gatinhos antes e após mamar o colostro, encontraram títulos de anticorpos soroneutralizantes para panleucopenia felina correspondentes a 3% e 77 % respectivamente ao título da mãe. Pollock & Carmichael (1982), observaram que aproximadamente 90 % dos anticorpos para parvovirose canina foram transferidos de cadelas imunes para seus filhotes por via colostrar.

Embora nenhum trabalho medindo a influência da relação entre título do filhote X tamanho da ninhada tenha sido realizado, muitos autores sugerem que a quantidade de colostro disponível para cada filhote torna-se inversamente proporcional ao tamanho da ninhada devido a disputa por alimento (Tizard, 1996).

Também Pollock & Carmichael (1982), titulando anticorpos maternos para parvovirose canina transferidos a filhotes observaram que

possuíam título correspondente em média a 60 % ao título da mãe após mamarem o colostro.

Com o tempo, os anticorpos maternos transferidos através do colostro decrescem exponencialmente. A meia-vida dos anticorpos é definida como o tempo necessário para que a quantidade de anticorpos decresça em 50 %, em relação do título inicial.

Scott et al (1970b), encontraram variações na meia-vida de anticorpos soroneutralizantes para panleucopenia felina entre gatinhos de várias ninhadas estudadas, porém a meia-vida dos anticorpos era semelhante entre gatinhos de uma mesma ninhada. Pollock & Carmichael (1982), encontraram que anticorpos HI para parvovirose canina declinaram com uma meia-vida de 9,7 dias em 105 filhotes de 23 ninhadas. A duração normal da proteção contra a parvovirose canina, que corresponde ao intervalo no qual as vacinas não são efetivas, foi em média de oito a 11 semanas.

Winters (1981), estudando o tempo de decréscimo de anticorpos maternos transferidos pelo colostro para três viroses caninas (raiva, cinomose e hepatite infecciosa) coletou soro de 14 fetos e destes após o nascimento pelo período de 45 dias. Também foram medidos os níveis de anticorpos para essas três viroses no leite e no soro das respectivas mães concorrentemente. Níveis de anticorpos para as três viroses foram detectados através de radioimunoensaio em 10 dos 14 fetos. O autor observou que títulos de anticorpos medidos no leite das mães diminuíram rapidamente, enquanto no soro dos recém-nascidos em suas ninhadas ocorria queda uniforme. Os mais altos títulos de anticorpos para todas as três viroses foram observados nos soros coletados das mães ao longo do experimento. Estes resultados além de confirmarem a transferência de imunidade passiva da mãe para filho, mostram que níveis de anticorpos maternos em soro de recém-nascidos decrescem gradativamente após o nascimento.

Macartney et al (1988), estudaram dois grupos de filhotes, um imunizado passivamente por administração de soro hiperimune e outro com anticorpos maternos, ambos inoculados oralmente com PVC virulento de origem fecal e um grupo controle soronegativo. Os autores encontraram que o declínio nos títulos de anticorpos passivos nos dois grupos que receberam anticorpos foi mais rápido após a inoculação do que antes. Embora os cães tenham se tornado clinicamente afetados, o surto de sinais clínicos, a soroconversão e excreção fecal do vírus foram mais demorados em relação ao grupo controle. Esses achados

tiveram importantes implicações, pois tendo sido prolongado o período de incubação da doença, tornou-se mais difícil estimar com exatidão a época da infecção em animais clinicamente afetados. Assim, programas de imunização podem ser complicados em áreas endemicamente afetadas devido ao declínio rápido dos anticorpos maternos, quando se utiliza a prática de isolamento e separação de filhotes antes que os anticorpos maternos transferidos via colostro atinjam níveis recomendáveis para a vacinação.

Títulos de anticorpos maternos HI são considerados protetores contra a PVC quando maiores ou iguais a 80 (1,9 log). Quando o animal se encontra com tais níveis, geralmente, seus anticorpos conseguem neutralizar o antígeno vacinal. Títulos de anticorpos maiores que 10 (1,0 log) e menores que 80 (1,9 log) foram encontrados em 98 % de cães com duas a 16 semanas de idade e interferiram com a resposta à vacinação não promovendo resposta e deixando-os susceptíveis a infecção. Quando o título estava próximo de 20 (1,3 log), somente cerca de 50 % dos animais vacinados responderam à vacinação (Carmichael et al, 1984). Gooding & Robinson, (1982), vacinando 39 filhotes em diversas idades demonstrou que títulos de anticorpos maternos menores que 20 (1,3 log) impediam a resposta pelos filhotes. Oito de 13 filhotes (61%) responderam a vacinação quando o título era menor que 20 (1,3 log) e 85 % de cães que adoeceram com parvovirose canina possuíam títulos menores que 80 (1,9 log) não tendo respondido à vacinação.

O período em que os filhotes encontram-se protegidos de infecção pela presença de anticorpos maternos em níveis considerados protetores é de duração relativa e dependente de inúmeras variáveis. Várias estratégias para reduzir o período de susceptibilidade dos animais a doenças devido à ação dos anticorpos maternos, através da vacinação em época adequada, tem sido sugeridas. Baker et al (1959), na tentativa de promover a imunização de filhotes contra a cinomose, propuseram um nomograma que levou em consideração a relação entre o título sorológico da mãe e o título dos filhotes para indicar a idade ótima em que a resposta a vacinação seria satisfatória. Scott et al (1970a), estudando a transferência de imunidade materna para panleucopenia felina propuseram um nomograma semelhante ao de Baker para a obtenção de sucesso no programa de imunização, entretanto os autores levaram em consideração o título da mãe no pré-parto e o título inicial do filhote, diminuindo assim possíveis erros quanto à variação dentro da ninhada.

O desenvolvimento de vacinas para proteção contra parvovirose canina iniciou-se tão logo quanto o aparecimento da doença. Dada a similaridade entre o vírus da parvovirose canina e o da panleucopenia felina, vacinas produzidas com PLF foram utilizadas inicialmente para imunização de cães contra parvovirose canina. Pollock & Carmichael (1982), obtiveram um padrão de respostas de anticorpos semelhante ao produzido por ambas vacinas, embora a resposta sorológica inicial tenha sido maior nas vacinas produzidas com PVC inativado.

Vacinas com PLF inativado aplicadas em cães com seis a 12 semanas de idade induziram a títulos HI médios de 40 (1,6 log) a 80 (1,9 log) que persistiram por apenas três meses após a inoculação, enquanto vacinas com PLF vivo modificado promoveram resposta inicial alta e os títulos protetores foram em média entre 160 e 640, tendo persistido por pelo menos 12 meses (Appel et al, 1979; Pollock et al, 1983).

A vacina com PVC inativado com alta massa antigênica induziu imunidade de curta duração, sendo que cães vacinados puderam ser infectados 12 semanas após a vacinação como demonstrado por Pollock et al (1983) quando comparadas à vacina com PVC vivo modificado que produziu altos títulos que persistiram pelo menos 24 meses.

Carmichael et al (1983), observaram que vacinas com PVC atenuado foram mais seguras e mais efetivas, promovendo redução de mortalidade, alta taxa de imunidade (95%) em filhotes soronegativos, quando avaliadas em animais experimentais e animais de campo, que a vacina com PLF atenuado, ou vacinas inativadas sem adjuvantes.

Mesmo com alterações antigênicas observadas no PVC nos anos 80, vacinas produzidas com antígenos isolados anteriormente produziram boa resposta imunogênica em cães vacinados (Appel et al, 1987).

Vacinas compostas com peptídeos sintéticos marcados permitiram diferenciar cães vacinados expostos ao vírus e cães que não foram infectados com o vírus (Langeveld et al, 1994).

Embora infecções por PVC tenham diminuído bastante desde que vacinas efetivas têm sido utilizadas, falhas de vacinação ainda são comuns. Diversos fatores ligados à vacina e a erros humanos e ao hospedeiro podem contribuir para a falha vacinal. Dos fatores ligados à vacina, a inativação durante o manuseio, armazenamento impróprio, não proteção de 100 % da população, uso de desinfetantes sobre

agulhas e seringas, amostras erradas e excessiva atenuação. Com relação a falhas humanas, a mistura imprópria de produtos, uso corrente de antimicrobianos, uso simultâneo de antisoro, administração de vacinas em pequenos intervalos e vias erradas de administração, podem levar a falhas vacinais. Dos fatores ligados ao hospedeiro podem ser destacados a imunodeficiência, idade, gestação, estresse, pirexia e hipotermia, doenças em período de incubação na época da vacinação, medicamentos, flutuações hormonais, debilidade e a interferência com anticorpos maternos (Swango, 1983; Greene, 1990).

Vacinações com seis, nove, doze e quinze semanas de idade tem sido recomendadas (Swango, 1983). Já Olson et al (1988), encontraram soroconversões mais consistentes quando foram administradas no mínimo quatro doses de vacina em uma série, antes de 18 semanas de idade, em comparação com menor número de doses vacinais. Cadelas adultas devem ser vacinadas preferencialmente duas semanas antes do cruzamento (Greene, 1980).

2.5 Diagnóstico sorológico

Várias técnicas sorológicas foram desenvolvidas com a finalidade de determinar o estado imune do animal e avaliar respostas vacinais ao PVC. Dentre estas técnicas a inibição da hemaglutinação (HI), hemólise radial, soroneutralização (SN), testes imunoenzimáticos direto e indireto (ELISA) são as mais comumente usadas. As técnicas de imunofluorescência, radioimunoensaio, redução de placas, imunoeletroforese e imunodifusão também podem ser utilizadas para sorologia (Appel, 1987).

Quando diferentes técnicas são comparadas a acuidade e a interpretação de resultados da sorologia para parvovirose canina parece ser incerta embora algumas técnicas sejam mais sensíveis que outras. Luff et al (1987), enviando diversas amostras de soros de cães para diferentes laboratórios, as quais foram submetidas a testes de HI, SN e ELISA, constataram que a mesma amostra submetida a diferentes testes dentro de um laboratório apresenta correlação de títulos, porém esta mesma amostra quando comparada aos resultados de outros laboratórios apresenta disparidades.

Fundamentado na propriedade hemaglutinante do PVC o teste de HI tem sido o mais comumente usado para detecção de anticorpos para parvovirose canina e também para correlação com outros testes

sorológicos. A técnica consiste basicamente em colocar diluições do soro a ser testado frente a um PVC padrão com título conhecido, sendo o título expresso como o inverso da maior diluição em que se observa 100 % de inibição da hemaglutinação (Carmichael et al, 1980; Pollock & Coyne, 1993). Condições para se obter resultados onde a aglutinação espontânea e o pH ótimo fossem controlados foram desenvolvidas por Senda et al (1986), baseadas em técnicas descritas por Clarke & Casals, 1958, para vírus transmitidos por artrópodes.

Testes de SN em cultura de tecidos são mais sensíveis que testes de HI, apresentando títulos até cinco vezes maiores, quando 300 TCID₅₀ são usadas na SN (Carmichael et al, 1984) embora seja mais trabalhoso e o tempo para leitura maior que o HI (Scott et al, 1970b). Vários fatores foram encontrados como sendo influentes no teste de SN : tipo e grau de confluência das células, amostra de vírus usada e a porcentagem de vírus infectivo e não-infectivo da suspensão viral (Wallace et al, 1983).

