

T636.029 69  
M217p  
1998

Otávio Borges Maia



PERFIL SOROLÓGICO E AVALIAÇÃO PÓS-VACINAL DE LOBOS-GUARÁS  
*Chrysocyon brachyurus* (Illiger, 1811)  
PARA OS VÍRUS DA CINOMOSE E PARVOVIROSE CANINAS

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária.

Área: Medicina Veterinária Preventiva.

Linha de pesquisa: Desenvolvimento, adaptação e avaliação de biológicos e quimioterápicos para uso veterinário e humano.

Orientador: Aurora Maria Guimarães Gouveia

Belo Horizonte  
Escola de Veterinária da UFMG  
1998

BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

16/04/99

144199-10

0260-02860

M217p Maia, Otávio Borges, 1969-

Perfil sorológico e avaliação pós-vacinal de lobos-guarás *Chrysocyon brachyurus* (Illiger, 1811) para os vírus da cinomose e parvovirose caninas / Otávio Borges Maia - Belo Horizonte: UFMG - Escola de Veterinária, 1998 .

108p.:il.

Dissertação (mestrado)

1. Lobo-guará - Doenças - Teses. 2. Cinomose - Vacinação - Teses. 3. Parvovirose - Vacinação - Teses. 4. Sorodiagnóstico - Teses. I. Título.

CDD - 639

Dissertação apresentada em 22 de dezembro de 1998 e aprovada pela seguinte banca examinadora:

Aurora Maria Guimarães Gouveia (Presidente)

Zélia Inês Portela Lobato

Edel Figueiredo Barbosa

Maurício Andrade Rocha



O aprendizado obtido ao longo dos anos dedicados a este estudo vai muito além do que foi registrado nas páginas desta dissertação.

E se a tradição reza dedicar obras literárias a alguém, eu dedico a minha ao Destino, por permitir aventurar-me pelo mundo dos bichos e caminhos da ciência, e por ter me dado força para não desistir nas tantas batalhas.



## Agradecimentos

---

À Profa. Aurora Maria Guimarães Gouveia, minha orientadora, por ter apoiado e permitido a realização e conclusão de todas as atividades e projetos que desenvolvi durante o curso de mestrado, e pela coragem de encarar a medicina veterinária de animais selvagens como um novo desafio.

Aos colegas Maria Elvira Teixeira da Costa, José Anselmo Barros, Carlyle Coelho, da Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte, e Laura Teodoro de Oliveira, do Parque Natural da CBMM, pela assiduidade com que realizaram as coletas de sangue de todos os lobos-guarás dos seus plantéis ao longo de dois anos de trabalho, possibilitando, assim, que os objetivos deste estudo fossem atingidos.

À Profa. Lúcia Marina de Castilho, que vem me incentivando, apoiando, aconselhando, e ajudando desde o início do meu curso de graduação, quando decidi me embrenhar no mundo dos animais selvagens.

Às professoras Zélia Lobato, da Escola de Veterinária, e Edel Figueiredo, do Instituto de Ciências Biológicas — membros da banca de defesa, ao Prof. Murray Fowler, da University of California, ao Dr. Richard Montali, do National Zoological Park - Smithsonian Institution, à Melissa Rodden, do Conservation and Research Center - Smithsonian Institution e Robyn Barbiere, do Lincoln Park Zoo — coordenadoras do Maned Wolf Specie Survival Plain, pelas importantes contribuições científicas dadas a esta dissertação.

Aos meus pais, Augusto e Maria Theresa, irmãos, Alexandre e Juliana, sobrinhos e à minha avó Jovelina, que, orgulhosos do meu trabalho, sempre me incentivaram demonstrando carinho.

Aos colegas Maurílio Rocha (membro da banca examinadora), Andréia de Souza e Regina Carvalho, pelos ensinamentos, sugestões, e valiosas contribuições científicas, e também pelos muitos momentos — alguns impagáveis, outros dramáticos — vividos no Laboratório. Foi muito legal trabalhar com vocês!

Às colegas Patrícia de Souza e Hélia Lemos que me ensinaram os primeiros passos dentro do Laboratório de Virologia Animal.

Aos colegas Oneida Paschoalli (Zoológico de Curitiba), Fernando de Sousa (Parque do Sabiá), Adriana Melo (Jardim Zoológico de Brasília), Júlio César Carvalho (Zoológico Municipal de Andradas) e Rafael Monteiro (Fundação Rio-Zôo), pelas coletas e envio de amostras de soro dos lobos das suas instituições.

Aos meus amigos — em especial a Andréia Marçal e Rodrigo José, sempre prontos a colaborar e “dar uma força” — que toleraram anos de conversa sobre lobos, vírus, mestrado, créditos, artigos, resumos, dissertação ... e mais um pouco sobre lobos e outros bichos. Vocês são heróis!

Ao Chistiano von Sinson, do Laboratório Merial, que desde o início prontificou-se a apoiar este estudo.

Ao Laboratório Merial e Distribuidora Pioneira, pela doação das vacinas EURICAN<sup>®</sup> utilizadas na imunização dos lobos-guarás.

Ao Sérgio Balsamão, Mirna Rosa e Regina, do Laboratório Lema Biologic, pelas sugestões e discussões.

Ao Laboratório Lema Biologic, pelo fornecimento da suspensão do vírus CDV, utilizada no teste de soroneutralização.

Ao Richard Burt, do Laboratório Solvay Saúde Animal, pelo envio dos resultados das sorologias realizadas pelo Laboratório e informações sobre a vacina fornecida aos zôos.

Aos colegas Henrique Godoy, Simone e Oclydes Barbão, do Laboratório Pfizer, pela doação das vacinas contra CPV utilizadas no teste de inibição da hemaglutinação.

Ao Prof. Ronaldo Reis, por ter colaborado com meu ingresso no curso de mestrado.

Ao Prof. Elvino Moreira — Coordenador do Colegiado dos cursos de pós-graduação — e às funcionárias da Secretaria do Colegiado — Nilda Laurindo, Ana Rachel Pereira e Fátima Peixoto — pela cordialidade com que sempre me atenderam.

À dupla “Pinky e Cérebro” do Setor de Virologia — Doraci Reis e Creuza Atanásio — e João Nepomuceno, do Setor de Lavagem e Esterilização, pela ajuda e tantos favores prestados no decorrer dos trabalhos no Laboratório.

À funcionária Juliana Pontello, sempre atenta ao meu material de trabalho no Laboratório, pela boa vontade com que sempre ajudou na realização das minhas tarefas.

Aos funcionários da biblioteca da Escola de Veterinária, da Secretaria do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva — Renata Pelli, Luciana Barbosa, Jorge Bueno e Nádia Maria da Silva — e ao pessoal da copiadora Bréder, sempre prestativos às minhas solicitações.

Aos colegas Arthur Barreto e Maria Ângela Fessel, da revista Clínica Veterinária, pela divulgação deste estudo.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão da bolsa de mestrado.

À Pró-Reitoria de Pós-Graduação - PRPG, pelos auxílios viagens concedidos que possibilitaram minha participação em vários eventos onde foram divulgados os resultados deste estudo.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - Fapemig, pelo apoio financeiro dado ao projeto.

A todos vocês, muito obrigado !

Belo Horizonte, 22 de dezembro de 1998.



“O nosso sertanejo é muito supersticioso,  
daí os arrepios de muitos quando se ouviram, esta madrugada,  
um lobo que passou uivando bem perto do acampamento.

Há uma lenda no sertão, em que muitos crêem:  
*quem quiser conquistar o que quer que seja,  
basta olhar a coisa desejada através do olho do lobo.*

*É coisa certa; não há como fugir!*

Daí, na hora do café, o rompante de alguns que, dormindo, nada ouviram.

— Si tô acordado, pode crê que esse lobo essa hora tava sem os óio.

— Tava nada, sô, tiro nesse bicho num certa.

Os cachorros é que ficaram apavorados com o uivo do lobo.

Os mais patifes chegaram quase a se enfiar no fogo da cozinha.”

Orlando e Cláudio Villas Bôas  
(A marcha para o oeste, 1994)

“Com efeito, era preciso tirar o chapéu para os vírus:  
eles são entidades muito bem estruturadas.

Quem poderia deixar de admirar essas pequenas maravilhas?

Vírus são estruturas inteligentes,  
e tão extremamente engenhosas no seu modo de atuar para serem perpetuados,  
que é quase uma honra estar contaminado por eles.

Quase.”

Ed Regis  
(Caçadores de vírus, 1997)

“A ciência é incapaz de resolver os mistérios finais da natureza,  
porque nós somos parte da natureza e, portanto,  
do mistério que tentamos resolver.”

Max Planck (1858-1947)  
físico alemão





## Sumário

	<b>Lista de tabelas</b>	15
	<b>Lista de figuras</b>	17
	<b>Lista de anexos</b>	19
	<b>Lista de abreviaturas</b>	21
	<b>Resumo</b>	23
<b>1</b>	<b>Introdução</b>	25
<b>2</b>	<b>Literatura consultada</b>	27
2.1	O lobo-guará: biologia e conservação	27
2.2	Filogenia da família Canidae	30
2.3	Doenças infecciosas e imunoprofilaxia em carnívoros selvagens	33
2.3.1	Cinomose canina	35
2.3.2	CDV em carnívoros selvagens	36
2.3.3	Vacinação de carnívoros selvagens contra CDV	38
2.3.4	Parvovirose canina	43
2.3.5	CPV em carnívoros selvagens	44
2.3.6	Vacinação de carnívoros selvagens contra CPV	46
2.3.7	CDV e CPV em lobos-guarás	48
<b>3</b>	<b>Material e métodos</b>	53
3.1	Animais	53
3.2	Contenção dos animais e coleta de amostras	54
3.3	Periodicidade das coletas	54
3.4	Processamento das amostras de sangue e soro	54
3.5	Vacinas e vacinações	55
3.5.1	Características das vacinas Eurican®	57
3.6	Análise das amostras: sorodiagnóstico	58
3.6.1	Deteção de anticorpos específicos contra CDV	58
3.6.2	Deteção de anticorpos específicos contra CPV	58
3.7	Análise dos resultados	59
<b>4</b>	<b>Resultados e discussão</b>	61
4.1	Perfil sorológico	61
4.2	Avaliação pós-vacinal	66
4.3	Vacinas e vacinações	69
4.4	Testes sorológicos	74
4.5	Considerações finais	75
4.6	Perspectivas	78
<b>5</b>	<b>Conclusões</b>	93
<b>6</b>	<b>Summary</b>	95
<b>7</b>	<b>Referências bibliográficas</b>	97
	<b>Anexos</b>	103