O teste de hemólise radial descrito por Fastier (1981), utiliza-se de gel agarose contendo o PVC. No gel são adsorvidas hemácias de suínos. Soros previamente diluídos colocados em contato com o gel promovem zonas hemolíticas variáveis correlacionadas com títulos de HI pelo seu diâmetro. Títulos de HI iguais a 80 corresponderam a zonas hemolíticas de aproximadamente 7 mm de diâmetro. O autor recomenda o teste principalmente para rastreamento de soros em estudos epidemiológicos.

A técnica de imunofluorescência indireta é usada por alguns laboratórios. Culturas de células infectadas são cobertas com diluições do soro a ser testado. Após a incubação e lavagem, as culturas são coradas com conjugado (anti-imunoglobulina canina e fluoresceína). Se o soro teste contiver anticorpos anti-PVC eles se ligam às células infectadas e consequentemente coradas pelo conjugado. Este método permite a diferenciação de classes de imunoglobulinas anti-PVC, mas é menos sensível que a técnica de HI (Appel & Carmichael, 1987).

Fiscus et al (1985), desenvolveram um teste ELISA rápido para detecção de anticorpos para parvovirose canina. O teste levou apenas 10 a 15 minutos para ser realizado tendo-se preparado os componentes anteriormente e não requereu nenhum equipamento especializado. O resultado pode ser lido visualmente e os títulos estavam bem correlacionados com os da SN (94,4%) e HI. Alta correlação (87,9%) também foi encontrada por Madic et al (1987), entre os títulos de ELISA e HI. A otimização de cada componente do teste foi realizada visando

promover a discriminação máxima entre o soro positivo e o negativo (Winston et al, 1987).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais

Para este estudo foram utilizadas 16 cadelas e suas respectivas ninhadas, sendo oito animais da raça Beagle, dois animais da raça Rottweiler, dois animais da raça Cocker, um animal das raças Poodle, Weimaraner, Danshound e Pointer. Os animais pertenciam a canis comerciais e a proprietários particulares do município de Belo Horizonte-MG. Todas as mães foram vacinadas quando filhotes no esquema de três doses intervaladas por 30 dias. Vacinações até um ano antes dos cruzamentos não foram feitas. Alguns filhotes foram vacinados durante o período experimental. A escolha do produto ficou a critério dos proprietários. Nenhuma avaliação quanto à eficiência da vacinas foi efetuada uma vez que o número de animais, falta de regularidade nas idades de vacinações, estado nutricional, possibilidade de exposição não controlada ao vírus de campo não permitiriam avaliações neste sentido. Alguns filhotes foram acompanhados por mais tempo que outros de acordo com a situação em particular, por tratar-se de um experimento de campo. Assim a venda, a morte e até mesmo a permissão de proprietários determinou o acompanhamento sorológico do animal.

3.2 Amostras

Foram coletadas amostras de soro das cadelas 10 dias a 24 horas pré-parto, 48/72 horas pós-parto e quinzenalmente. De seus filhotes, as coletas foram realizadas 48/72 horas após o nascimento e quinzenalmente em um total de oito coletas. Entretanto, tratando-se de experimento em condições de campo, alguns animais não seguiram esta estratégia previamente estabelecida e o número de amostras foi portanto, variável entre as ninhadas e dentro das ninhadas. Os filhotes foram identificados através de colares numerados, ajustáveis ao pescoço em função do rápido crescimento dos filhotes.



Foram coletadas amostras de sangue das cadelas e filhotes no próprio canil e nas residências num total de 464 amostras no período de junho de 1994 a julho de 1995.

As amostras foram obtidas por punção da veia jugular, com agulhas individuais 25x8 e seringas de 3 ml para filhotes e 5 ml para cadelas, sendo o sangue depositado em tubos de ensaio sem anticoagulante de 10 ml para a obtenção do soro. As quantidades de sangue coletadas foram 1 ml para os filhotes e 3,5 ml para as cadelas.

As amostras foram mantidas em estante inclinada à temperatura ambiente até a coagulação, e transportadas ao Laboratório de Virologia do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da UFMG. No laboratório as amostras foram mantidas em geladeira a 4° C por 20 a 30 minutos para auxiliar na separação do soro. Após este período o coágulo foi retirado e o material centrifugado por 15 minutos a 1000 rpm em centrífuga clínica. Os soros foram armazenados em frascos devidamente identificados e mantidos em freezer a - 20° C até a realização dos testes.

3.3 Vírus padrão

Amostra padrão de PVC utilizada no Laboratório de Virologia do Departamento de Medicina Veterinária da Escola de Veterinária da UFMG com título hemaglutinante maior que 256, foi utilizada como semente para a produção de maiores quantidades de suspensão viral empregadas na técnica de HI. A suspensão inicial foi diluída 10 vezes em meio de cultura L-15 sem soro fetal. Foram inoculados 1,5 ml em garrafa de cultivo celular que continha $2,8 \times 10^7$ células de rim de gato (CRFK). A garrafa, mantida por cinco dias em estufa à 37° C, foi então submetida a três ciclos de congelamento e descongelamento (-80° C). Após o terceiro congelamento todo o material foi recolhido e centrifugado em centrífuga refrigerada Sorvall à 4° C, a 6000 x g por 60 minutos para clarificação. O sobrenadante foi recolhido, aliquotado e armazenado a - 80° C para posterior titulação.

3.4 Titulação do vírus padrão

A suspensão viral produzida foi titulada através da técnica de hemaglutinação (HA). O teste foi efetuado em microplacas de 96 poços com fundo em "V". Utilizou-se solução de salina borato (BBS) com 0,2%

de soroalbumina (SAB) pH 9,0 para diluição da suspensão viral. Inicialmente, diluição decimal da suspensão viral foi feita e a partir dela diluições duplas para o teste (50 μ l). Igual volume de suspensão de hemácias de suíno a 0,5% em solução VAD AB ("virus adjusting diluent"), pH 6,4 foi adicionado a cada diluição. Incubou-se a placa por uma hora a 37° C. A leitura foi feita a olho nu, sendo o título determinado pela maior diluição em que houve hemaglutinação completa. Para a suspensão produzida o título foi 160/50 μ l, sendo então ajustada para se obter 8 unidades hemaglutinantes (UHA)/50 μ l. Foram mantidos controles de hemácias na placa (Clarke & Casals, 1958; Senda et al, 1986).

3.5 Inibição da hemaglutinação (HI)

A pesquisa de anticorpos foi realizada através do teste de HI, em placas de 96 poços, de fundo em "V", utilizando-se hemácias de suínos (Carmichael et al, 1980; Senda et al, 1986), que basicamente consistiu em colocar diluições duplas do soro a ser testado em BBS pH 9,0 com 0,2 % de SAB, frente a amostra padrão do PVC com título conhecido (8 UHA) em volumes iguais (50 μ l). A mistura soro-vírus foi mantida a temperatura ambiente para formação do complexo antígeno-anticorpo por uma hora. Após este período 50 μ l de suspensão de hemácias de suíno 0,5 % foram colocados em todos os poços da placa. A placa foi incubada por 18 horas a 4° C, após este tempo a leitura foi feita visualmente sendo o título expresso como o inverso da maior diluição em que se observa 100 % de inibição da hemaglutinação. Foram mantidos controles de soro padrão positivo (soro hiperimune 1:100) e controle negativo (filhote F6 da ninhada N15, na nona coleta).

3.6 Análise de dados

Os resultados obtidos foram submetidos à análise descritiva. Os parâmetros analisados foram os títulos sorológicos das mães pré e pós-parto, títulos sorológicos dos filhotes, tempo de duração dos anticorpos maternos, diferenças intra e entre ninhadas. Foi avaliada ainda a porcentagem de transferência (PT) como a relação percentual entre os títulos sorológicos da mãe e dos títulos sorológicos dos filhotes (título do filhote com 48/72 horas de idade x 100 dividido pelo título da mãe no pré-parto). Considerando as condições experimentais de campo a PT inclui o título de anticorpos passivos transferidos por via placentária e o

título de anticorpos passivos transferidos por via colostrar e absorvidos através da mucosa intestinal.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os títulos de HI de todas as cadelas durante o período de experimento são apresentados no quadro 1. Das 16 cadelas somente sete possuíam título pré-parto conhecido (C1, C2, C6, C7, C9, C10, C12, C13), cujos resultados de transferência de imunidade passiva foram avaliados e serão discutidos posteriormente. O conhecimento dos títulos de anticorpos HI no pré-parto foram limitados por fatores tais como partos inesperados, desconhecimento da data provável de cobrição e consequentemente do parto, animais incorporados ao experimento quando já tinham parido. Os títulos de anticorpos HI para PVC do período pós-parto permaneceram moderadamente constantes em relação ao período pré-parto. Nas cadelas C1, C6, C7, C9, C10 os títulos foram exatamente iguais antes e pós-parto, enquanto as cadelas C2, C12, C13 tiveram pequena variação. Todas as cadelas possuíam títulos bem acima do considerado protetor: 80 (1,9 log) o que favoreceria a transferência satisfatória de anticorpos para os filhotes como encontrado por Pollock & Carmichael (1982). Até o fim das observações os títulos de algumas dessas cadelas sofreram alterações, como demonstrado no gráfico 1. As alterações, entretanto, são de pouca ênfase uma vez que os aumentos ou diminuições sequer atingem valores abaixo do nível considerado protetor. Cadelas C7 e C9 não apresentaram variações nos títulos durante todo o período de observação. O perfil sorológico das cadelas, cujos títulos pré-parto não são conhecidos (C3, C4, C5, C8, C11), também está demonstrado no gráfico 1. Em C4, C5, C14 não houve variação nos títulos durante todo o período de observação. Embora flutuações nos títulos tenham ocorrido, os animais permaneceram sempre acima do nível considerado protetor. De todas as cadelas que participaram do experimento somente quatro (C8, C15, C16, C3) foram revacinadas anualmente, mas não na pré-cobrição. As demais haviam sido vacinadas contra PVC há mais de três anos e também não foram vacinadas na pré-cobrição. Nos dois grupos, cadelas com título pré-parto conhecido e cadelas com pré-parto desconhecido, os resultados encontrados ao longo do período de observação vão de encontro com o observado por Carmichael et al, (1983), que afirmam que animais adultos, em geral, possuem imunidade contra PVC quer por reinfecção natural quer por imunização ativa e que esta imunidade pode permanecer constante por até 24 meses.

Nenhuma das cadelas deste experimento foi vacinada no período pré-cobrição, entretanto aquelas cujos anticorpos foram titulados pré-parto demonstraram altos níveis de anticorpos HI para parvovirose (Quadro 1, gráfico 1).

A administração de vacina 15 dias pré-cobrição é recomendada com o objetivo de promover aumento nos níveis de anticorpos das cadelas e consequente transferência para os filhotes. Vacinas inativadas são recomendadas neste período para evitar problemas para o feto, tais como a infecção via útero, lesões em órgãos do feto, morte fetal (Greene, 1980).