Tab.1	Número diplóide de cromossomos de algumas espécies de canídeos.	31
Tab.2	Distribuição de freqüência dos títulos de anticorpos de 55 lobos-guarás em relação ao CDV e CPV, testados por soroneutralização (SN) e inibição da hemaglutinação (HI), respectivamente, considerando os títulos mínimos mensurados pelos testes e títulos protetores para cães domésticos.	61
Tab.3	Perfil sorológico de 38 lobos-guarás adultos — 35 “vacinados” e três “não vacinados” — considerando os títulos, contra CDV e CPV, da primeira amostra de soro de cada espécime, obtidos pelos testes soroneutralização (SN) e inibição da hemaglutinação (HI), respectivamente.	64
Tab.4	Perfil sorológico de 17 lobos-guarás filhotes — nascidos em cativeiro e capturados na natureza — considerando os títulos, contra CDV e CPV, da primeira amostra de soro de cada espécime, obtidos pelos testes de soroneutralização (SN) e inibição da hemaglutinação (HI), respectivamente.	65
Tab.5	Títulos pós-vacinais de lobos-guarás adultos, imunizados contra CDV com diferentes marcas de VVM, obtidos por soroneutralização (SN).	79
Tab.6	Títulos pós-vacinais de lobos-guarás filhotes, imunizados contra CDV com diferentes marcas de VVM, obtidos por soroneutralização (SN).	81
Tab.7	Títulos pós-vacinais de lobos-guarás adultos, imunizados contra CPV com diferentes marcas de VVM, obtidos por inibição da hemaglutinação (HI).	83
Tab.8	Títulos pós-vacinais de lobos-guarás filhotes, imunizados contra CPV com diferentes marcas de VVM, obtidos por inibição da hemaglutinação (HI).	85



## Lista de figuras

Fig. 1	O lobo-guará	27
Fig. 2	Distribuição geográfica de alguns canídeos.	30
Fig. 3	Árvore de parentesco da família Canidae — distância genética baseada na análise de aloenzima, número e morfologia de cromossomos.	32
Fig. 4	Número de lobos-guarás vacinados contra CDV e CPV considerando os diferentes esquemas de vacinação adotados pelos zôos, baseados em três diferentes apresentações de VVM.	55
Fig. 5	Distribuição dos 55 lobos-guarás em dois grupos — “vacinados” e “não vacinados” — considerando histórico de vacinação, idade e procedência dos espécimes.	57
Fig. 6	Resposta pós-vacinal de 47 lobos-guarás para o CDV, considerando o maior título de anticorpos obtido das múltiplas amostras de cada espécime pelo teste de soroneutralização (SN).	71
Fig. 7	Resposta pós-vacinal de 47 lobos-guarás para o CPV, considerando o maior título de anticorpos obtido das múltiplas amostras de cada espécime pelo teste de inibição da hemaglutinação (HI).	71
Fig. 8	Resposta pós-vacinal de lobos-guarás da FZBH para o CDV num período de 30 meses, testado por soroneutralização (SN).	87
Fig. 9	Resposta pós-vacinal de lobos-guarás da FZBH para o CPV num período de 30 meses, testado por inibição da hemaglutinação (HI).	87
Fig. 10	Resposta pós-vacinal de lobos-guarás do PNCBMM para o CDV num período de 22 meses, testado por soroneutralização (SN).	89
Fig. 11	Resposta pós-vacinal de lobos-guarás do PNCBMM para o CPV num período de 22 meses, testado por inibição da hemaglutinação (HI).	89
Fig. 12	Resposta pós-vacinal de lobos-guarás do Zôo de Curitiba e Fundação Rio-Zôo para o CDV num período de 15 meses, testado por soroneutralização (SN).	91
Fig. 13	Resposta pós-vacinal de lobos-guarás do Zôo de Curitiba e Fundação Rio-Zôo para o CPV num período de 15 meses, testado por inibição da hemaglutinação (HI).	91

Lista de anexos

---

- |         |   |     |
|---------|---|-----|
| Anexo 1 | Ficha individual de identificação de instituição mantenedora de lobos-guarás; informações sobre manejo geral e surtos de GEH.               | 103 |
| Anexo 2 | Ficha individual de identificação de lobos-guarás (informações sobre manejo sanitário e títulos sorológicos).                               | 105 |
| Anexo 3 | Síntese das respostas enviadas pelos zôos participantes, em 1996, nas Ficha de identificação das instituições mantenedoras de lobos-guarás. | 107 |



- AN = anticorpos neutralizantes  
CDV = "canine distemper virus" (vírus da cinomose canina)  
CPV = "canine parvovirus" (parvovírus canino)  
FEG = fibroblastos de embrião de galinha  
FZBH = Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte  
GEH = gastroenterite hemorrágica  
HA = hemaglutinação  
HI = inibição da hemaglutinação  
PNCBMM = Parque Natural da Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração  
SN = soroneutralização  
SPF = "specific pathogen free" (livre de patógeno específico)  
TCID<sub>50</sub> = dose infecciosa 50% em cultura de células  
TAc = título(s) de anticorpos  
UHA = unidade(s) hemaglutinante(s)  
VI = vacina(s) inativada(s)  
VVM = vacina(s) vírus vivo-modificado



## Resumo

---

O lobo-guará é o maior canídeo sul-americano e uma das espécies mais típicas do cerrado brasileiro. De acordo com a análise do International Studbook for the Maned Wolf, as doenças infecciosas foram a segunda principal causa da morte de lobos-guarás em cativeiro no período de 1980-94. Dentre elas, as viroses caninas apresentaram a maior incidência. Sendo assim, este estudo teve como objetivo determinar o perfil sorológico de lobos-guarás, com relação aos vírus da cinomose (CDV) e parvovirose (CPV) caninas, e acompanhar a resposta sorológica pós-vacinal de lobos-guarás mantidos em zôos brasileiros, utilizando-se vacina vírus vivo-modificado (VVM) para cães domésticos. Amostras de soro de 55 espécimes de lobos-guarás, provenientes de sete zôos brasileiros e da natureza, foram utilizadas para verificação do perfil sorológico. Para a avaliação pós-vacinal, foram testadas 361 amostras para CDV e 353 para CPV, obtidas de 47 espécimes de idades variadas, mantidos por seis zôos. Os animais adultos e filhotes (com idade inferior a seis meses) foram vacinados com duas e três doses, respectivamente, de vacina mista produzida para cães domésticos (Eurican<sup>®</sup>, Merial), em intervalos de 30 dias. Amostras de sangue foram coletadas no dia das vacinações e em intervalos variados ao longo de 30 meses. As amostras de soro sanguíneo foram submetidas às microtécnicas de soroneutralização e inibição da hemaglutinação para determinação dos títulos sorológicos para CDV e CPV, respectivamente. Dos 47 lobos-guarás vacinados durante o experimento, nenhum apresentou qualquer tipo de reação indesejável após a vacinação. Em relação ao perfil sorológico, 76% dos espécimes apresentaram título mensurável de anticorpos neutralizantes contra CDV e 100% apresentaram título mensurável contra CPV. A avaliação pós-vacinal demonstrou que a VVM Eurican<sup>®</sup> (CDV atenuado por passagens em ovos embrionados de aves SPF e adaptado às células da linhagem VERO) foi imunogênica e segura para lobos-guarás.

Palavras-chave: lobo-guará, cinomose, parvovirose, vacinação.



## 1 Introdução

O lobo-guará é uma das espécies mais típicas do cerrado brasileiro, e assim como tantos outros carnívoros, apresenta susceptibilidade a diversos patógenos comuns aos animais domésticos. Dentre as doenças infecto-contagiosas, a cinomose canina tem sido registrada em canídeos selvagens e em muitos outros carnívoros das famílias Ailuridae (panda-vermelho), Felidae, Mustelidae (furão, ariranha), Procyonidae (guaxinim), Viverridae (mangusto), Hyaenidae (hiena), Ursidae, além das ordens Cetacea (botos, golfinhos), Pinnipedia (focas), e das famílias Tayassuidae (queixadas, ordem Artiodactyla) e Cercophitecidae (ordem Primates). Também o parvovírus canino (CPV) tem sido diagnosticado em vários canídeos selvagens (lobo-cinzento, lobo-guará, raposas, coioote, cachorro-do-mato-vinagre), mustelídeos e procionídeos.

Existem vários registros de lobos-guarás cativos acometidos tanto pelo vírus da cinomose canina (CDV) quanto pelo CPV. A vacinação de canídeos selvagens sempre foi tida como uma prática controversa e polêmica pelos zôos brasileiros, temerosos da manifestação clínica das doenças a vírus. Contudo, vacinações empíricas com vacinas vírus vivo-modificado (VVM) e vacinas inativadas (VI) foram realizadas. Em todas essas situações quando foram utilizados biológicos destinados a cães domésticos, não foram realizados testes sorológicos para verificar o desenvolvimento de resposta imune nos animais.

Considerando a susceptibilidade da população *ex situ* de lobos-guarás às viroses caninas, torna-se necessário um maior conhecimento quanto aos aspectos imunológicos (evolução dos anticorpos de origem materna, imunidade passiva a infecções, interferência dos anticorpos maternos na vacinação, desenvolvimento de resposta imune, duração da proteção mediante vacinação, associação vacinal, avaliação de títulos de anticorpos protetores, etc.) dessa espécie a fim de se estabelecer a eficiência da utilização de imunógenos disponíveis para cães domésticos — pois não existem vacinas desenvolvidas especialmente para canídeos selvagens — e determinar um programa de vacinação que minimize a mortalidade por CDV e CPV, responsáveis por 5% das mortes de lobos-guarás em instituições mantenedoras de fauna selvagem do mundo inteiro, no período de 1980-94.

Sendo assim, este estudo teve como objetivos determinar o perfil sorológico de lobos-guarás com relação ao CDV e CPV, e acompanhar a resposta sorológica pós-vacinal de espécimes cativos imunizados com vacina vírus vivo-modificado produzida para cães domésticos.



## 2 Literatura consultada

### 2.1 O lobo-guará: biologia e conservação

O lobo-guará *Chrysocyon brachyurus* (Illeger, 1811) é o maior canídeo da América do Sul e uma das espécies mais típicas do cerrado brasileiro (Fig. 1), podendo também ser encontrado em campos de altitude e áreas de banhados e brejos. O nome guará vem do tupi "gwa'rá" — que significa vermelho — sendo alusivo à sua pelagem vermelho-dourada, que apresenta crina negra que se estende do alto do crânio até as primeiras vértebras lombares. De corpo esguio, tem membros finos e longos, também negros, que permitem seu deslocamento ágil e com desenvoltura pela vegetação típica do cerrado. Seu comportamento é distinto de outras espécies de canídeos, pois é um animal de hábitos crepusculares e oportunista quanto a sua alimentação: onívora, sazonal, composta por pequenos roedores, aves e frutos silvestres, como a fruta-do-lobo (*Solanum lycocarpum* ou *S. grandiflorum*), abundante no cerrado.



Figura 1 - O lobo-guará *Chrysocyon brachyurus* (Foto: Wolf Bartmann)





## 2 Literatura consultada

### 2.1 O lobo-guará: biologia e conservação

O lobo-guará *Chrysocyon brachyurus* (Illeger, 1811) é o maior canídeo da América do Sul e uma das espécies mais típicas do cerrado brasileiro (Fig. 1), podendo também ser encontrado em campos de altitude e áreas de banhados e brejos. O nome guará vem do tupi "gwa'rá" — que significa vermelho — sendo alusivo à sua pelagem vermelho-dourada, que apresenta crina negra que se estende do alto do crânio até as primeiras vértebras lombares. De corpo esguio, tem membros finos e longos, também negros, que permitem seu deslocamento ágil e com desenvoltura pela vegetação típica do cerrado. Seu comportamento é distinto de outras espécies de canídeos, pois é um animal de hábitos crepusculares e oportunista quanto a sua alimentação: onívora, sazonal, composta por pequenos roedores, aves e frutos silvestres, como a fruta-do-lobo (*Solanum lycocarpum* ou *S. grandiflorum*), abundante no cerrado.