Os valores dos títulos de anticorpos HI transferidos passivamente das 16 cadelas para seus filhotes no período de dois até 90 dias pós-parto estão apresentados na tabela 2. Observamos através do valor médio que, logo após o nascimento, todos os filhotes possuíam títulos de anticorpos HI acima do considerado protetor por Carmichael et al, (1983) (maior ou igual a 80 ou 1,9 log). Com o aumento da idade ocorre decréscimo nos níveis de anticorpos HI sendo que aos 46-60 dias de idade, o valor médio dos títulos HI de anticorpos dos filhotes foi de 63 (1,8 log). Considera-se como período refratário ou crítico aquele em que os títulos sorológicos são insuficientes para proteção contra o vírus patogênico porém suficientes para neutralizar o antígeno vacinal com consequente resposta imune inadequada. Segundo Gooding & Robinson (1982) e Carmichael et al (1983), os limites inferiores dos títulos HI considerados como dentro do período refratário são menor ou igual a 20 (1,3 log) ou menor que 10 (1,0 log), respectivamente, ambos concordando com o limite superior maior ou igual a 80 (1,9 log).

De acordo com os dados apresentados na tabela 1 podemos sugerir um esquema de vacinação com tres doses vacinais sendo a primeira aos 46 dias de idade com o objetivo de provocar o decréscimo rápido de anticorpos residuais (títulos de anticorpos entre 20 e 80, 1,3 e 1,9 log respectivamente), a segunda dose 15 dias após a primeira e a terceira 15-30 dias após a segunda.

A prática adotada pela maioria dos médicos veterinários em relação a primovacinação para parvovirose canina em conjunto com a primovacinação contra a cinomose deve ser revista. Testando os filhotes do presente experimento, Souza (1996) encontrou persistência de anticorpos maternos neutralizantes para cinomose até 16 dias de idade sugerindo vacinação mais precoce que a comumente praticada.

Se fossemos seguir a data de vacinação então determinada para o vírus da cinomose provavelmente todos os filhotes seriam vacinados para parvovirose canina dentro do período em que estariam protegidos por anticorpos maternos para parvovirose e conseqüentemente a resposta vacinal seria inadequada. Tanto vacinações para parvovirose e outras doenças infecciosas devem ser realizadas separadamente e não em conjunto simplesmente por questões de comodidade levando também em consideração os títulos de anticorpos maternos dos filhotes que podem interferir com a vacinação. Por outro lado, deve-se considerar a praticidade das vacinas polivalentes. Como antígenos administrados em pequenos intervalos podem interferir na imunização, é aconselhável administrar vacinas atenuadas monovalentes, ou polivalentes simultaneamente com intervalo de duas a três semanas entre a vacinação com diferentes antígenos sendo este período suficiente para superar esta interferência. Diante dos resultados encontrados poderia ser sugerida a vacinação com vacina tríplece polivalente (hepatite, leptospirose, cinomose), seguida de vacinação mais tardia para parvovirose canina, ou ainda vacinação com vacina monovalente para cinomose, seguida de vacinação mais tardia para parvovirose canina.

Alves (1996) ressalta a importância de se conhecer o agente etiológico e os fatores epidemiológicos envolvidos na ocorrência de doenças para prescrição de melhor esquema de vacinação.

Considerando como sendo maior que 80 (1,9 log) o título de anticorpos HI protetor para PVC, as ninhadas N2, N8, N10 tiveram seus títulos igual ou abaixo do nível mínimo protetor a partir dos 30 dias de idade. No caso da ninhada N10, os filhotes F2 e F3 foram vacinados aos 56 dias de idade e a ninhada apresentou entre 61-75 dias aumento do título médio de até sete vezes o valor considerado protetor, ou seja entre 45-60 dias de idade os filhotes apresentavam em média título 12 (1,1 log), com 70 dias de idade o título era de 446 (2,6 log). Estes filhotes foram vacinados no chamado período crítico e responderam bem à vacinação, concordando com o observado por Gooding & Robinson (1982) onde alguns animais, mesmo no período crítico, conseguiram responder bem à vacinação. Os filhotes da cadela C8 vacinados aos 76 dias de idade apresentaram títulos aumentados na semana seguinte à vacinação, mas que não se mantiveram em níveis protetores já entre 76-90 dias de idade. Isto confirma os achados de Carmichael et al (1983) que encontraram 95 % de animais com títulos inferiores a 10 (1,0 log) respondendo à vacinação. Filhotes da cadela C2 não mais foram observados após vinte dias de idade.

Os títulos individuais dos filhotes com respectivos históricos estão apresentados nos quadros 2 a 17 e gráficos 2 a 17.

A relação entre o título da cadela 10 dias/24 horas pré-parto, e de seus filhotes com 48/72 horas de idade foi estabelecida como porcentagem de transferência (PT) passiva de anticorpos HI, tendo sido o cálculo efetuado apenas nas cadelas em que foi possível a coleta de soro pré-parto (cadela C1, C2, C6, C7, C9, C10, C12, C13), conforme apresentado na tabela 2. Embora resultados da cadela C6 estejam apresentados na tabela e quadro 1 eles não foram considerados para cálculos de porcentagem de transferência (PT) pois os filhotes desta cadela foram separados da mãe logo após o nascimento. Os filhotes mamaram na cadela C4. Os títulos HI da cadela C6 e seus filhotes estão apresentados nos quadro e gráfico 17.

Entre os filhotes de uma mesma ninhada e entre ninhadas este índice foi bastante variável. A porcentagem média de transferência entre as ninhadas avaliadas foi de 86 %, variando de 63% a 102 %. Esta porcentagem é superior aos valores encontrados por Pollock & Carmichael, (1982) e Lida et al (1990), em cães SPFDa raça Beagle (60 % e 67 % respectivamente).

As diferenças observadas dentro das ninhadas (tabela 2) podem estar relacionadas a diversos fatores que interferem na transferência de imunidade passiva, como o título da mãe no pré-parto, habilidade materna, tempo de amamentação do colostro, número de filhotes, estado geral das glândulas mamárias, ou que interferem com a absorção de anticorpos, tais como quantidade de colostro mamado, estado geral dos filhotes, defeitos na mandíbula e impermeabilidade da membrana intestinal (Tizard, 1996; Swango, 1983; Baker, 1959; Scott et al, 1970a; Olson et al, 1988; Pollock & Carmichael, 1982a).

Os títulos HI para PVC foram próximos ao da mãe em 93,25 % dos filhotes observados, sendo que dos 32 filhotes (Tabela 2), somente F4 e F5 da cadela C10 (6,25 %) apresentaram títulos diferentes das mães e inferiores ao considerado protetor (1,3 e 1,0 log, respectivamente). Estes resultados estão de acordo com os observados por Pollock & Carmichael (1982) e Gooding & Robinson (1982) que encontraram títulos HI de filhotes próximos ao das mães no período pós-parto.

A coleta pré-parto foi realizada 48 horas antes na cadela C10 que teve uma ninhada de cinco filhotes. Os títulos de anticorpos HI contra PVC na cadela C10 e seus filhotes estão apresentados no quadro 2 e gráfico

2. Os títulos de C10 mantiveram-se durante o período de observação sempre acima dos níveis protetores com um valor mínimo de 640 (2,8 log) e máximo 2560 (3,4 log). As variações ocorridas podem ser explicadas pela infecção natural uma vez que este animal não foi submetido à vacinação. F1 apresentou na primeira coleta título de 160 (2,2 log). Nas segunda e terceira coletas o título era de 20 (1,3 log). Esta diferença do título inicial para os seguintes pode ser explicada pela degradação protéica e pelo crescimento do animal que funciona como fator de diluição. Após a terceira coleta (26 dias) F1 foi vendido. F4 apresentou título HI inicial de 20 (1,3 log) que se manteve em quase todo o período de observação, só variando na quarta coleta (40 dias) para 10 (1,0 log). Após a quinta coleta (56 dias) F4 foi vendido. F4 juntamente com F5 apresentaram uma das menores porcentagens de transferência (PT) de anticorpos dentro da ninhada e também dentre todos os filhotes deste experimento. Embora o número de filhotes desta cadela seja o esperado para a raça, a competição pelo alimento materno entre os filhotes influencia na transferência de anticorpos passivos, sendo este um fator que explicaria a baixa PT encontrada. Outros fatores que poderiam afetar a transferência passiva de anticorpos por via colostrar e consequentemente a absorção de anticorpos maternos, não foram controlados tais como a quantidade e o tempo de mamada do colostro, presença de tetos obstruídos, etc. F5 apresentou na primeira coleta (tres dias) o título HI de 10 (1,0 log) seguido de aumento na segunda coleta (13 dias) para 20 (1,3 log), e 80 (1,9 log) na terceira coleta (26 dias) morrendo logo após. Este aumento do título de anticorpos HI poderia ser atribuído ao contato do animal com vírus de rua, promovendo resposta imune ativa entretanto esta hipótese parece pouco provável uma vez que os outros filhotes submetidos às mesmas condições não apresentaram aumento nos títulos. F2 e F3 apresentaram na primeira coleta (tres dias) títulos HI de 320 e 640 (2,5 e 2,8 log) respectivamente. Nas coletas seguintes, nestes filhotes e no F1 o título HI apresentou-se diminuído. Na quarta coleta os títulos já eram de 10 (1,0 log) e somente na quinta coleta os títulos se mantiveram em 10 (1,0 log); F2 e F3 foram vacinados aos 56 dias de idade, tendo permanecido 16 dias com títulos inferiores ao mínimo protetor. Na sexta coleta (70 dias) seus títulos eram 640 e 320 (2,8 e 2,5 log) respectivamente podendo-se inferir que o aumento foi devido ao estímulo antigênico vacinal. F2, observado até a sétima coleta (84 dias), apresentou título de 640 (2,8 log), demonstrando manutenção do título protetor. F3 foi observado somente até a sexta coleta (70 dias). F2 e F3 confirmam resultados encontrados por Carmichael et al, (1983), que encontraram animais com títulos menores ou iguais a 10 (1,0 log) respondendo a vacinação.

Os quadro e gráfico 3 mostram os títulos HI de anticorpos para PVC na cadela C9 e seus cinco filhotes. A cadela C9, teve seu sangue coletado 48 horas pré-parto. O título encontrado 48 horas pré-parto foi de 10240 (4,0 log) e manteve-se durante todo o período de observação. Todos os filhotes apresentaram no segundo dia de idade títulos acima do considerado protetor. F4 apresentou a menor porcentagem de transferência de anticorpos (25%), dentre os filhotes desta ninhada. Com o decorrer do tempo houve decréscimo gradual de anticorpos em todos os filhotes concordando com o encontrado por Pollock & Carmichael (1982). F1 e F2, aos 49 dias de idade apresentaram títulos de 320 e 160 (2,5 e 2,3 log) respectivamente, sendo vendidos logo após. F3 e F4 apresentaram títulos HI de 640 (2,8 log) aos 28 dias de idade, morrendo logo após com diarreia. Aos 49 dias de idade, F5 apresentou título HI de 80 (1,9 log), seguido de aumento para 160 (2,2 log) aos 63 dias de idade e novamente queda para 80 (1,9 log) aos 77 dias, quando então foi vendido. F5 apresentou queda abrupta do título de anticorpos HI quando comparado com o restante da ninhada. Embora não tenha sido avaliado, o desenvolvimento físico do animal pode ter funcionado como fator de diluição dos anticorpos, bem como um comportamento metabólico acelerado deste animal em relação aos outros pode ter levado a degradação rápida dos anticorpos.

Os quatro filhotes da cadela C13 foram dentre todas as ninhadas os que apresentaram a maior taxa de transferência de anticorpos (102 %). Seus títulos HI para PVC estão apresentados nos quadro e gráfico 4. A cadela C13 apresentou durante todo o período de observação anticorpos sempre acima do nível considerado protetor quando comparado aos níveis pós-parto. Todos os filhotes aos dois dias de idade apresentaram altos níveis de anticorpos HI para PVC. F3 e F4 apresentaram títulos superiores ao da mãe. Como o título foi determinado 48 horas pós-parto, uma infecção logo após o nascimento não acarretaria, neste prazo, elevação detectável do título de anticorpos. A justificativa para o ocorrido poderia estar em infecção intra-uterina no terço final da gestação após o estabelecimento da imunocompetência, entretanto o título não cairia tão rapidamente mantendo-se no padrão da cadela ou ocorreria elevação dos níveis de anticorpos séricos da mãe quando do parto e do colostro. A variação ocorrida nos títulos de anticorpos desta cadela durante todo o período de observação é indicativa do estresse devido ao parto. Assim, o valor menor no período pré-parto, utilizado para o cálculo da porcentagem de transferência, conduz a aumento no valor desta. F2, F3 e F4 apresentaram título HI de 640 (2,8 log) aos 26 dias de idade, sendo vendidos logo após. Aos 15 dias de idade F1 foi

vendido, e apresentava título de 640 (2,8 log). Nenhum animal desta ninhada foi vacinado.

As ninhadas das cadelas C4, C5 e C14 cujos títulos HI no pré-parto não são conhecidos apresentaram comportamento semelhante entre elas, ou seja, cadelas imunizadas mantiveram seus títulos HI para parvovirose canina constantes e acima do nível protetor. Durante o período de observação, os filhotes apresentaram decréscimo gradual nos títulos de anticorpos exceto F2. Os filhotes da cadela C4 foram acompanhados até 16 dias de idade, quando foram vendidos. F1, F4 e F5 da cadela C5 foram acompanhados até 20 dias de idade; F2 morreu no intervalo entre 2 e 20 dias de idade e F3 foi acompanhado até 31 dias de idade quando foi vendido. F1, F2, F4 e F5 da cadela C14 foram acompanhados até 26 dias e F3 até 43 dias de idade sendo vendidos após este período. Nenhum filhote desta ninhada foi submetido a vacinação (Quadros 9, 10 e 11; gráficos 9, 10 e 11).

Os títulos de anticorpos HI para PVC da cadela C3 (Pointer) e seus oito filhotes estão apresentados nos quadro e gráfico 12. A cadela C3 não possui título pré-parto conhecido. Os filhotes permaneceram protegidos por anticorpos maternos até 40 dias de idade, exceto F2. Aos 53 dias F2, F3, F4, F5 apresentam-se abaixo do período crítico e foram vacinados. F1, F2, F3 e F6 foram doados após a vacinação e não mais acompanhados. F4, F5, F7 e F8 apresentaram aumento nos títulos de anticorpos HI na coleta seguinte, provavelmente como resposta à vacinação.

A cadela C8 (Weimaraner) manteve seus títulos HI sempre acima do nível considerado protetor durante todo o período de observação, sendo que aos 62 dias pós-parto o soro coletado foi insuficiente para a titulação. Quatro dos nove filhotes (F1, F2, F3, e F4) apresentaram título igual a 40 (1,6 log) na primeira coleta pós-parto (8 dias de idade) e os filhotes restantes títulos acima do nível protetor. Esta diferença de títulos de anticorpos pode estar relacionada à competição pelo alimento ocasionada pelo grande número de filhotes na ninhada; assim, alguns filhotes mamam mais tempo e maior quantidade de colostro e, conseqüentemente, maior taxa de absorção. Com o passar do tempo ocorreu queda nos títulos de anticorpos de todos os filhotes, embora algumas elevações nestes títulos possam ter ocorrido pelo contato do animal com o vírus de rua. F3, F4, F8 e F9 foram doados e não mais acompanhados. Aos 76 dias de idade os filhotes F1, F2, F5, F6, F7 foram vacinados com vacina tríplice e parvovirose canina. A partir desta data seus títulos sorológicos aumentaram, sendo titulados até 104 dias



de idade. Alguns animais mesmo estando dentro do período crítico (F1, F2, F6 e F7) responderam à vacinação, concordando com os achados de Carmichael et al (1983), que encontraram 50% de animais com títulos próximos de 20 (1,6 log) respondendo a vacinação.

A cadela C11 e alguns de seus oito filhotes foram observados até 100 dias de idade (quadro e gráfico 15). Todos os filhotes apresentaram decréscimo gradual nos títulos de anticorpos HI sendo que aos 58 dias os filhotes ainda em observação, foram vacinados. Embora F1 e F7 apresentassem títulos iguais e acima do nível protetor, F7 parece ter respondido à vacinação já que aos 86 dias de idade apresentava título elevado. Entretanto, o mesmo não ocorreu com F1 que apresentou decréscimo no título. Neste contexto, para uma melhor avaliação da resposta vacinal seriam necessárias condições controladas e maior número de animais.

A ninhada N15 com 10 filhotes apresentou decréscimo gradual de anticorpos maternos. F2 e F5 morreram entre 2 e 15 dias de idade com causa da morte desconhecida, e F7 após 42 dias. Os títulos HI da cadela C15 e seus filhotes estão apresentados nos quadro e gráfico 13. Como não foram diferenciados nos quadros os valores dos títulos menores que 10 (1,0 log) e os valores iguais a 10 (1,0 log), eventualmente, o valor expresso como 10 (1,0 log) pode significar menor que 10 (1,0 log). Assim aos 59 dias os filhotes F6, F8 e F10 encontravam-se abaixo do período crítico (considerando os valores menores que 10) e foram vacinados. Aumento nos títulos HI de anticorpos para PVC foi observado nas coletas seguintes provavelmente como consequência da vacinação. F3 e F9 com títulos iguais a 80 (1,9 log) apresentaram aumento nos títulos após a vacinação. F1 e F4 foram vacinados aos 67 dias de idade e apresentaram títulos aumentados nas coletas seguintes inferindo resposta à vacinação.

Os títulos sorológicos da cadela C16 e seus seis filhotes estão apresentados no quadro e gráfico 14. F1, F3, F5 e F6 foram observados até 34 dias sendo doados após este período. F2 e F4 foram vacinados (Tríplice e parvovirose) aos 38 e 64 dias, respectivamente. Ambos apresentavam nesta idade títulos de anticorpos acima do nível considerado protetor. F2 apresentou aumento de título na coleta seguinte à vacinação e F4 apresentou decréscimo sugerindo interferência dos anticorpos maternos com o antígeno vacinal. Na data da segunda dose (62 e 93 dias de idade respectivamente), F2 e F4 apresentaram títulos 160 (2,2 log) e 20 (1,3 log) respectivamente. Nenhum dos filhotes apresentou aumento dos títulos nas coletas

seguintes. F2 apresentou aos 104 dias sinais de prostração, vômito e diarreia sanguinolenta, sendo internado e falecendo no mesmo dia. F4 recebeu a terceira dose 30 dias após a segunda e 52 dias após faleceu depois de apresentar sinais de gastroenterite hemorrágica.

O perfil sorológico das cadelas C1, C2, C7 e C12 está apresentado nos quadros e gráficos 5, 6, 7 e 8 respectivamente. Todas as cadelas apresentaram título de anticorpos HI acima do nível protetor durante todo o período de observação, e todos os filhotes apresentaram decréscimo nos níveis de anticorpos. Nenhum animal destas ninhadas foi vacinado durante o período de observação.

Tabela 1- Cadelas que participaram do experimento.

C ⁽¹⁾	Raça	Nº de filhotes	Data de nascimento	Vacinação (2)	Procedência
1	Beagle	4		+ 3	C ⁽³⁾
2	Beagle	4		+ 3	C
3	Pointer	8		anual	P ⁽⁴⁾
4	Beagle	3		+3	C
5	Beagle	5		+3	C
6	Beagle	2		+3	C
7	Beagle	7		+3	C
8	Weimaraner	9	29/05/89	anual	P
9	Cocker	5		+3	C
10	Beagle	5		+3	C
11	Cocker	8		+3	C
12	Daschound	2		+3	C
13	Beagle	4		+3	C
14	Poodle	5		+3	C
15	Rottweiler	10	01/01/90	anual	P
16	Rottweiler	6	22/11/92	anual	P

(1) Cadelas

(2) Data da última vacinação contra PVC, em anos.

(3) Canil

(4) Particular

Quadro 1 - Títulos HI de 16 cadelas imunes para PVC (C1-C16)

D (1)	-10 a -1		3 a 15		16 a 30		31 a 45		46 a 60		61 a 75	
Títulos em logaritmo (2) e em número natural (3)												
C(4)	(2)	(3)	(2)	(3)	(2)	(3)	(2)	(3)	(2)	(3)	(2)	(3)
1	4,3	20480	4,3	20480	4,3	20480	4,0	10240	4,3	20480	-	-
2	3,4	2560	3,1	1280	3,7	5120	3,4	2560	-	-	-	-
3	-	-	4,0	10240	4,0	10240	4,3	20480	4,0	10240	4,0	10240
4	-	-	3,4	2560	3,4	2560	3,4	2560	-	-	-	-
5	-	-	3,7	5120	3,7	5120	3,7	5120	-	-	-	-
6	4,3	20480	4,3	20480	4,3	20480	-	-	-	-	-	-
7	3,4	2560	3,4	2560	3,4	2560	3,4	2560	-	-	-	-
8	-	-	3,7	5120	4,0	10240	4,0	10240	4,0	10240	-	-
9	4,0	10240	4,0	10240	4,0	10240	4,0	10240	4,0	10240	4,0	10240
10	3,1	1280	3,1	1280	2,8	640	3,1	1280	3,1	1280	2,8	640
11	-	-	3,1	1280	3,4	2560	3,4	2560	3,4	2560	3,7	5120
12	3,7	5120	4,0	10240	3,7	5120	4,0	10240	4,0	10240	3,4	2560
13	3,4	2560	3,7	5120	4,0	10240	3,7	5120	-	-	-	-
14	-	-	4,3	20480	4,3	20480	4,3	20480	4,3	20480	-	-
15	-	-	3,7	5120	4,3	20480	4,0	10240	4,0	10240	4,0	10240
16	-	-	3,7	5120	3,7	5120	-	-	4,3	20480	4,3	20480

(1) Dias em relação ao parto

(2) Título expresso como o inverso da diluição onde foi observado 100% de HI

(3) Título expresso em logaritmo

(4) Cadelas

- Não testados.