Figura 1 - O lobo-guará *Chrysocyon brachyurus* (Foto: Wolf Bartmann)

Ao contrário da maioria dos representantes de grande porte da família Canidae que apresenta hábito social gregário, o lobo-guará é tímido, solitário e monogâmico, sendo comum a manutenção do par reprodutivo até o momento em que um dos membros venha a morrer. Embora o casal ocupe territórios sobrepostos, as interações são raras, ocorrendo mormente na época da reprodução (outono) quando observam-se vocalizações que parecem estar intimamente ligadas a esse período (Carvalho, 1976; Velloso, 1991; Fonseca et al., 1994; Machado et al., 1998).

A literatura referente a espécie é vasta, mas estudos de campo visando o conhecimento da sua história natural são raros e o número total da população selvagem é desconhecido. A forte pressão antrópica sobre as áreas de cerrado caracteriza a perda de hábitat natural como uma das maiores ameaças à sobrevivência do lobo-guará, expondo-o também a inúmeros patógenos comuns aos cães, aos quais a espécie apresenta susceptibilidade. Ataques furtivos ocasionais à criações domésticas e crendices populares, que atribuem ao lobo-guará poderes mágicos, ainda o fazem alvo de muitas caçadas. A The World Conservation Union - IUCN (União Internacional para Conservação da Natureza e Recursos Naturais), em sua 'Lista Vermelha' de 1996, classificou o lobo-guará na categoria "menor risco (LR)" (táxon que, havendo sido avaliado, não satisfaz a nenhuma das categorias "perigo crítico", "em perigo", "vulnerável", ou "dados insuficientes") (IUCN, 1994; Machado et al., 1997). A espécie também está presente no Anexo II da Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora - CITES (Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagem em Perigo de Extinção). O lobo-guará figura na Lista oficial da fauna brasileira ameaçada de extinção, desde 1989, e na Lista de espécies ameaçadas de extinção do Estado de Minas Gerais, sendo considerado espécie "vulnerável" (táxon sujeito a extinção na natureza a médio prazo) no estado, de acordo com deliberação 041/95 do Conselho Estadual de Política Ambiental - COPAM (Lins, et al., 1997; Machado et al., 1998).

Existem cerca de 413 (211.201.1)<sup>1</sup> lobos-guarás cativos distribuídos em 129 instituições espalhadas pelo mundo (Marten, 1997). Apesar disso, a reprodução bem sucedida desta espécie tem provado não ser fácil, especialmente quanto à sobrevivência dos filhotes, cuja mortalidade média foi de 52,6% ( $s_x = 7,2$ ) no período de 1980-94 (Maia & Gouveia, 1997). Planos de manejo e programas de conservação surgiram em vários continentes com o objetivo comum de agrupar informações sobre a criação de lobos-guarás por zôos e instituições afins, e aumentar o conhecimento sobre a espécie. Estes programas procuram estabelecer uma política que venha a otimizar o manejo da espécie em cativeiro considerando a procriação,

---

1 Nomenclatura utilizada em livros internacionais de registro (International Studbook); significa: número de machos. número fêmeas. número de indeterminados. No caso dos lobos-guarás, são 211 machos, 201 fêmeas e um animal cujo sexo não foi determinado até o fechamento do senso, mantidos em cativeiro.

conservação da variabilidade genética, aspectos sanitários e demográficos da população *ex situ* (razão de sexo, fertilidade, taxa de sobrevivência, mortalidade, estrutura etária), além de oferecer subsídios à estratégia de conservação *in situ*, que tem como metas reduzir a pressão de caça pela desmistificação de credences populares e assegurar hábitat e recursos alimentares.

No Brasil, foi criado, em 1990, o Comitê de Manejo do Lobo-Guará, que atua em consorciação com o Grupo de Trabalho de Canídeos Sul-Americanos. Cabe ao Comitê, assim como aos outros comitês permanentes de recuperação de espécies selvagens ameaçadas de extinção registrados junto ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA, estabelecer diretrizes para a manutenção e manejo da população de lobo-guará que se encontra em cativeiro através do Plano de Manejo para o Lobo-Guará. Da mesma forma, programas de conservação, nos EUA, Austrália e Europa incluíram o lobo-guará em suas ações; são eles: Maned Wolf Species Survival Plan, conduzido pela American Zoo and Aquarium Association (AZA), nos EUA; Australasian Species Management Programme (ASMP), da Australian Regional Association of Zoological Parks and Aquaria (ARAZPA); European Endangered Species Programme (EEP) conduzido pela European Association of Zoos and Aquaria (EAZA), na Europa. Em 1979, foi criado o Internationales register und zuchtbuch für den mähenwolf (Livro Internacional de Registros para Lobos-Guarás) (Roeben, 1975), também conhecido como International Studbook for the Maned Wolf. O "studbook", que vem sendo publicado na forma de censo, anualmente, pelo Zoologischer Garten Frankfurt, Alemanha, reúne registros e informações sobre todos os espécimes cativos de lobos-guarás mantidos em zôos de todo o mundo (registros de nascimentos, óbitos, permutas, importações da natureza, achados *post mortem*). As informações são enviadas ao coordenador do "studbook" na forma de questionários respondidos pelas instituições ou através do Animal Record Keeping System (ARKS), sistema que assegura o registro padronizado de informações pelos zôos — permitindo que dados de origens diferentes sejam combinados — e que alimenta as bases de dados mundiais para informação animal: o International Species Information System (ISIS), e o International Zoo Yearbook (IZY) (IUDZG, 1993).

## 2.2 Filogenia da família Canidae

A família Canidae é um grupo diverso composto por 34 espécies que contrastam na forma, peso e tamanho, apresentando variações que vão, por exemplo, do cachorro-do-mato-vinagre *Speothos venaticus* — de corpo truncado, robusto e membros curtos — ao lobo-guará — esguio e provido de membros longos e finos (Fig. 2). Esta diversidade morfológica está emparelhada à história natural, também diversa, das espécies: os canídeos habitam florestas temperadas e tropicais, savanas, tundras e desertos ao longo do mundo. Além disso, apresentam um apetite mais amplo do que normalmente observa-se entre carnívoros — a maioria inclui uma proporção significativa de vegetais e insetos em sua dieta. No passado, as relações evolutivas dos canídeos foram estudadas através de aproximações morfológicas. Atualmente, o uso de técnicas moleculares e bioquímicas para examinar diferenças genéticas entre as espécies provê um modo alternativo para investigar relações filogenéticas genuínas. Aproximações genéticas moleculares fornecem informações sobre divergência evolutiva — dentro da família Canidae e dentre as outras famílias de carnívoros — assim como sobre relações entre populações de uma mesma espécie (Wayne, 1993).

Os padrões de evolução dentro da família Canidae têm sido elucidados pelo uso de eletroforese de proteínas para estudar variantes de aloenzima e por comparação da banda-G em cromossomos em metáfase (Fig. 3). As diferenças entre frequência de alelos para um grande número de *loci* são usadas para calcular a distância genética entre pares de espécies; desta distância genética, agrupamentos de espécies podem ser discernidos.

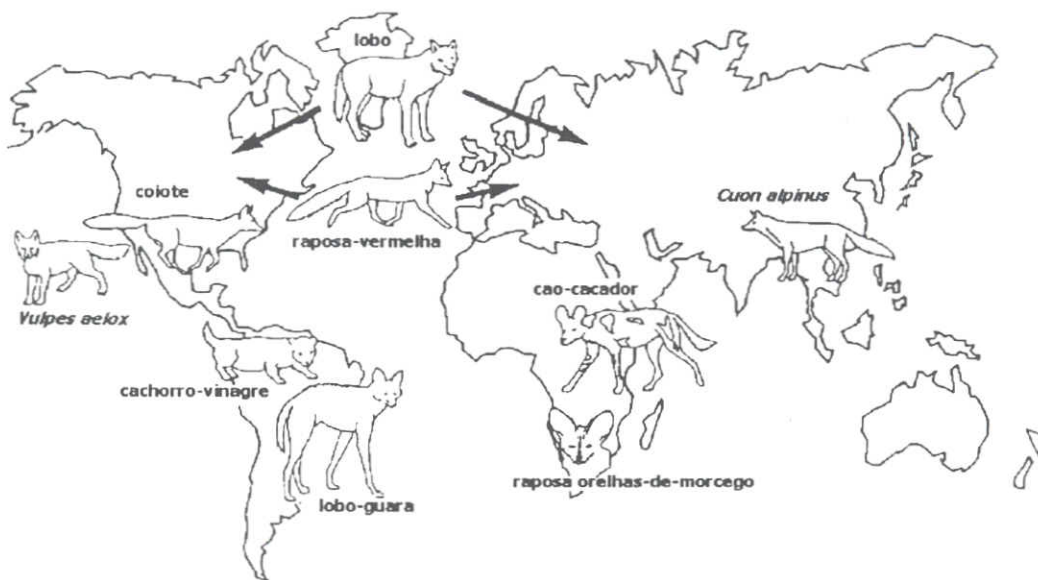


Figura 2 - Distribuição geográfica de alguns canídeos (Wayne, 1993).

A análise comparativa de cromossomos tem provado ser útil porque os canídeos apresentam uma rica diversidade na morfologia de cromossomos, variando de espécies tais como a raposa-vermelha *Vulpes vulpes* — que tem um baixo número diplóide de cromossomos ( $2n = 36$ ), todos metacêntricos autossômicos — até o lobo-cinzento *Canis lupus* — que tem um alto número de cromossomos diplóide ( $2n = 78$ ), todos acrocêntricos autossômicos (Tab. 1).

Exemplificando o uso das técnicas moleculares, estudos com mtDNA (DNA mitocondrial), comparando sete raças de cães domésticos com 26 diferentes populações de lobo-cinzento, mostraram que o genótipo dos cães e lobos são praticamente idênticos, indicando que o cão doméstico é um parente extremamente próximo dos lobos-cinzentos, diferindo destes no máximo em 0,2% da seqüência de mtDNA. Em comparação, o lobo-cinzento difere de seu parente selvagem mais próximo, o coiote, por aproximadamente 4% da seqüência de mtDNA (Wayne, 1993).

Tabela 1 - Número diplóide de cromossomos (2N) de algumas espécies de canídeos (Wayne, 1993).