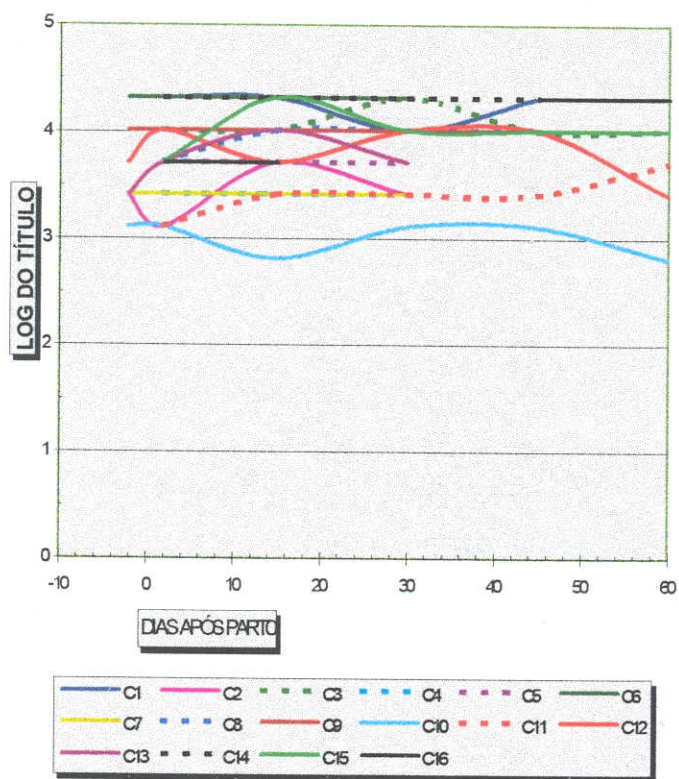


Gráfico 1 - Perfil sorológico para parvovirose canina em 16 cadelas imunes.

Tabela 2 - Título médio de anticorpos HI contra PVC em 16 ninhadas (87 filhotes) testados quinzenalmente de dois até 90 dias de idade.

NINHADA	NÚMERO DE FILHOTES	Título médio dos filhotes/ ninhada *						
		Idade em dias						
		2	3-15	16-30	31-45	46-60	61-75	76-90
N 1	4	3,1	3,1	2,9	2,5	**	**	**
N 2	4	2,8	2,6	1,9	**	**	**	**
N 3	8	3,6	3,1	2,6	2,1	1,6	2,6	1,6
N 4	3	**	3,2	2,9	**	**	**	**
N 5	5	3,2	**	2,6	2,2	**	**	**
N 6	2	**	**	**	**	**	**	**
N 7	7	**	3,1	2,7	**	**	**	**
N 8	9	**	2,1	1,6	2,1	1,9	2,3	1,7
N 9	5	3,7	3,0	2,8	**	2,2	1,9	**
N 10	5	**	1,9	1,4	1,0	1,1	2,6	2,8
N 11	8	2,8	**	2,4	2,0	1,6	1,7	2,8
N 12	2	**	3,7	3,5	3,1	1,7	**	**
N 13	4	3,4	3,1	2,8	**	**	**	**
N 14	5	4,1	3,7	3,5	4,3	**	**	**
N 15	10	3,1	3,0	2,6	2,1	1,2	1,7	2,9
N 16	6	**	3,3	2,8	2,8	3,5	3,1	1,6
Média geral		3,3	3,0	2,6	2,4	1,8	2,3	2,2
Desvio Padrão		0,4	0,5	0,5	0,8	0,7	0,5	0,6
Animais testados		52	68	77	46	30	27	22

* Títulos expressos em logaritmo

** Não testado

Tabela 3 - Porcentagem de transferência de imunidade passiva contra parvovirose canina de cadelas imunes para seus filhotes testados individualmente com 48/72 horas de idade.

Cadela	Título	Título ⁽²⁾														Média da ninhada	
		F1		F2		F3		F4		F5		F6		F7		Título ⁽²⁾	DP % ⁽⁴⁾
		Pré- Parto ⁽¹⁾	L (3)	%	L (3)	%	L (3)	%	L (3)	%	L (3)	%	L (3)	%	L (3)		
C1	4,61	3,70	81	3,70	81	2,20	48	3,10	67					3,18	0,71	69	
C2	3,40	2,80	82	2,80	82	2,80	82	2,80	82					2,80	0,00	82	
C7	3,40	2,80	82	3,40	100	3,40	100	3,40	100	3,10	91	3,40	100	2,80	0,28	94	
C9	4,01	4,01	100	3,70	92	3,70	92	3,40	85	4,01	100			3,76	0,25	94	
C10	3,10	2,20	71	2,50	81	2,80	90	1,30	42	1	32			1,96	0,77	63	
C12	3,70	3,70	100	3,70	100	3,70	100							3,70	0,00	100	
C13	3,48	3,10	89	3,40	98	3,70	106	3,70	106					3,48	0,28	102	
MÉDIA	3,66													3,15		86	
														Média Geral			

(1) Título 10 dias/24 horas pré-parto expresso em logaritmo

(2) Título 48/72 horas de idade em logaritmo(3) e %

(4) Porcentagem de transferência = Título do filhote com 48/72 horas de idade x 100 dividido pelo título da mãe no pré-parto.

Quadro 2 - Títulos HI* de anticorpos para PVC da Cadela C10 e seus filhotes.

Coleta	PRÉ-PARTO	1ª	2ª	3ª	4ª	5ª	6ª	7ª
Dias/ Animais	-2	3	13	26	40	56	70	84
C10	1280	1280	640	640	1280	1280	640	2560
F1		160	20	20				
F2		320	40	40	10	10	640	640
F3		640	20	20	10	10	320	
F4		20	20	20	10	20		
F5		10	20	80	†			

* Expresso como o inverso da maior diluição que apresentou 100 % de HI frente a 8 UHA de PVC padrão.

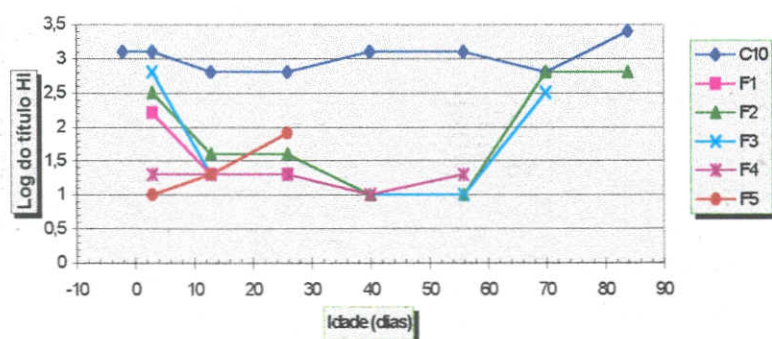


Gráfico 2 - Perfil sorológico da cadela 10 e de seus filhotes.

Quadro 3. Títulos HI* de anticorpos para PVC, cadela C9 e seus filhotes.

Coleta	PRÉ-PARTO	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a
Dias/Aninais	-2	2	15	28	49	63	77
C9	10240	10240	10240	10240	10240	10240	10240
F1		10240	2560	1280	320		
F2		5120	1280	640	160		
F3		5120	1280	640			
F4		2560	1280	640			
F5		10240	320	320	80	160	80

* Expressos como inverso da maior diluição que apresentou 100 % de HI frente a 8 UHA de PVC padrão

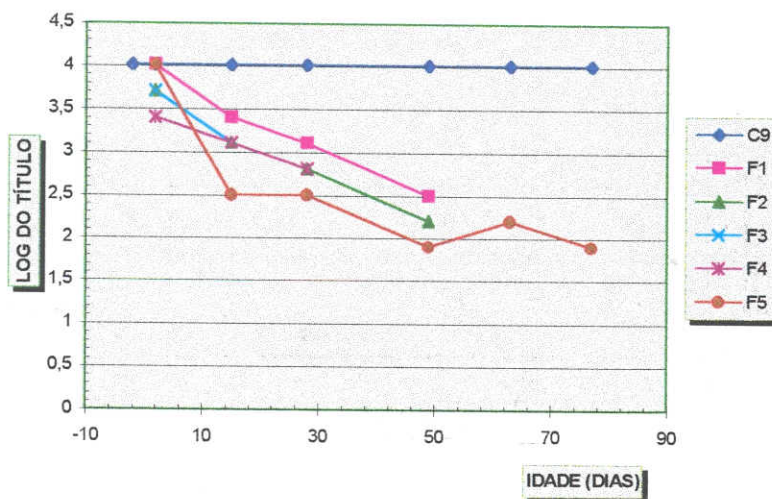


Gráfico 3. Perfil sorológico da cadela C9 e seus filhotes.

Quadro 4 -Títulos HI* de anticorpos para PVC, cadela C13 e seus filhotes.

Coleta	PRÉ-PARTO	1 ^a	2 ^a	3 ^a
Dias/Animais	-2	2	15	26
C13	2560	5120	10240	5120
F1		1280	640	
F2		2560	2560	640
F3		5120	2560	640
F4		5120	1280	640

* Expresso como inverso da maior diluição que apresentou 100 % de HI frente a 8 UHA de PVC padrão.

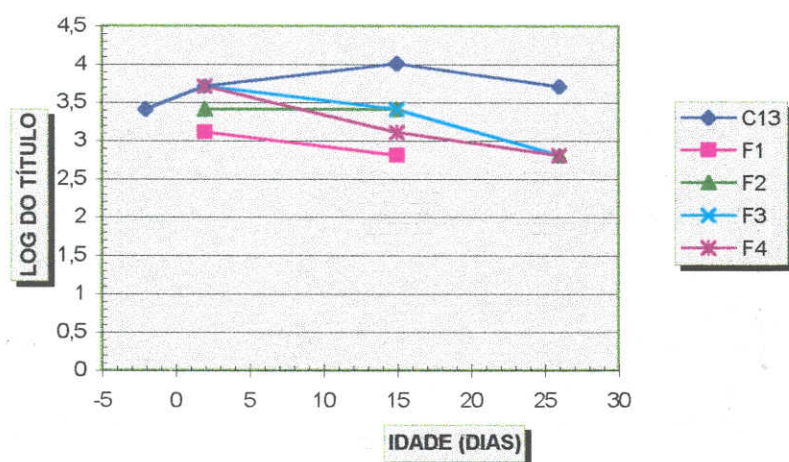


Gráfico 4. Perfil sorológico da cadela C13 e seus filhotes.

Quadro 5 - Títulos HI* de anticorpos para PVC na cadela C1 e seus filhotes.

COLETA	PRÉ-PARTO	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
Dias/ Animais	-4	2	16	30	44
C1	20480	20480	20480	10240	20480
F1		5120	2560	640	320
F2		5120	1280	1280	320
F3		160			
F4		1280	640	640	320

* Expresso como o inverso da maior diluição que apresentou 100% de HI frente a 8 UHA de PVC padrão.

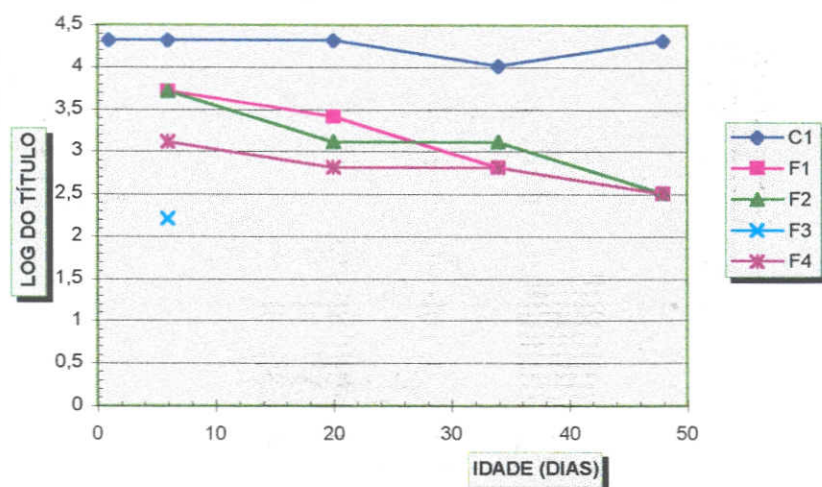


Gráfico 5 - Perfil sorológico da cadela C1 e seus filhotes.

Quadro 6 - Títulos HI* de anticorpos para PVC na cadela C2 e seus filhotes.

COLETA	PRÉ-PARTO	1ª	2ª	3ª
Dias/Animais	-9	2	15	32
C2	2560	1280	5120	2560
F1		640	640	
F2		640	320	
F3		640		
F4		640	320	80

* Expresso como o inverso da maior diluição que apresentou 100 % de HI frente a 8 UHA de PVC padrão.

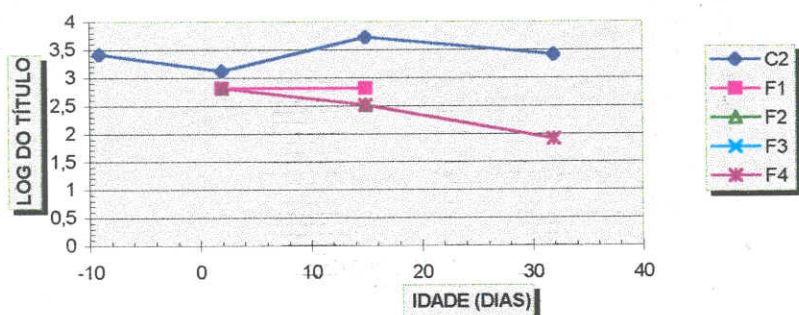


Gráfico 6 - Perfil sorológico da cadela C2 e seus filhotes.

Quadro 7 -Títulos HI* de anticorpos para PVC na cadela C7 e seus filhotes.

Coleta	PRÉ-PARTO	1 ^a	2 ^a	3 ^a
Dias/Animais	-1	3	20	31
C7	2560	2560	2560	2560
F1		640	320	160
F2		2560	640	320
F3		2560	1280	640
F4		2560	640	320
F5		1280	640	320
F6		2560	2560	
F7		640	640	640

* Expresso como o inverso da maior diluição que apresentou 100 % de HI frente a 8 UHA de PVC padrão.

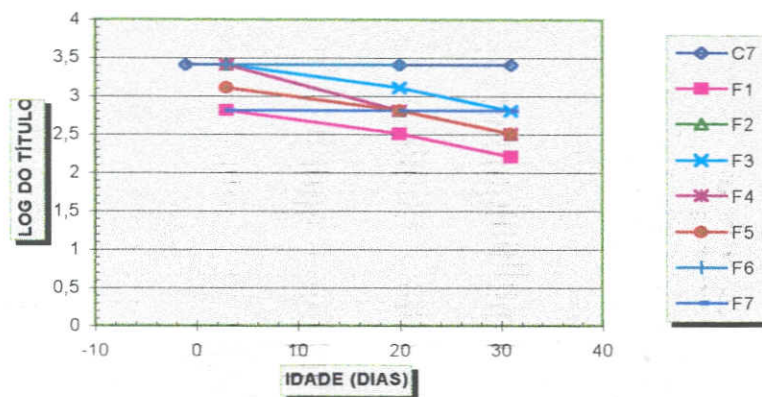


Gráfico 7 - Perfil sorológico da cadela C7 e seus filhotes.

Quadro 8 - Títulos HI* de anticorpos para PVC na cadela C12 e seus filhotes.

COLETA	PRÉ-PARTO	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a
Dias/Animais	-5	5	17	31	45	59
C12	5120	10240	5120	10240	10240	2560
F1		5120	2560	640	160	40
F2		5120	5120	640	160	80

* Expresso como o inverso da maior diluição que apresentou 100 % de HI frente a 8 UHA de PVC padrão.

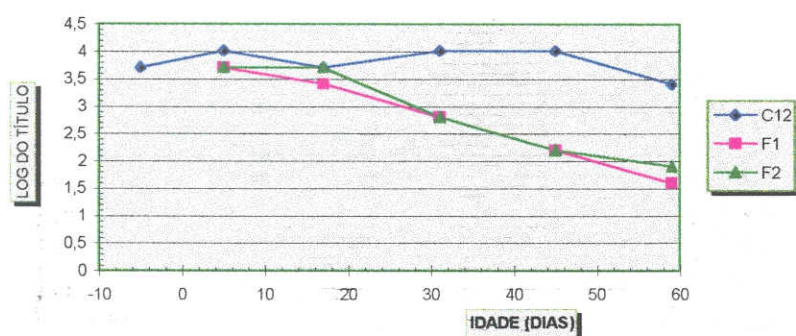


Gráfico 8 - Perfil sorológico da cadela C12 e seus filhotes.

Quadro 9- Títulos HI* de anticorpos para PVC na cadela C4 e seus filhotes.

COLETA	1 ^a	2 ^a	3 ^a
Dias/Animais	3	16	30
C4	2560	2560	2560
F1	1280	640	
F2	640	640	
F3	5120	1280	

* Expresso como o inverso da maior diluição que apresentou 100 % de HI frente a 8 UHA de PVC padrão.

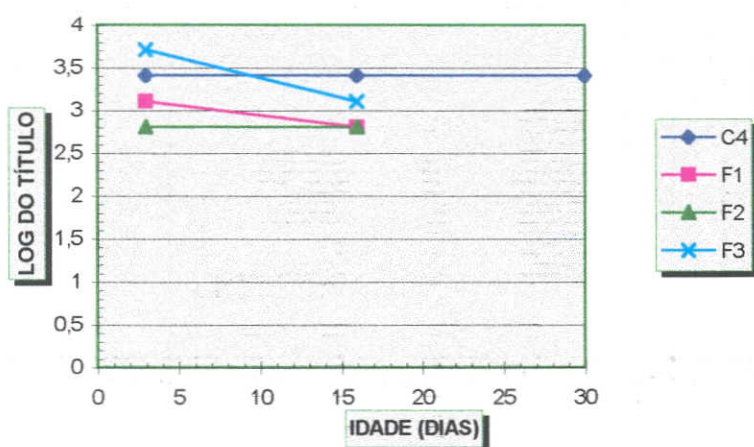


Gráfico 9 - Perfil sorológico da cadela C4 e seus filhotes

Quadro 10 - Títulos HI* de anticorpos para PVC na cadela C5 e seus filhotes.

COLETA	1 ^a	2 ^a	3 ^a
Dias/ Animais	2	20	31
C5	5120	5120	5120
F1	1280	640	
F2	1280		
F3	1280	160	160
F4	2560	640	
F5	2560	640	

* Expresso como o inverso da maior diluição que apresentou 100 % de HI frente a 8 UHA de PVC padrão

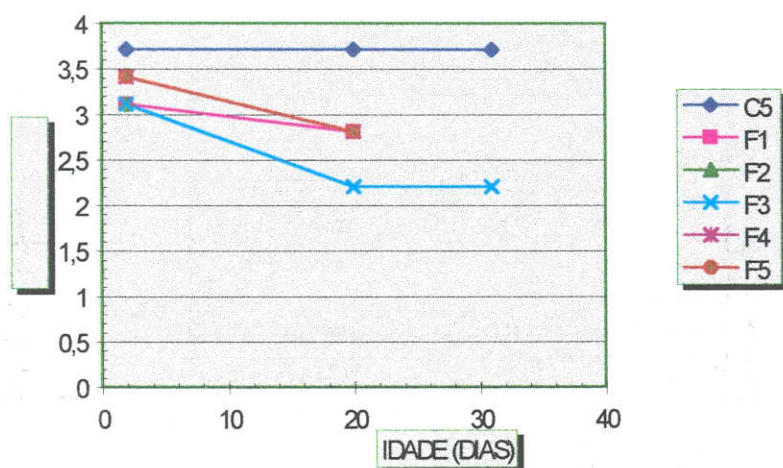


Gráfico 10 - Perfil sorológico da cadela C5 e seus filhotes.

Quadro 11- Títulos HI de anticorpos para PVC na cadela C14 e seus filhotes.

Coleta	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a
Dias/ Animais	2	12	26	43
C14	20480	20480	20480	20480
F1	10240	1280	1280	
F2	10240	2560	1280	
F3	20480	20480	20480	20480
F4	10240	10240	1280	
F5	20480	10240	10240	

* Expresso como o inverso da maior diluição que apresentou 100 % de HI frente a 8 UHA de PVC padrão.

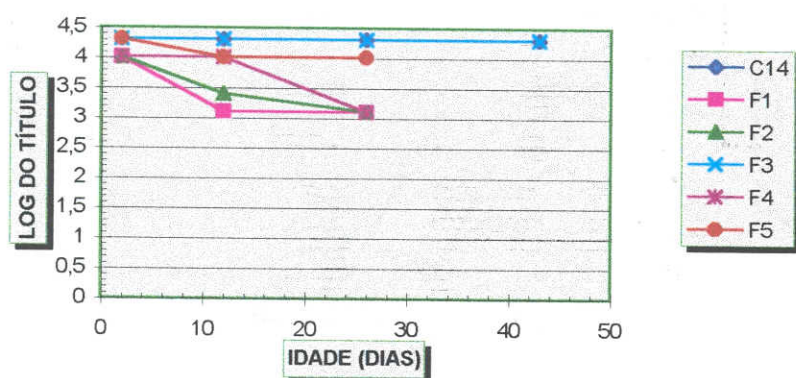


Gráfico 11 - Perfil sorológico da cadela C14 e seus filhotes.

Quadro 12 - Títulos HI* de anticorpos para PVC na cadela C3 e seus filhotes.

COLETA	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a
Dias/ Animais	1	12	26	40	53	67	81
C3	10240	10240	20480	10240	10240	10240	5120
F1	10240	2560	640	80	20		
F2	1280	1280	640	10	10		10
F3	5120	1280	640	320	10		
F4	5120	2560	640	320	10	640	320
F5	5120	1280	640	320	10	640	
F6	2560	1280	640	320	20		
F7	5120	1280	320	160	20	640	160
F8	5120	1280	80	160	80	160	

* Expresso como o inverso da maior diluição que apresentou 100 % HI frente a 8 UHA de PVC padrão.

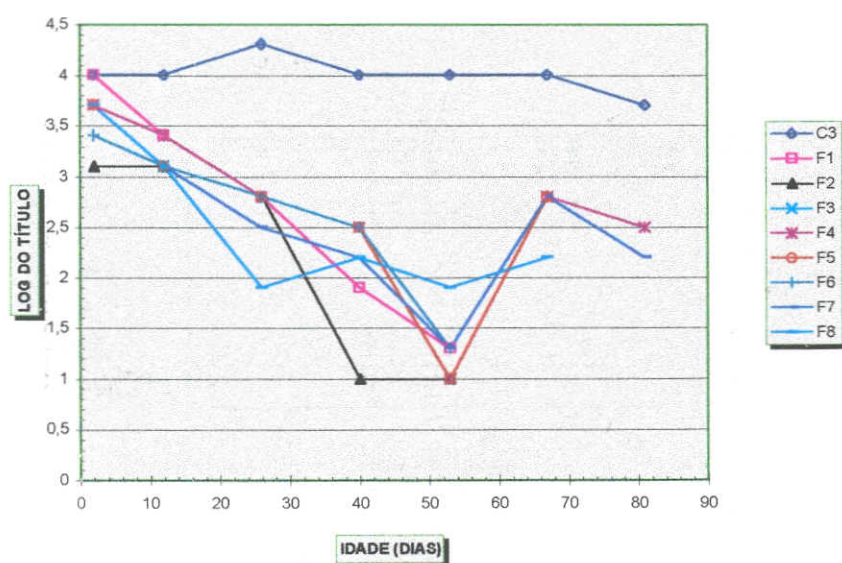


Gráfico 12 - Perfil sorológico da cadela C3 e seus filhotes.