Espécie	Nome comum	2N
Canídeos tipo lobo		
<i>Canis aureus</i>	chacal-dourado	78
<i>Canis mesomelas</i>	chacal-de-dorso-negro	78
<i>Canis simensis</i>	chacal-da-Etiópia	78
<i>Canis lupus</i>	lobo-cinzento	78
<i>Canis latrans</i>	coiote	78
<i>Canis rufus</i>	lobo-vermelho	78
<i>Lycaon pictus</i>	cão-caçador	78
<i>Canis familiaris</i>	cão doméstico	78
Canídeos sul-americanos		
<i>Speothos venaticus</i>	cachorro-vinagre	74
<i>Lycalopex vetulus</i>	cachorro-do-mato	74
<i>Cerdocyon thous</i>	raposa-do-campo	74
<i>Chrysocyon brachyurus</i>	lobo-guará	76
Canídeos tipo raposa-vermelha		
<i>Vulpes vulpes</i>	raposa-vermelha	36
<i>Alopex lagopus</i>	raposa-do-ártico	50
<i>Fennecus zerda</i>		64
Outros canídeos		
<i>Otocyon megalotis</i>		72
<i>Urocyon cinereoargenteus</i>	raposa-cinzenta	66
<i>Nycteruetes procyonoides</i>	cão-guaxinim	42

O resultado da análise de aloenzima e de cromossomos sugere algumas divisões filogenéticas dentro da família Canidae (Fig. 3): 1 - canídeos tipo lobo, incluindo cães domésticos, lobo-cinzento, coiote, e chacal; 2 - canídeos sul-americanos, incluindo espécies de morfologia diversa, mas com ancestral comum recente; 3 - canídeos tipo raposa-vermelha, do Velho e Novo Mundo, incluindo raposas-vermelhas e *Fennecus zerda*; 4 - gêneros monotípicos, tais como cães-guaxinis *Nyctereutes procyonoides* e *Otocyon megalotis*, que têm um história evolucionária separada (Wayne, 1993).

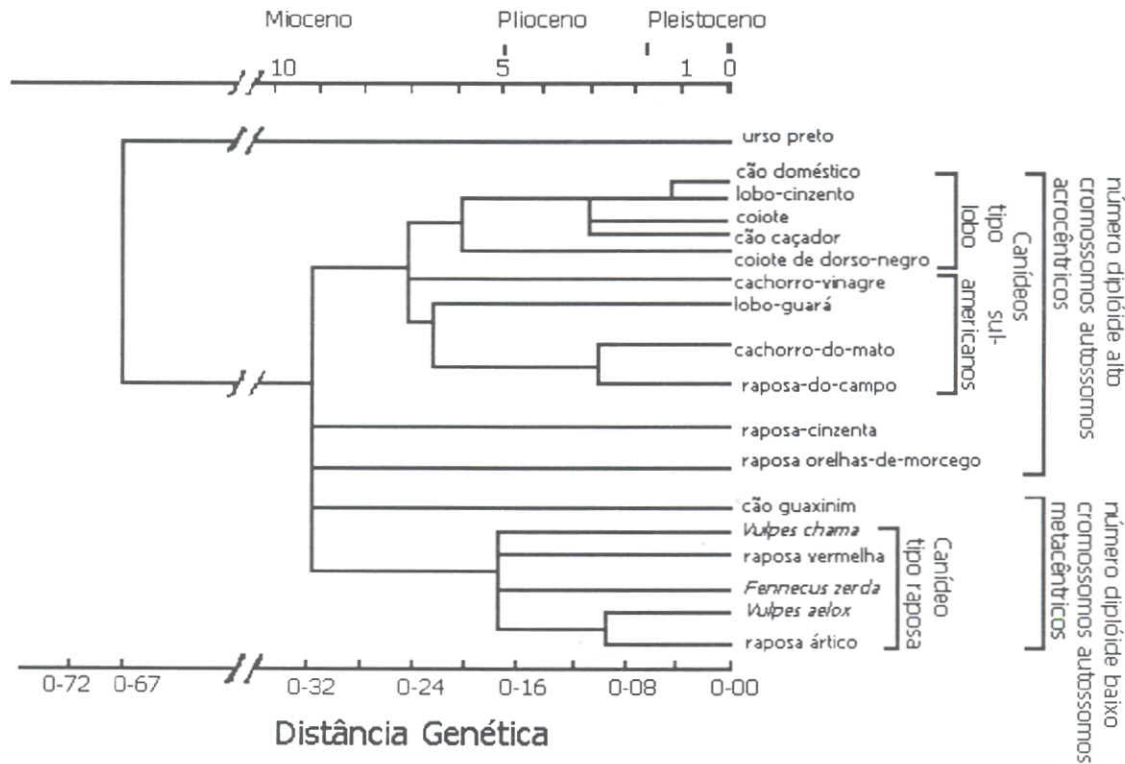


Figura 3 - Árvore de parentesco da família Canidae — distância genética baseada na análise de aloenzima, número e morfologia de cromossomos (Wayne, 1993).

### 2.3 Doenças infecciosas e imunoprofilaxia em carnívoros selvagens

A família Carnívora é susceptível a uma ampla variedade de doenças infecciosas (raiva, cinomose, parvovirose, calicivirose, tuberculose, leptospirose, botulismo, brucelose, colibacilose, etc.) e o controle e prevenção dessas doenças em carnívoros selvagens tornou-se um grande desafio para os veterinários responsáveis pela saúde e bem-estar desses animais. Muitos agentes etiológicos de doenças isolados de cães e gatos domésticos podem, em circunstâncias favoráveis, infectar espécies selvagens. Embora as infecções nos animais selvagens tendem a se manifestar de forma semelhante às aquelas observadas em animais domésticos, variações são observadas (ex.: o adenovírus tipo 1 causa hepatite em cães e encefalite em raposas). Resultados de necrópsias podem ser enganosos, pois agentes infecciosos distintos podem apresentar quadro clínico e lesões semelhantes, fazendo-se necessária a confirmação desses agentes por testes sorológicos, histopatologia, técnicas de imunodiagnóstico e biologia molecular (Fowler, 1983).

O controle das doenças infecciosas em animais selvagens exige, sobretudo, a implantação de eficiente programa de medicina veterinária preventiva. A imunoprofilaxia, parte integrante desse programa, vem sendo utilizada com freqüência, embora pouco ainda se saiba sobre a eficácia e segurança das vacinas para animais selvagens. Vários estudos vêm sendo conduzidos para demonstrar a viabilidade do uso de vacinas em carnívoros. Dentre eles, destaca-se o meritório programa de controle da raiva silvática na Europa e EUA, para o qual foi desenvolvida uma vacina recombinante, estável e segura, ministrada por via oral, que expressa a glicoproteína antigênica do vírus da raiva (VGR). Esta vacina foi testada exaustivamente tanto em laboratório quanto no campo, e no período de 1989 a 1995, aproximadamente 8,5 milhões de doses de VGR foram dispersadas na Europa Ocidental — para vacinar raposas-vermelhas *Vulpes vulpes* — e nos EUA — para vacinar guaxinins *Procyon lotor* e coiotes *Canis latrans* — obtendo-se excelentes resultados, inclusive a eliminação da raiva em algumas áreas. Todavia, numerosos exemplos de indução de doença após o uso de outros tipos de vacina em animais selvagens, sobretudo VVM, têm sido registrados na literatura (Fowler, 1983; Montali et al., 1983; Brocher et al., 1996).

Poderia ser impróprio esperar até que todas as pesquisas tenham sido completadas antes de tentarmos proteger valiosos animais contra doenças infecciosas. Riscos existem, mas podem ser minimizados pela compreensão de alguns fundamentos:

- a) Para se ter máximo benefício, a imunoprofilaxia deve ser utilizada quando existe risco de infecção, considerando, entretanto, a pressão de infecção a qual a espécie está sujeita;

- b) A habilidade do animal em desenvolver resposta imune pode ser prejudicada por doenças concorrentes (ex.: parasitoses), má nutrição (hipoproteinemia), severo estresse fisiológico (estresse de contenção) ou terapias concomitantes com drogas imunossupressivas;
- c) VVM e VI contêm ingredientes biológicos que podem tornar-se não-imunogênicos pelo inadequado armazenamento, manipulação, misturas ou administração (Fowler, 1983).

Ao se deparar com a necessidade de integrar espécies selvagens em programas de vacinação, o veterinário deve procurar, antes de qualquer decisão, responder às seguintes questões: Porque vacinar?... Quando vacinar?... Quais são os riscos da vacinação?... Qual o risco de exposição ao agente infeccioso?... Qual a pressão de infecção?... Que tipo de vacina utilizar ? (Fowler, 1983)



### 2.3.1 Cinomose canina

A cinomose é uma doença infecciosa dos cães domésticos, altamente contagiosa, aguda, subaguda ou crônica, distribuída mundialmente, e caracterizada por febre, manifestações respiratórias, conjuntivite, lesões cutâneas, distúrbios gastroentéricos e neurológicos (incoordenação motora, mioclonias, rigidez muscular, ataxia, convulsões, paresia, paralisia, cegueira) resultantes da replicação viral em células epiteliais, linfóides e sistema nervoso. O vírus acomete animais de todas as idades, entretanto, filhotes tornam-se mais susceptíveis quando os TAc maternos estão baixos. Cães que se recuperam da infecção estão imunes por longos períodos e não eliminam o vírus. De uma maneira geral, títulos de anticorpos neutralizantes (AN) contra o CDV maiores ou iguais a 100 (2,0 log) conferem aos cães domésticos proteção total contra o vírus virulento. Títulos inferiores a 30 (1,5 log) podem não conferir proteção. Títulos entre 30 e 100 conferem proteção moderada, ou seja, os animais são considerados protegidos desde que não sejam expostos a alta pressão de infecção (alta carga de vírus virulento) ou apresentem uma queda na resistência (Gillespie et al., 1958; Polvey, 1986).

O CDV, agente etiológico da cinomose canina, pertence ao gênero *Morbillivirus*, família Paramyxoviridae; apresenta RNA fita simples e é dotado de envelope lipídico — sendo pouco resistente ao calor, dessecação, solventes (ex.: clorofórmio, éter), desinfetantes (ex.: amônia quaternária, hipoclorito), detergentes de uso freqüente — e está relacionado, antigenicamente, aos vírus do sarampo, da peste bovina e da peste dos pequenos ruminantes — que infecta artiodáctilos, e aos morbilivírus de Phocidae e Cetacea, que causaram epidemias entre focas, em 1988, nas águas do noroeste da Europa, e entre golfinhos, em 1990, no Mediterrâneo, respectivamente. Apenas um sorotipo de CDV é reconhecido, embora existam várias cepas — sorologicamente indistinguíveis — que variam quanto à patogenicidade e predileção por tecidos. Todavia, a epidemiologia molecular do CDV, baseada em análises genéticas e filogenéticas, tem evidenciado diferenças entre as diversas amostras vacinais e isoladas de portadores distintos (Harder & Osterhaus, 1997). O CDV é eliminado nas secreções e excreções de animais infectados aproximadamente a partir do sétimo dia após a infecção. A principal forma de transmissão se dá pela inalação do agente em aerossóis de secreções respiratórias (Appel, 1987; Souza, 1996). Transmissões interespecíes ocorrem freqüentemente (Harder & Osterhaus, 1997).