Quadro 13 - Títulos HI* de anticorpos para PVC na cadela C15 e seus filhotes.

COLETA	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a
Dias/ Animais	2	15	28	42	56	63	70	83	100
C15	5120	20480	10240	10240	10240	10240	10240	10240	5120
F1	2560	640	320	80	40	10	10	2560	1280
F2	1280								
F3	2560	1280	640	320	10	80	2560	5120	2560
F4	1280	1280	640	160	10	10	20	5120	10240
F5	10240								
F6	1280	1280	160	80	10	10	640	5120	2560
F7	2560	320	640	80					
F8	10240	1280	320	160	10	10	10	10240	2560
F9	2560	1280	160	80	10	80	640	5120	5120
F10		2560	1280	320	80	10	5120	5120	2560

* Expresso como o inverso da maior diluição que apresentou 100 % de HI frente a 8 UHA de PVC padrão.

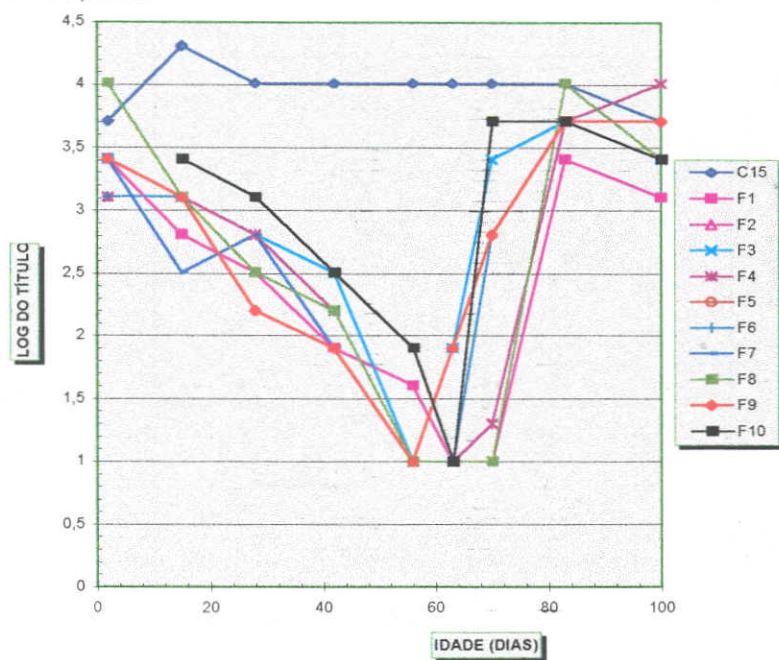


Gráfico 13 - Perfil sorológico da cadela C15 e seus filhotes.

Quadro 14 - Títulos HI de anticorpos para PVC na cadela C16 e seus filhotes.

Coleta	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a
Dias/ Animais	8	20	34	49	62	76	90	104
C16	5120	5120	*	20480	20480	20480	10240	10240
F1	2560	640	5120					
F2	2560	640	1280	NT	320	160	20	10
F3	2560	640	2560					
F4	2560	640	1280	640	5120	40	20	10
F5	2560	1280	80					
F6	1280	320	80					

* Expresso como o inverso da maior diluição que apresenta 100 % de HI frente a 8 UHA de PVC padrão.

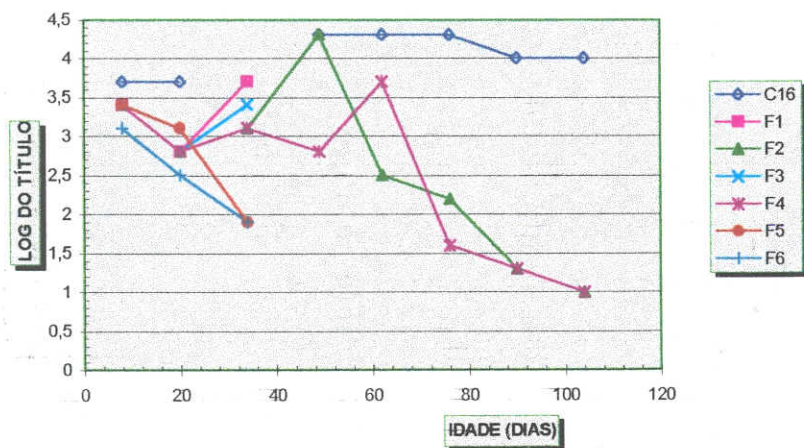


Gráfico 14 - Perfil sorológico da cadela C16 e seus filhotes.

Quadro 15 - Títulos HI* de anticorpos para PVC na cadela C11 e seus filhotes.

COLETA	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a
Dias / Animais	2	17	30	44	58	72	86	100
C11	1280	2560	2560	2560	5120	2560	2560	5120
F1	1280	640	160	160	160	40	80	40
F2	1280	640	160					
F3	1280	640	160	80	10	40	160	
F4	1280	640	160					
F5	320	320	320	160	20	40		
F6	320	320	320	80	40	160	5120	
F7	320	320	640	160	160	80	5120	640
F8	320	160	80	80	20	40		

* Expresso como o inverso da maior diluição que apresentou 100 % de HI frente a 8 UHA de PVC padrão.

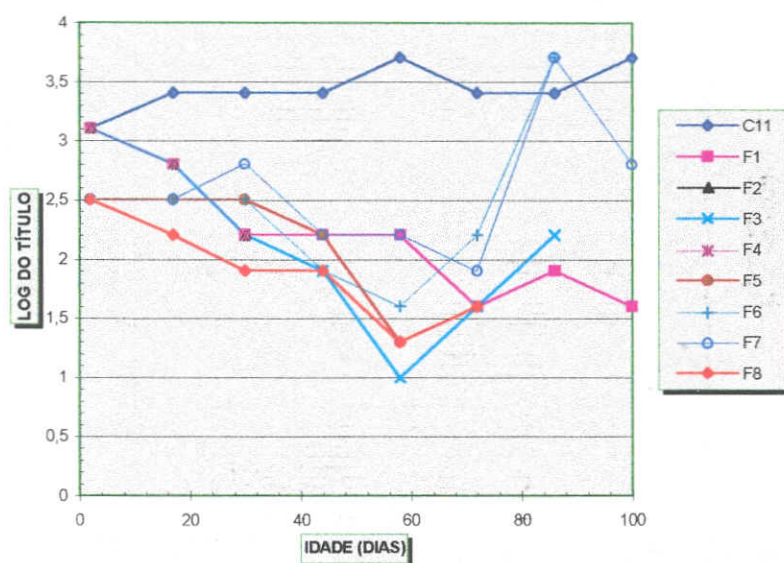


Gráfico 15 - Perfil sorológico da cadela C11 e seus filhotes.

Quadro 16 -Títulos HI* de anticorpos para PVC na cadela C8 e seus filhotes.

COLETA	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a
Dias/ Animais	8	20	34	48	62	76	90	104
C8	5120	10240	10240	10240	**	20480	20480	20480
F1	40	80	320	160	160	20	320	5120
F2	40	80	160	20	20	40	80	80
F3	40							
F4	40	40	320					
F5	160	80	160	160	320	10	80	80
F6	320	40	80	80	80	20	320	640
F7	320	20	80	160	80	40	10	10240
F8	640	20	160					
F9	1280	20	80					

* Expresso como o inverso da maior diluição que apresenta 100 % de HI frente a 8 UHA de PVC padrão.

** Não titulado

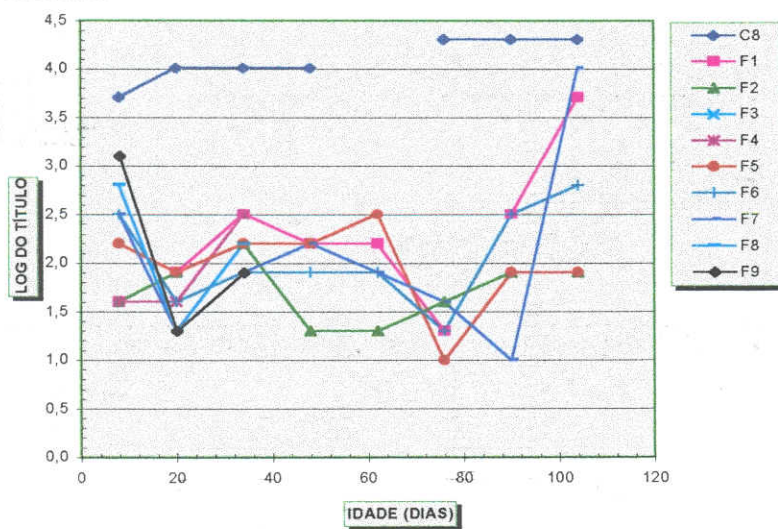


Gráfico 16 - Perfil sorológico da cadela C8 e seus filhotes.

Quadro 17 - Títulos HI* de anticorpos para PVC na cadela C6 e seus filhotes (filhotes mamaram em outra cadela).

Coleta	PRÉ-PARTO	1 ^a	2 ^a	3 ^a
Dias/Animais	1	2	10	24
C6	20480	20480	20480	20480
F1		640	640	40
F2		1280		

* Expressos como o inverso da maior diluição que apresentou 100% de HI frente a 8 UHA de PVC padrão.

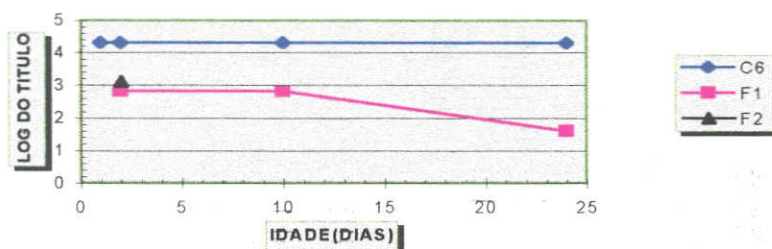


Gráfico 17 - Perfil sorotológico da cadela C6 e seus filhotes.

5 CONCLUSÕES

Os títulos de anticorpos HI transferidos aos filhotes são dependentes do título da mãe.

Com o passar do tempo ocorre uma queda exponencial dos anticorpos HI contra o PVC nos filhotes, sendo que 80 % dos filhotes, neste experimento, apresentaram títulos inferiores ao considerado protetor a partir de 46 dias de idade, sugerindo a necessidade de primeira dose vacinal mais precoce.

Primovacinação contra PVC para filhotes a partir de 6 semanas de idade é recomendável.

6 SUMMARY

The transfer and decline of maternal antibody to canine parvovirus (CPV) were determined in the sera by hemagglutination-inhibition of 16 immune bitches and their puppies prior parturition and 48/72 hours post-parturition, respectively. Serum samples were collected each two weeks up to four months, depending on litters. Only a minimal variation in CPV antibody levels was observed among the bitches during the whole experimentation period. Bitches CPV antibodies titres were constant and similar and always above the protective level. Colostrum transferred antibodies with titres above 80 persisted for up to 12 weeks in some the puppies. Most of the puppies had CPV protective titres which remained for up to six weeks of age. Antibodies titres varied within and among litters. Puppies from mothers with high antibodies titers had also high antibodies levels. The average antibodies transferred was 86 %. It was observed that an exponential decreased in passively acquired antibodies occurred in puppies and the duration of titres was directly proportional to antibodies levels.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, P. A. B. **Perfil epidemiológico da população canina atendida em hospitais veterinários de Belo Horizonte - MG, 1987-1984**, 130p. (Tese, Mestrado), 1996.
- APPEL, M. J. G.; SCOTT, F. W.; CARMICHAEL, L. E. Isolation and immunisation studies of a canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. **Vet. Rec.**, v.105, p.156-159, 1979.
- APPEL, M. J. G.; CARMICHAEL, L. E. Can a commercial vaccine protect pups against a recent field isolate of parvovirus? **Vet. Med.**, v.82, p.1091-1093, 1987.
- BAKER, J. A.; ROBSON, D. S.; GILLESPIE, J. H.; BURGHER, J. A.; DOUGHTY, M. F. A nomograph that predicts the age to vaccinate puppies against distemper. **Cornell Veterinarian**, v.49, p.158-167, 1959.
- BAKER, C. H.; EVERMANN, J. F.; McKEIRNAN, A. J.; MORRISON, W. B. Serological studies on the incidence of canine enteritis viruses. **Canine Practice**, v.7, n.3, p.37-42, 1980.
- BARCELOS, V. H.; COSTA, J. L. A.; ALBUQUERQUE, A. J. D.; CANABARRO, T. F.; BARROS, C. L.; VIANA, J. G. L.; RAISER, A. C. WEIBLEM, R. Prevalência de anticorpos inibidores da hemaglutinação frente ao parvovírus canino em Santa Maria, RS, Brasil. In: CONGRESSO ESTADUAL DE MEDICINA VETERINÁRIA, 9, Santa Maria, 1985. **Anais...** Santa Maria, p.57; 1985.
- BARKTOSKI, M. J.; CURREN, M.; DEES, C.; STEPHEN, L. S. Canine parvovirus immunodiagnosis and vaccination procedures. **Comp. An. Pract.**, v.2, n.4, p.30-33, 1988.
- BINN, L. N.; MARCHWICKI, R. H.; ECKERMANN, E. H.; FRITZ, T. E. Viral antibody studies of laboratory dogs with diarrheal disease. **Am. J. Vet. Res.**, v.42, p.1665-1667, 1981.

- BRAMBELL, F. W. R. **The transmission of passive immunity from mother to young.** Amsterdam: North-Holland Publishing Company, 385p; 1970.
- CARMAN, P. S.; POVEY, R. C. Comparison of the viral proteins of canine parvovirus-2, mink enteritis virus and feline panleukopenia virus. **Veterinary Microbiology**, v.8, p.423-435, 1983.
- CARMICHAEL, L. E.; ROBSON, D. S.; BARNES, F. D. Transfer and decline of maternal infectious canine hepatitis antibody in puppies. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v.109, p.677-681, 1962.
- CARMICHAEL, L. E. ; JOUBERT, J. C.; POLLOCK, R. V. H. Hemmagglutination by canine parvovirus: serologic studies and diagnostic applications. **Am. J. Vet. Res.**, v.41, n.5, p.784-791, 1980.
- CARMICHAEL, L. E. ; JOUBERT, J. C.; POLLOCK, R. V. H. A modified live canine parvovirus strain with novel plaque characteristics. 1. Viral attenuation and dog response. **Cornell Vet.**, v.7, p.408-427, 1981.
- CARMICHAEL, L. E. ; JOUBERT, J. C.; POLLOCK, R. V. H. A modified live canine parvovirus vaccine. 2. Immune response, **Cornell Vet.**, v.73, p.13-29, 1983.
- CARMICHAEL, L. E. ; JOUBERT, J. C.; POLLOCK, R. V. H. Response of puppies to canine-origin parvovirus vaccines. **Mod. Vet. Practice**, v.65, p.99-103, 1984.
- CLARKE, D. H.; CASALS, J. Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. **Am. Journal Trop. Med. Hyg.**, v.7, p.561-573, 1985.
- EUGSTER, A. K Studies on canine parvovirus infections: development of an inactivated vaccine. **Am. J. Vet. Res.**, v.41, p.2020-2024, 1980.
- FASTIER, L. B. A single radial haemolysis test for measuring canine parvovirus antibody. **Vet. Rec.**, v.108, p.299-301, 1981.
- FISCUS, S. A.; MILDBRAND, M. M.; GORDON, J. C.; TERAMOTO, Y. A.; WINSTON, S. Rapid enzyme linked immunosorbent assay for detecting antibodies to canine parvovirus. **Am. J. Vet. Res.**, v.46, n.4, p.859-863, 1985.

- GOODING, G. E.; ROBINSON, W. F. Maternal antibody vaccination, and reproductive failure in dogs with parvovirus infection. **Aust. Vet. Journal**, v.59, p.170-174, 1982.
- GORDON, J. C.; ANGRICK, E. J. Canine parvovirus: enviromental effects on infectivity. **Am. J. Vet. Res.**, v.47, p.1464-1467, 1986.
- GREENE, C.E. Immuno prophylaxis and immuniiotherapy. In:_____. **Infectious diseases of the dog and cat**. Philadelphia: W.S. Company, p.21-53; 1990.
- IIDA, H.; FUKUDA, S.; KAWASHIMA, N. et al. Effect of maternally derived antibody levels on antibody responses to canine parvovirus, canine distemper virus and infectious canine hepatitis virus after vaccination in beagle puppies. **Vet. Bulletin**, v.60, p.691, 1990.
- KRAMER, J. M.; MEUNIER, P. C.; POLLOCK, R. V. H. Canine parvovirus: update. **V. M. S. A. C.**, v.75, p.1541-1555, 1980.
- LANGEVELD, J. P. M.; CASAL, J.; OSTERHAUS, A. D. M.; CORTES, S. E.; SWART, R.; VELA, C.; DALSGAARD, K.; PUIJK, W. C.; SCHAAPER, W. M. M.; MELOEN, R. H.. First peptide de vaccine providing protection against viral infection in the target animal studies of canine parvovirus in dogs. **Journal of Virology**, v.68, n.7, p.4506-4513, 1994.
- LOBATO, Z. I.; GOUVEIA, A. M. G.; LEITE, R. C.; REIS, R. Isolamento e identificação do parvovirus canino de cães com enterite hemorrágica em Belo Horizonte - MG. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot**; v.40, n.5, p.377-385, 1988.
- LUFF, P. R. WOOD, G. W.; HEBERT, C. N.; THORTON, D. H. Canine parvovirus serology: a colaborative assay. **Vet. Rec.**, v.120, p.270-273, 1987.
- MACARTNEY, L.; THOMPSON, H.; McCANDLISH, I. A. P.; CORNWEL, H. J. C. Canine parvovirus: interation between passive immunity and virulent challenge. **Vet. Rec.**, v.122, p.573-576, 1988.
- MADIC, J; ZUNPANCIC, Z; RAMADAN, P; LUGOVIC, B; RAPIC, D. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for detecting antibodies to canine parvovirus. **Veterinarski Arhiv.**, 57(4), p.197-201, 1987.

- MEUNIER, P. C.; GLICKMAN, L. T.; APPEL, M. J. G.; SHIN, S. J. Canine parvovirus in a commercial kennel: epidemiologic and pathologic findings. **Cornell Vet.**, v.71, p.96-110, 1981.
- OLSON, P.; KLINGERBON, B.; HEDHAMMAR, A. Serum antibody response to canine parvovirus, canine adenovirus-1, and canine distemper virus in dogs with know status of immunization: study of dogs in Sweden. **Am. J. Vet. Res.**, v.49, p.1460-1466, 1988.
- OSTERHAUS, A. D. M. E.; DROST, G. A.; WIRAHADIREDDA, R. M. S.; van den Ingh, S. G. A. M. Canine viral enteritis: prevalence of parvo-, corona- and rotavirus infections in dogs in Netherlands. **The Vet. Quarterly**, v.2, n.4, p.181-190, 1980.
- POLLOCK, R. V. H.; CARMICHAEL, L. E. Maternally derived immunity to canine parvovirus infection: transfer, decline and interference with vaccination, **J. A. V. M. A.**, v.180, p.37-42, 1982.
- POLLOCK, R. V. H.; CARMICHAEL, L. E. Dog response to inactivated canine parvovirus and feline panleukopenia virus vaccines. **Cornell Vet.**, v.72, p.16-35, 1983.
- POLLOCK, R. V. H.; CARMICHAEL, L. E. Canine viral enteritis. In: _____. **Infectious diseases of the dog and cat**. Philadelphia: W. S. Company, p.268-287; 1990.
- POLLOCK, R. V. H.; COYNE, M. J. Canine parvovirus. **S. A. Prac.**, v.23, p.555-568, 1993.
- RIBEIRO, V. M. **Perfil nosológico e algumas características de cães atendidos em clínicas veterinárias de Belo Horizonte, 1985/86**. Belo Horizonte, Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais; 56p,(Tese, Mestrado), 1988.
- SCOTT, F. W.; CSIZA, C. K.; GILLESPIE, J. H. Maternally derived immunity to feline panleukopenia, **J. A. V. M. A.**, v.156, p.439-453, 1970a.
- SCOTT, F. W.; CSIZA, C. K.; GILLESPIE, J. H. Feline viruses. 5. Serum-neutralization test for feline panleukopenia. **Cornell Vet.**, v.60, p.183-191, 1970b.
- SENDA, M.; HIRAYAMA, N.; YAMAMOTO, H.; KURATA, k. An improved hemagglutination test for study of canine parvovirus. **Vet. Microbiology**, v.12, p.1-6, 1986.



- SOUZA, P. G. **Perfil sorológico de cadelas e respectivas crias: transferência e declínio de anticorpos passivos contra cinomose canina.** Belo Horizonte, Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, 78p; (Tese, Mestrado, em impressão), 1996.
- STITES, P. D.; TERR, A. I. **Imunologia básica.** Rio de Janeiro: Prentice Hall, 187p; 1992.
- SWANGO, L. J. Frequently asked questions about CPV diseases. **Norden News**, v.58, p.4-10, 1983.
- TENNANT, B. J; GASKELL, R. M; JONES, R. C; GASKELL, C. J. Prevalence of antibodies to four major canine viral diseases in dogs in a Liverpool hospital population. **Journal of small Animal Practice**, v.32, p.175-179, 1991.
- TIZARD, I Immunity in the fetus and newborn. In: _____. **Veterinary Immunology.** Philadelphia: W. B. Saunders Company, 5 ed, 1996, p.239-243.
- WALLACE, B. L.; McMILLEN, J. K.; TODD, J. D. Canine parvovirus serum neutralizing antibody assay: assesment of factors responsible for disparity of results between tests. **Cornell Vet.**, v.73, p.52-57, 1983.
- WINSTON, S.; FISCUS, S. A.; HESTERBERG, L.; MATSUSHITA, T; MILDBRAND, M.; PORTER, J.; TERAMOTO, Y. Rapid detection of viral-specific antibodies by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.17, p.453-464, 1987.
- WINTERS, W. D. Time dependent decreases of maternal canine virus antibodies in newborn pups. **Vet. Rec.**, v.108, p.295-299, 1981.