### 2.3.2 CDV em carnívoros selvagens

Apesar do isolamento em que se encontram os animais em zôos, da vulnerabilidade do CDV quando fora do hospedeiro (Appel & Summers, 1995) e devido aos bons procedimentos de imunização e resultante declínio da cinomose canina na população de cães domésticos (Montali, et al. 1987), há na literatura científica um sem número de exemplos e registros dessa doença em animais selvagens. Em muitos deles, os sinais clínicos neurológicos suscitaram infecção pelo vírus rábico. Diferentes espécies das ordens Carnivora, Cetacea, Pinnipedia, além das famílias Tayassuidae (*Tayassu tajacu*, ordem Artiodactyla) e Cercophitecidae (*Macaca fuscata*, ordem Primates), têm sido citadas como susceptíveis a vírus semelhante ao CDV (Harder & Osterhaus, 1997). Não obstante, a patogenicidade do CDV varia de espécie para espécie podendo resultar apenas em uma infecção inaparente ou provocar alta mortalidade numa população (Appel & Summers, 1995; Moll, et al., 1995). Dependendo do hospedeiro e da imunocompetência dos indivíduos afetados, a taxa de mortalidade pode exceder a 80% durante um surto. O CDV tem sido isolado de vários canídeos selvagens, inclusive do lobo-guará, e de muitos outros carnívoros das famílias Ailuridae (panda-vermelho *Ailurus fulgens*), Felidae, Mustelidae (furões, lontras, doninhas), Procyonidae (quati, guaxinim), Viverridae (*Arctictis binurong*), Hyaenidae (hienas), e Ursidae, segundo Fowler (1983) e Montali et al. (1987). Há muito a cinomose deixou de ser apenas uma doença de importância econômica para a indústria de produção de peles, zôos, e parques de caça, passando a destacar-se no panorama da conservação das espécies selvagens em virtude dos vários surtos que vêm sendo observados nas últimas décadas colocando em risco populações de carnívoros, tanto *in situ* quanto *ex situ*.

A ocorrência natural de cinomose entre mustelídeos já foi registrada nas espécies fuinha *Martes foina*, texugos *Meles meles* e *Taxidae taxus*, visom *Mustela nivali*, furão *Galictis vittata*, jeritataca *Mephitis mephitis*, lontra *Lutra lutra*, e doninha-européia *Mustela putoris* (Appel & Summers, 1995; Moll, et al., 1995). Moll et al. (1995) investigaram a incidência sazonal de infecção por CDV em carnívoros selvagens no sudoeste da Alemanha pela análise imunohistoquímica de 236 amostras de tecido cerebral de 146 mustelídeos (fuinhas, texugos, doninhas) e 90 raposas-vermelhas *Vulpes vulpes*. O CDV foi encontrado em 37% dos mustelídeos e alguns achados histológicos foram semelhantes aos descritos em cães jovens com encefalite aguda. Estudos prévios mostraram que o vírus causador da doença em mustelídeos não é antigenicamente distinto do morbilivírus canino. Nenhuma raposa foi positiva para CDV. Similarmente, Machida et al. (1993) não encontraram CDV em raposas vermelhas e texugos durante uma epidemia de cinomose na população de cães-guaxinins *Nyctereutes procyonoides* nas cercanias de Tóquio. Segundo Moll et al. (1995), carnívoros

selvagens podem ser uma fonte potencial de CDV para cães domésticos e vice-versa, podendo a virulência do vírus ser alterada por passagens sucessivas em espécies distintas que ocupem áreas sobrepostas resultando em uma cepa mais virulenta.

Dentre os procionídeos, o guaxinim *Procyon lotor* é altamente susceptível ao CDV, sendo que as lesões cutâneas provocadas pelo vírus são particularmente severas nesta espécie. Os "raccoons", como são conhecidos nos EUA, estão amplamente distribuídos por este País e são extremamente adaptados às áreas urbanas, podendo carrear vários agentes infecciosos para animais domésticos e outras espécies exóticas (Mitchell et al., 1997), sendo elemento importante na cadeia epidemiológica da raiva urbana na América do Norte. Em 1974, surto de cinomose ocorreu em guaxinins e raposas *Vulpes fulva* no condado de Sarasota, Flórida. A epidemia foi diagnosticada com base nos sinais clínicos, isolamento viral e testes sorológicos de animais doentes e aparentemente normais. Não se observou, durante a epidemia, aumento na incidência de cinomose em cães domésticos da região (Montali et al., 1987). Mitchell et al. (1997), estudando a soroprevalência do CDV em guaxinins no estado de Illinois, EUA, verificaram que 23% dos espécimes testados foram soropositivos para CDV. Estudos semelhantes realizados em New York, Maryland, e Florida detectaram a soroprevalência de AN para CDV variando entre 22-84%. Cypher et al. (1998), estudando uma população de coiotes na Califórnia, verificaram prevalência de CDV variando de 26-65%, no período de 1985-90, em amostras de soro testadas por imunofluorescência indireta (imunofluorescência indireta).

Também há relatos de cinomose canina nas famílias Felidae e Canidae. No outono de 1992, em um parque de reabilitação no sul da Califórnia (Wildlife Way Station), 17 felinos selvagens — dentre leões *Panthera leo*, tigres *Panthera tigris*, leopardos *Panthera pardus* e onças *Panthera onca* — morreram devido a infecção pelo CDV. Os animais apresentaram manifestações respiratórias e gastroentéricas da doença, assim como sintomatologia nervosa (convulsões). O isolamento viral comprovou tratar-se de vírus semelhante ao CDV, o qual não se diferenciou de vírus isolados de cães e guaxinim pela técnica de anticorpo monoclonal (Appel & Summers, 1995). Surto semelhante ocorreu na população de leões no Parque Nacional do Serengeti, Tanzânia, em 1994, matando vários espécimes. Na ocasião, resultados de sorologia demonstraram que 85% da população de leões do parque apresentavam anticorpos contra CDV. Amostras de tecidos dos animais foram positivas para CDV por imunocitoquímica; a epidemia estendeu-se até a Reserva Nacional dos Maasai Mara, Quênia, acometendo leões, hienas-pintadas *Crocuta crocuta*, leopardos e raposas *Otocyon megalotis*. Em 1978, ainda no ecossistema Serengeti-Mara, acredita-se que outros surtos de CDV tenham provocado a morte de chacais-de-dorso-negro *Canis mesoelas* e *Otocyon megalotis*, e de cães-caçadores *Lycaon pictus*, em 1991 (Roelke-Parker et al., 1996). No período de 1992-95, Creel et al. (1997)

encontraram anticorpos contra CDV em 59% da população de cães-caçadores na Selous Game Reserve, na Tanzânia.

Estudos epidemiológicos realizados nos EUA, Canadá, Alasca e Itália verificaram a prevalência do CDV — variando de 12% a 100% — em populações selvagens. Contudo, o vírus não foi considerado como importante causa de mortalidade nessas populações (*in situ*) de lobos e coiotes (Zarnke & Ballard, 1987; Johnson et al., 1994; Martinello et al., 1997; Gese et al., 1997; Cypher et al., 1998).

### 2.3.3 Vacinação de carnívoros selvagens contra CDV

A profilaxia da cinomose canina em carnívoros selvagens mantidos em coleções de zôos tem sido motivo de grande controvérsia desde que infecções letais foram associadas ao uso de VVM desenvolvidas para cães domésticos. Vários autores relataram episódios em que pandas-vermelhos vacinados com VVM morreram após apresentarem um quadro clínico semelhante ao da cinomose, caracterizado por diarreia, depressão, descarga purulenta naso-ocular e pneumonia (Bush et al., 1976). Outro incidente frequentemente citado na literatura refere-se à vacinação de espécimes de furão-americano "black-footed ferret" *Mustela nigripes*. Seis espécimes foram capturados em South Dakota, EUA, e transferidos para um centro de pesquisa, onde quatro dos seis animais vacinados contra CDV com VVM (originária de cultura de células de galinha) morreram três semanas após a vacinação. A espécie, tida como em processo de extinção pelo Bureau of Sports Fisheries and Wildlife desde 1964, quase desapareceu (Carpenter et al., 1976). Em setembro de 1981, uma nova colônia foi encontrada em Wyoming, e inúmeras providências foram tomadas visando sua conservação. No outono de 1985, seis espécimes foram capturados e transferidos para o cativeiro. Dias após a captura, os seis animais capturados morreram de cinomose canina. Provavelmente, o CDV acometeu outros espécimes de vida livre na área de captura. Confirmado o diagnóstico, optou-se pela captura de todos os furões remanescentes, exceto aqueles que ainda poderiam estar presentes na periferia da pradaria onde foi verificada a epidemia. Novamente, seis animais foram capturados e mantidos isolados, recebendo, mais tarde, VI (amostra Onderstepoort). Estes furões apresentaram títulos de SN = 1000 (3 log) após receberem duas ou três doses da vacina, todavia, não se pode assegurar que este título é protetor ao desafio frente ao vírus virulento. Soros de quatro furões que morreram de cinomose na ocasião do surto não apresentaram AN contra CDV. Guaxinins, jeritacas e doninhas presentes na área foram também soronegativas, entretanto, alguns texugos e coiotes adultos apresentaram AN contra CDV, com títulos variando de 100 (2 log) a 1000 (3 log) (Williams et al. 1988). Episódio semelhante ao dos furões-americanos ocorreu com "minks" europeus *Mustela lutreola*

vacinados com VVM polivalente (Galaxy<sup>®</sup> 6 - MPH-L; vacina contra CDV, CPV, adenovírus, parainfluenza, leptospirose) para cães domésticos (Sutherland-Smith, et al. 1997). Williams et al. (1995) realizaram ensaio no qual furões-americanos híbridos e furões domésticos *Mustela putorius* foram vacinados com VVM e VI contra CDV. Títulos de SN  $\geq 1024$  (3 log) contra CDV foram detectados 14 dias após a vacinação dos híbridos com VVM. Os títulos dos híbridos vacinados com VI foram significativamente menores e menos duradouros. Os oito furões híbridos que receberam a VVM sobreviveram ao desafio frente ao vírus virulento sem manifestar a doença clínica.

Halbrooks et al. (1981) realizaram ensaio no qual 10 raposas-cinzentas *Urocyon cinereoargenteus*, soronegativas para CDV, foram vacinadas com VVM para cães domésticos. Das cinco raposas que receberam a VVM-A (originária de cultura de células de galinha), quatro desenvolveram títulos de SN  $\geq 100$  (2 log). Duas das três raposas vacinadas com a VVM-B (originária de cultura de células de cão) e ambos os espécimes que receberam a VVM-C (originária de cultura de células de cão) morreram de cinomose induzida pelas vacinas. Cinco raposas não-vacinadas utilizadas como controle morreram de cinomose após contato com um dos animais que receberam a VVM-B. Os mesmos autores citam ainda três exemplos quando 14 raposas-cinzentas e 15 raposas-vermelhas *Vulpes fulva* foram vacinadas com VVM, provavelmente originárias de cultura de células de cão. Destas, 13 raposas-cinzentas morreram após a vacinação, apresentando lesões microscópicas consistentes com CDV; amostras de cérebro foram positivas para CDV e negativas para raiva pelo teste de imunofluorescência direta. Todas as raposas-vermelhas permaneceram clinicamente normais após a vacinação. Os resultados sugeriram que VVM originárias de cultura de células de galinha são seguras tanto para raposas-cinzentas quanto para raposas-vermelhas. Em contrapartida, as VVM originárias de cultura de células de cão foram toleradas apenas pelas raposas-vermelhas devido, em parte, à maior proximidade filogenética entre cães e raposas-vermelhas. Provavelmente, a VVM amostra Onderstepoort, por ser adaptada à cultura de células de galinha, apresenta um grau de replicação lento nas células das raposas-cinzentas, permitindo uma resposta imunológica suficiente para neutralizar os efeitos do vírus vacinal, enquanto as amostras adaptadas à cultura de células de cão (amostras Snyder Hill e Washington Crossing) replicam-se rapidamente, exercendo forte pressão de infecção antes de uma resposta imune satisfatória. Segundo Halbrooks et al. (1981), o uso de uma vacina desenvolvida primariamente para cães pode produzir resultados indesejáveis em outras espécies, mesmo havendo parentesco entre elas.

McCormick (1983) relatou a morte de seis cães-caçadores jovens entre 12 e 20 dias após a vacinação com VVM polivalente. O autor não especificou a origem da vacina utilizada, nem

descartou a possibilidade de exposição natural ao vírus durante o transporte dos animais. Embora os sinais clínicos fossem compatíveis com cinomose e o teste de anticorpos fluorescentes positivo para CDV, o soro de um dos animais, coletado 10 dias após a vacinação, apresentou título de SN = 4. De acordo com o autor, além da falta de tempo para o desenvolvimento significativo de anticorpos circulantes, a imunossupressão causada pela doença e o estresse devido ao transporte podem ter favorecido tal achado. Heerden et al. (1980) verificaram baixos títulos de AN em filhotes de cães-caçadores capturados na natureza após vacinação com VVM; três dos espécimes tiveram contato freqüente com cães domésticos. O autor também não especificou a origem da vacina, mas, apesar dos baixos títulos encontrados, ela mostrou-se segura.

Até 1983, muitos dos carnívoros do National Zoological Park, Washington, EUA, vinham sendo vacinados com VI contra CDV. Amostras de soro foram obtidas dessas espécies (cachorro-do-mato-vinagre, lobo-guará, raposas *Cerdocyon thus*, *Fennecus zerda*, *Vulpes velox*, panda-vermelho, panda-gigante *Ailuropoda melanoleuca*, *Arctictis binturong*), a fim de se estabelecer o perfil sorológico em relação ao CDV. Com exceção de três cachorros-do-mato-vinagre que apresentaram títulos de SN = 256 (2,4 log), todos os 72 demais espécimes tinham títulos inferiores a 25, normalmente menores que 5. Uma vez que a VI raramente induzia títulos superiores a 100 (2 log), valor considerado protetor para cães domésticos, procurou-se, então, avaliar dois tipos de VI (amostras Rockborn e Onderstepoort) e uma VVM (amostra Onderstepoort, atenuada em cultura de células de galinha) em quatro diferentes espécies de carnívoros (panda-vermelho, cachorro-do-mato-vinagre, lobo-guará, *Fennecus zerda*). Dos pandas vacinados com VI, apenas um tinha título de SN = 256; os demais apresentaram títulos inferiores a 20. Já as três espécies de canídeos vacinados com VVM apresentaram boa resposta. Dez dos 12 cachorros-do-mato-vinagre tinham títulos de AN  $\geq 512$ ; quatro filhotes vacinados com três meses de idade só desenvolveram títulos superiores a 100 (2 log) após a terceira ou quarta dose da vacina, enquanto que nos animais com idade superior a seis meses títulos de SN  $\geq 100$  foram detectados duas e três semanas após a primeira vacinação. A resposta mais tardia dos filhotes foi atribuída à interferência de anticorpos passivos. Os lobos-guarás e as raposas desenvolveram títulos maiores que 100. A VVM provou ser segura e imunogênica (Montali et al. 1983). Em contrapartida, um filhote de cachorro-vinagre do National Zoological Gardens, Pretoria, África do Sul, foi vacinado com VVM polivalente, porção CDV originária de cultura de células de cão (amostra Snyder-Hill). O filhote apresentou sinais clínicos de cinomose canina 21 dias após a vacinação, morrendo pouco depois (McInnes et al. 1992).

Outro exemplo do uso de vacinas na prevenção do CDV em canídeos selvagens ocorreu no Tennessee, EUA, quando 20 espécimes de lobo-vermelho *Canis rufus* — espécie ameaçada de extinção e alvo de um dos mais bem sucedidos programas de reprodução em cativeiro e reintrodução — foram vacinados com VVM contra CDV (Fromm<sup>®</sup> D, amostra Onderstepoort, originária de células de galinha, Solvay) e CPV2 (Duramune<sup>®</sup> KF - 11, Fort Dodge). Avaliação pós-vacinal, baseada num teste Elisa para cães domésticos, verificou que os lobos-vermelhos foram capazes de desenvolver anticorpos mensuráveis. Os títulos de IgG variaram de 160 a 640 e de 10 a 80 para CDV e CPV, respectivamente. Título de 160 está correlacionado a proteção em cães domésticos, entretanto, os títulos obtidos para os lobos-vermelhos podem não ser suficientes para conferir proteção frente aos vírus virulentos uma vez que não foi realizado desafio. É importante mencionar que cinco espécimes adultos avaliados haviam sido previamente vacinados com Duramune<sup>®</sup> DA<sub>2</sub>P+PV+LCI (VVM polivalente contra CDV, adenovírus 2, CPV, parainfluenza, e leptospirose; amostra Rockborn do CDV, originária de células de cão, Laboratório Fort Dodge) (Harrenstien et al., 1997).

Alguns autores sugerem que a amostra viral de uma dada espécie pode ter sua virulência alterada após sua passagem numa segunda espécie (Machida et al., 1993; Moll et al., 1995). Appel et al. (1978) demonstraram reversão de virulência da amostra Rockborn do CDV (adaptada em cultura de células de cão) após passagens sucessivas em culturas de macrófagos de cão. Halbrooks et al. (1981) também verificaram reversão de virulência de uma cepa viral adaptada em cultura de células de cão ao inocular cães soronegativos para CDV com suspensão de tecidos de raposas-cinzentas que tinham morrido por cinomose induzida pela vacinação. Os exemplos de acidentes vacinais mencionados corroboram a opinião de que o potencial de virulência da VVM para CDV é diferente dependendo da cultura de célula utilizada na atenuação do vírus (Appel & Summers, 1995) e da cepa viral (Halbrooks et al., 1981). Existem algumas espécies que podem ser vacinadas seguramente com VVM atenuadas em culturas de células de galinha, enquanto aquelas adaptadas em cultura de células de cão podem não ser suficientemente atenuadas para outras espécies, apesar do parentesco (Halbrooks et al., 1981). A imunogenicidade de três tipos de vacinas contra CDV foi estudada em três grupos de cães da raça beagle com idade de 3-4 meses. A amostra Rockborn (vacina 1) induziu os maiores títulos e menores variações de AN. Também foi verificada significativa diferença entre a amostra Onderstepoort produzida em ovos SPF (livre de patógeno específico) de galinha e em células da linhagem VERO (vacinas 2 e 3), quando comparados os títulos de AN dos cães, um mês após a primeira vacinação (Rikula et al., 1996).

Atualmente, uma nova vacina recombinante contra CDV vem sendo testada em alguns zôos americanos. Alguns canídeos, mustelídeos, viverrídeos, procionídeos, grandes e pequenas

espécies de felinos, e o panda-vermelho receberam duas doses da vacina, em apresentação monovalente. A avaliação envolve uma coleta de soro pré-vacinal e uma nova coleta 4-6 semanas após a aplicação da segunda dose. Esta vacina contém um segmento do genoma do CDV inserido no DNA do vetor (pox vírus, amostra canário) que, por sua vez, expressa o antígeno que induz imunidade contra CDV. A segurança, eficácia e durabilidade desse produto, avaliadas em cães domésticos, foram iguais ou superiores à VVM contra CDV (comunicação pessoal)<sup>2</sup>.

---

<sup>2</sup> Richard Montali (AAZV CDV Subcommittee), National Zoological Park, Smithsonian Institution, Washington, USA.  
zpem026@sivm.si.edu



### 2.3.4 Parvovirose canina

A parvovirose canina é uma doença infecciosa dos cães domésticos, altamente contagiosa, aguda ou sub-aguda, distribuída mundialmente, que se apresenta sob duas formas: entérica e miocárdica. A forma entérica é a mais freqüentemente reconhecida, e caracteriza-se por febre, letargia, leucopenia e distúrbios gastroentéricos resultantes da replicação viral em células em mitose, como as criptas do intestino delgado, sistema linfóide, medula óssea. A forma miocárdica é diagnosticada, geralmente, no exame *post-mortem*, após morte súbita de animais muito jovens sem sinais clínicos aparentes. O CPV tem sido descrito em inúmeros canídeos selvagens, e sua prevalência é alta em cães domésticos, acometendo, na maioria das vezes, cães jovens não vacinados ou em período crítico — quando os títulos de anticorpos (TAc) maternos estão baixos. Cães que se recuperam da infecção natural estão imunes por longos períodos e não eliminam o vírus. TAc contra o CPV — obtido pelo teste de inibição da hemaglutinação (HI) — igual a 80 é considerado protetor para cães domésticos e interfere na vacinação; título igual a 10 pode interferir na resposta à VI ou VVM com baixa massa antigênica. O vírus pertence à família Parvoviridae e está relacionado, antigenicamente, aos vírus da panleucopenia felina (FPV) e ao vírus da enterite do visom, diferenciando-se destes apenas por algumas bases de DNA; sugere-se que o CPV tenha surgido devido a uma mutação do FPV. Apresenta genoma DNA de fita simples, o que justifica sua predileção por células em mitose rápida — o vírus provoca a morte da célula após utilizar sua maquinaria para produzir proteínas virais. O CPV-2, CPV-2a e CPV-2b — estes dois últimos, subtipos que surgiram na população canina em 1980 e 1986, respectivamente — são muito semelhantes, e imunidade induzida por infecção ou vacinação com qualquer um dos subtipos provêem completa proteção cruzada. O isolamento de CPV-2a e -2b de gatos domésticos sugere que essa espécie possa apresentar a doença clínica semelhante à observada em cães. Muito resistente, o CPV não possui envelope lipídico, podendo permanecer vários meses no meio ambiente sob condições favoráveis, embora possa ser inativado por formalina 1%, solução de hipoclorito (1:30) e luz do sol. O CPV é eliminado nas fezes de animais infectados três ou quatro dias após a infecção, muitas vezes, antes do aparecimento dos sinais clínicos. A principal forma de transmissão se dá pela via oronasal após contato com fezes que encerram grande número de partículas virais do agente. O CPV tem a capacidade de aglutinar hemácias de várias espécies, sobretudo hemácias de suínos e macacos Rhesus (Montali et al., 1987; Smith-Carr et al., 1997).

### 2.3.5 CPV em carnívoros selvagens

Três parvovírus são reconhecidos como agentes causadores de doenças em carnívoros selvagens: CPV-2 (canídeos), FVP (felídeos) e vírus da enterite do visom (visom americano). Segundo Montali et al. (1987), pouco ainda se sabe sobre o potencial desses vírus para afetar espécies selvagens simpátricas<sup>3</sup> e de outras famílias. Nettles et al. (1980) registraram a ocorrência de CPV em guaxinins reintroduzidos nos EUA; testes de hemaglutinação (HA) e soroneutralização (SN) realizados indicaram infecção por CPV, todavia, estudos posteriores verificaram que tratava-se do FPV (Appel & Parrish, 1982). Os guaxinins mostraram-se resistentes à doença clínica após inoculação experimental com CPV, mas muito sensíveis ao FPV e MVE (Barker et al., 1983). Aparentemente, o CPV-2, ao contrário do CDV, apresenta uma maior especificidade por hospedeiros. Entretanto, sua semelhança antigênica com o FVP suscita dúvidas quanto a etiologia de infecção por parvovírus em carnívoros (Fowler, 1983). Há na literatura registros da ocorrência de FVP em raposas do ártico *Alopex lagopus* (Phillips, 1943) e lobos-guarás (Visee et al., 1974).

Em 1977-78, houve o primeiro grande surto de CPV em cães domésticos nos EUA, Canadá, Austrália e Europa. No mesmo período, casos de CPV começaram a ser notificados em canídeos selvagens — primeiro em lobos-guarás do San Antonio Zoological Gardens (Texas, EUA) — e, posteriormente, em canídeos sul-americanos do National Zoological Park (Washington, EUA), dentre eles, lobos-guarás, cachorros-do-mato-vinagre e raposas-do-campo *Cerdocyon thous*. Os animais apresentaram, como sinais clínicos da doença, anorexia, letargia, vômito e diarreia fétida, às vezes, hemorrágica. Os achados anatomopatológicos foram semelhantes àqueles observados em cães domésticos infectados pelo CPV-2. Seis dos 30 canídeos que permaneceram saudáveis já apresentavam títulos de HI contra CPV antes do episódio da doença, indicando exposição subclínica. Os títulos variaram de 512 (2,1 log) a 5120 (3, 7 log). Dois animais que morreram apresentavam título de HI < 20 (1,3 log) antes do desenvolvimento dos sinais clínicos (Fletcher et al., 1979; Mann et al., 1980). Evermann et al. (1980) relataram episódio em que 19 de 44 filhotes de coiotes *Canis latrans*, com idade variando de três a seis semanas, morreram após apresentarem enterite hemorrágica aguda. Amostras de soro foram testadas por imunofluorescência indireta e TAc contra CPV e coronavírus canino foram detectados. A infecção concomitante pelos dois agentes foi verificada em vários filhotes e confirmada pelo isolamento dos vírus. A fonte de infecção foi atribuída a seis filhotes de cão doméstico criados junto aos coiotes. Surto de CPV ocorreu também em cães-guaxinis numa fazenda na Finlândia, onde foram encontrados títulos de HI variando 2560 (3,4 log) a 20000 (4,3 log). Posteriormente, inoculação experimental de três guaxinins e de

duas raposas do ártico com suspensão de fezes de cão positivo para CPV determinou, três semanas após a inoculação, uma resposta dos animais infectados variando de 640 (2,8 log) a 2560 (3,4 log) (Neuvonen et al., 1982).

A alta prevalência de anticorpos contra CPV-2 tem sido observada em algumas populações selvagens de canídeos, sobretudo nos EUA e Alasca. Thomas et al. (1984) analisaram 1.184 amostras de soro de coiotes, coletadas nos estados do Texas, Utah e Idaho no período de 1972-83. Nenhuma evidência de infecção por CPV foi encontrada até 1979; a partir deste ano a soroprevalência sofreu um incremento para mais de 70%, coincidindo com o surto observado em cães domésticos em 1977-78, como citado anteriormente, e com o registro de CPV em lobos-guarás cativos realizado, também, no Texas. Os TAc foram determinados pelo teste de HI. Devido a reações inespecíficas verificadas nas primeiras diluições dos soros testados, os títulos só foram considerados positivos a partir da diluição 1:160. Zarnke & Ballard (1987) verificaram aumento na prevalência de anticorpos contra CPV — para mais de 50% — em lobos no Alasca, no período de 1981-1982. Meech & Goyal (1993; 1995) observaram a prevalência do CPV na população de lobos de Minnesota variando de 13 a 95% no período de 1979-93, e, em 1997, realizaram o primeiro registro da morte de um espécime de vida livre — ocorrida em fevereiro de 1993 — devido a infecção por CPV. Aparentemente, o vírus teve pequeno impacto sobre o tamanho da população dos lobos de Minnesota no período de 1979-83. Porém, no período 1984-93, observou-se que a diminuição no número de filhotes capturados durante as estações verão-outono estava inversamente relacionada à prevalência do CPV verificada, posteriormente, nas estações inverno-primavera, sugerindo, segundo os autores, um declínio da população sempre que a taxa de prevalência excedia 76%. Muneer et al. (1988) detectaram a presença do CPV nas fezes de lobos dessa mesma população por microscopia eletrônica. Em julho de 1993, dois filhotes de lobos-vermelhos foram encontrados mortos em uma reserva no Tennessee, EUA, e o CPV-2 foi isolado do trato intestinal de um deles (Harrenstien et al., 1997). Jonhson et al. (1994) também verificaram alta prevalência de CPV (65%) na população de lobos em Montana, EUA. Da mesma forma, Gese et al. (1997) encontraram 100% de prevalência de anticorpos contra CPV na população de coiotes — com idade superior a três meses — do Yellowstone National Park, Wyoming, EUA, no período de 1989-93, e Cypher et al. (1998) observaram prevalência de 66% na população da Naval Petroleum Reserve, California, EUA, no período de 1985-90, sobretudo nos indivíduos adultos. A alta prevalência observada nos coiotes parece não ter influenciado a população das raposas de São Joaquim *Vulpes mutica*, espécie ameaçada de extinção e simpátrica em relação aos coiotes. Creel et al. (1997) encontraram alta prevalência de CPV (68%) na população de cães-caçadores na Selous Game Reserve, na Tanzânia, no período de 1992-95.

<sup>3</sup> cada uma das várias espécies que, por serem afins, ocupam a mesma área.

Já Martinello et al. (1997), ao analisarem 115 amostras de fezes da população de lobos *Canis lupus* ao norte dos Montes Apeninos, na Itália, coletadas nas primaveras de 1994-95, verificaram a presença do CPV em apenas quatro amostras testadas por ELISA de captura, HA e microscopia eletrônica.

Considerando os estudos realizados em cativeiro, a infecção por CPV pode ser severa o suficiente para causar a morte, sobretudo, de filhotes de canídeos selvagens. Assim sendo, o CPV poderia ter implicações importantes no manejo de populações selvagens de lobos, particularmente daquelas que apresentam alta densidade ou estão sob ameaça de extinção. Apesar das altas taxas de prevalência de anticorpos para CPV verificadas em populações selvagens de lobos, nenhum decréscimo dramático na sobrevivência ou recuperação destas populações foi observado. Na verdade, o impacto do CPV sobre populações *in situ* ainda não está bem determinado (Thomas et al., 1984; Zarnke & Ballard, 1987; Ginsberg & Macdonald, 1990; Jonhson et al. , 1994; Gese et al., 1997; Cypher, et al. 1998).

### **2.3.6 Vacinação de carnívoros selvagens contra CPV**

Poucas são as experiências de vacinação e avaliação pós-vacinal de carnívoros selvagens, sobretudo de canídeos, contra o CPV. Janssen et al. (1982) relataram episódio em que 10 de 17 filhotes de cachorros-do-mato-vinagre *Speothos venaticus* — com idade variando de 6-20 semanas — vacinados com VI contra CPV (parvovírus de origem felina), desenvolveram a doença clínica por volta da 15ª semana após a vacinação. Nove espécimes morreram. No mesmo período, uma ninhada de lobos-guarás e outra de cachorros-vinagre foram isoladas de seus pais e vacinadas contra CPV com VI de origem canina. Desta vez, nenhum dos filhotes desenvolveu a doença. Testes sorológicos demonstraram que os filhotes de cachorro-vinagre foram capazes de desenvolver título protetor contra CPV (HI > 80) na 23ª semana de vida, embora os anticorpos maternos tenham perdurado até a 15ª semana. Os filhotes de lobo-guará desenvolveram títulos protetores por volta da 14ª-18ª semana de vida, sugerindo imunocompetência diferente entre as espécies de canídeos, ainda que os aspectos clínicos e patológicos da doença apresentem-se similares (Montali, et al., 1987). No National Zoological Park, Washington, EUA, os cachorros-vinagre, lobos-guarás e raposas que permaneceram saudáveis durante o surto de CPV, em 1979, foram também vacinados com VI de origem felina. Nenhum animal veio a desenvolver a doença como conseqüência da vacinação, todavia, eles já apresentavam títulos de HI contra o CPV quando foram vacinados (Mann et al., 1980).

Green et al. (1984), em estudo realizado com coiotes *Canis latrans*, verificaram que 83% (55/66) dos filhotes de mães vacinadas foram soropositivos para CPV ao nascimento.

As amostras de sangue foram obtidas aos 1-3, 7, 14, 21 dias de idades. Os anticorpos maternos perduraram até a 8ª semana de vida dos filhotes e a meia-vida desses anticorpos foi determinada como sendo de 6,7 dias, contra os 9,7 dias registrados em cães domésticos (Montali, et al., 1987). Entretanto, filhotes com oito semanas de idade vacinados com VI de origem felina contra CPV não mostraram soroconversão até 11ª semana. Algumas hipóteses foram suscitadas, sendo elas:

- a) os filhotes eram muito jovens para responder à vacina ou possuíam suficientes anticorpos maternos — não detectáveis pela sorologia — que impediram o desenvolvimento da resposta ativa;
- b) três semanas não foi tempo suficiente para o desenvolvimento da resposta;
- c) a vacina apresentava baixa massa antigênica.

De qualquer modo, os resultados obtidos por Green et al. (1984) corroboram com a hipótese de que existem diferenças na maneira como as diversas espécies de canídeos respondem aos diversos antígenos (Halbrooks et al., 1981; Montali, et al., 1987). Ainda em relação ao estudo de Green et al. (1984), é importante ressaltar que a vacinação das fêmeas no período pré-cobrição conferiu proteção aos filhotes. No ano anterior à realização do estudo, 26 filhotes — com 6-9 semanas de idade — de mães não vacinadas morreram de enterite, algumas delas associadas ao CPV.

A VVM contra CPV há muito vem se mostrando mais efetiva para filhotes de cães domésticos. No National Zoological Park, uma VVM contra CPV forneceu boa proteção às ninhadas de lobo-guará e cachorro-vinagre; títulos protetores foram obtidos com mais precocidade com a VVM do que com a VI (Montali, et al., 1987). Como citado anteriormente, Harrenstien et al. (1997) também verificaram que lobos-vermelhos vacinados com VVM foram capazes de desenvolver anticorpos contra o CPV.

### 2.3.7 CDV e CPV em lobos-guarás

O primeiro registro de CDV em lobos-guarás encontrado na literatura foi feito por Cabasso et al. (1956), quando existiam apenas três espécimes nos EUA, mantidos no San Diego Zoological Gardens. Dois filhotes de lobo-guará, nascidos nesse zôo e criados artificialmente por uma cadela lactante, morreram com sinais clínicos sugestivos de cinomose canina. Macerado de fragmentos de fígado e baço de um dos filhotes foi inoculado em filhotes de cão e furões, apontando o CDV como agente responsável pelo óbito dos filhotes de lobo-guará. Já a parvovirose teve seu primeiro registro feito por Visee et al. (*apud* Montali et al., 1987), contudo, a infecção foi atribuída ao FPV. Segundo Fowler (1983), este registro deveria ser reconsiderado à luz de conhecimentos mais recentes, uma vez que lesões micro e macroscópicas produzidas pelo CPV e FPV são indistinguíveis; seriam necessários testes sorológicos para um diagnóstico seguro. Todavia, este caso foi notificado bem antes do surgimento do CPV em cães domésticos (Montali et al., 1987).

A análise do International Studbook for the Maned Wolf revelou a susceptibilidade de lobos-guarás a patógenos relacionados à animais domésticos. As principais causas da morte de lobos-guarás em cativeiro no período de 1980-94 foram: incompetência parental (40%), doenças infecciosas (10%) e alterações do sistema digestório (8%). Dentre as doenças infecciosas, as viroses caninas apresentaram a maior incidência (58%), sendo as viroses mais freqüentes cinomose (21,6%) e parvovirose (28,6%) caninas (Maia & Gouveia, 1997). Velloso (1991) realizou estudo no qual coletaram-se registros e informações seguras sobre as causas das mortes de filhotes de lobos-guarás em zôos brasileiros até 1990. Segundo a autora, as principais causas foram: incompetência parental (64,5%), enterites (8%), pneumonia (6,4%), e inanição (4,8%); cinomose canina, hepatite, infestação por pulgas tiveram uma representação de 1,6% cada. Todavia, na estação reprodutiva de 1990, a principal causa das mortes de filhotes ( $n = 8$ ) foi cinomose (53,3%), incluindo três casos não confirmados.

Fletcher et al. (1979) descreveram casos clínicos de dois lobos-guarás do San Antonio Zoological Gardens (Texas, EUA) acometidos pelo CPV, mostrando a susceptibilidade da espécie ao vírus. Os animais apresentaram sinais clínicos semelhantes àqueles observados em cães domésticos. Amostras de soro de dois espécimes adultos locados em recinto adjacente ao ocupado pelos animais doentes foram testadas para CPV, apresentando títulos HI = 512 (2,7 log) e indicando exposição ao vírus. Este título caiu para 64 quando as amostras foram testadas novamente seis meses depois. Também no National Zoological Park (Washington, EUA) duas fêmeas morreram por infecção ao CPV. Na data presumida da exposição ao vírus, um dos espécimes apresentou título HI  $\leq 20$ . Dez dias após a exposição, foi verificado título

HI = 5120 (3,7 log), que perdurou por cinco dias até a morte do animal. Partículas de CPV foram detectadas nas fezes desse animal por microscopia eletrônica. Um terceiro espécime que não apresentava evidências de infecção pelo CPV foi vacinado com três doses sucessivas de VI e apresentou título pós-vacinal HI = 160 (Mann et al., 1980). No Brasil, Angelo et al. (1988) realizaram o primeiro relato de CPV em lobos-guarás. Surto de enterite hemorrágica ocorreu no Zôo de São Paulo, em 1984, acometendo 17 espécimes adultos. Teste de HA com hemácias de suínos mostrou resultado positivo de infecção por CPV em 11 amostras. Isolamento do vírus em cultura de células de rim de gato foi obtido em nove amostras, e a microscopia eletrônica revelou partículas semelhantes ao CPV em três amostras examinadas. Estudos epidemiológicos realizados com o objetivo de esclarecer a origem do surto demonstraram a possibilidade do envolvimento de uma onça-pintada *P. onca* e duas jaguatiricas *Leopardus pardalis*, das quais também se obteve isolamento do vírus após apresentarem quadro clínico e hematológico compatíveis com o da parvovirose canina (Angelo et al., 1988).

Embora a vacinação da espécie contra viroses caninas seja recomendada por alguns autores, pouco se sabe quanto à eficiência e segurança, em lobos-guarás, do uso das vacinas desenvolvidas para cães domésticos. Montali et al. (1983), como mencionado anteriormente, demonstraram que a VVM contra CDV (amostra Onderstepoort, originária de cultura de células de galinha) foi imunogênica e segura para lobos-guarás, que desenvolveram títulos de SN > 100 (2 log). Thomas-Baker (1985) cita um caso de cinomose induzida por VVM, quando três lobos-guarás, com oito semanas de idade, foram vacinados com VVM originária de cultura de células de cão (Appel & Summers, 1981); dois dos espécimes desenvolveram alterações no SNC.

Janssen et al. (1982) observaram que o desenvolvimento de títulos de HI em filhotes de lobos-guarás vacinados contra CPV foi similar ao observado em cães domésticos, cujas mães apresentavam altos títulos de HI no momento da parição. Os anticorpos maternos declinaram até a 14ª semana de idade. Os filhotes foram vacinados a partir da 8ª semana, semanalmente, com VI de origem canina. Títulos protetores foram obtidos entre a 14ª-18ª semana de idade. Backues (1994) relatou o caso de três ninhadas vacinadas contra parvovirose (VVM), com manifestação clínica da doença 7-10 dias após a vacinação. Este fato ocorreu quando o Maned Wolf Species Survival Plan alterou suas recomendações para vacinação em virtude da paralisação da produção da vacina Duramune® PV (Laboratório Fort Dodge) previamente usada com segurança. Duramune® PV foi substituída pela vacina Duramune® KF -11, também VVM, indicada pelo Laboratório como sendo mais efetiva contra algumas novas cepas de parvovírus. A partir desses incidentes, o Plano passou a recomendar o uso de VI contra CPV para filhotes

com idade inferior a seis meses, apesar dos questionamentos sobre a eficácia desse tipo de vacina (comunicação pessoal)<sup>4</sup>.

De acordo com o International Studbook for the Maned Wolf, VVM e/ou VI contra CDV vêm sendo freqüentemente utilizadas na imunização de lobos-guarás cativos (Marten & Peter, 1990). O Maned Wolf Species Survival Plan recomenda o seguinte esquema de vacinação para lobos-guarás (Barbiers, 1995):

a) CDV: filhotes devem ser vacinados com VVM a cada três semanas, a partir da 6<sup>a</sup>-8<sup>a</sup> semana de idade até a 16<sup>a</sup> semana. Revacinar ao seis meses de idade e checar o título sorológico.

Título > 30 é considerado protetor. Revacinar com 12 meses de idade e anualmente.

b) CPV: filhotes devem ser vacinados com VI a cada duas semanas, a partir da 6<sup>a</sup> semana de idade até a 16<sup>a</sup> semana. Checar o título sorológico:

Título > 80 ⇒ revacinar ao seis meses de idade com VVM. Revacinar a cada seis meses.

Título < 80 ⇒ continuar vacinando com VI até os seis meses de idade; checar o título. Revacinar com VVM aos 12 meses de idade e a cada seis meses.

O Maned Wolf Species Survival Plan informou o resultado de algumas sorologias realizadas: no caso do CPV, filhotes vacinados com VI apresentaram títulos variando de 80 (1,9 log) a 1280 (3,1 log); em relação ao CDV, filhotes vacinados com VVM desenvolveram títulos superiores a 30 (1,5 log) (comunicação pessoal)<sup>5</sup>.

Em 1990, durante uma reunião do recém-criado Comitê de Manejo do Lobo-Guará, foi discutida a possibilidade de todos os filhotes de lobos-guarás, nascidos em cativeiro no Brasil, serem imunizados contra algumas doenças comuns aos cães domésticos, mormente contra a cinomose canina, responsável por 53% das mortes dos filhotes na estação reprodutiva de 1990 (Velloso, 1991), como consequência de uma mudança no manejo da espécie, que consistia em remover os filhotes recém-nascidos para criação artificial, evitando-se, assim, a alta mortalidade por incompetência parental. Foi sugerida, então, a realização de um estudo imunológico ao longo do ano de 1991 para elucidar dúvidas e por fim a apreensão geral sobre possíveis efeitos ou reações indesejáveis dos lobos-guarás à vacinação, embora este procedimento já fosse adotado em alguns zôos. Nesta mesma ocasião, foi mencionado que o

<sup>4</sup> Melissa Rodden (Maned Wolf Species Survival Plan Coordinator), Conservation and Research Center, National Zoological Park, Smithsonian Institution, Front Royal, Virginia, USA. mrodden@crc.si.edu

<sup>5</sup> Robyn Barbiers (Maned Wolf Species Survival Plan), Lincoln Park Zoo, Chicago, Illinois, USA. rbarbier@condor.depaul.edu



Comitê havia negociado com o Laboratório Solvay o fornecimento de um certo número de doses de VI, mas não soube precisar quando a avaliação destas vacinas poderia ser realizada. Também foram realizadas aplicações semanais de soro hiperimune em filhotes com até 45 dias de vida primariamente à vacinação (Velloso, 1991). Até então, em todas as situações em que foram utilizadas VVM, VI e soro hiperimune produzidos para cães domésticos, não foram realizados testes sorológicos para verificar o desenvolvimento de resposta imune ou avaliação da imunidade ativa nos lobos-guarás.

Durante alguns anos, o Laboratório Solvay forneceu, gratuitamente, doses de vacina contra CDV a alguns zôos, atendendo, assim, ao acordo firmado com a Comitê de Manejo do Lobo-Guará e a Sociedade de Zoológicos do Brasil. Em contrapartida, os zôos deveriam enviar ao Laboratório amostras de soro dos animais vacinados para que fossem submetidas a sorologia. Todavia, o retorno de amostras para o Laboratório foi inexpressivo, não chegando a 40% dos zôos que requisitaram as vacinas. A maioria dos zôos alegaram dificuldades financeiras para enviar as amostras. Quando consultado, em 1995, sobre o tipo de vacina contra CDV que vinha sendo fornecida ao zôos, o Comitê esclareceu que tratava-se de uma vacina monovalente contra CDV, não dispondo, entretanto, da descrição técnica da mesma (comunicação pessoal)<sup>6</sup>. Posteriormente, o Laboratório Solvay informou que tratava-se de VVM contra CDV, monovalente (originária de cultura de células de galinha), fornecida exclusivamente ao Comitê de Manejo do Lobo-Guará. O Laboratório enviou os resultados das poucas sorologias realizadas — uma vez que não foram enviadas as amostras de soro após as vacinações, conforme o protocolo acertado com o Comitê — e foi possível verificar que vários animais apresentavam TAc contra CDV (comunicação pessoal)<sup>7</sup>.

Apesar das recomendações do International Studbook for the Maned Wolf (Matern, 1990) e do Maned Wolf Species Survival Plan (Barbiers & Bush, 1995) para que os lobos-guarás fossem vacinados com (VVM e/ou VI) contra CDV, CPV, raiva e leptospirose — nas áreas onde essas duas últimas doenças são comuns — e apesar das experiências de alguns zôos brasileiros com VVM, o Comitê de Manejo do Lobo-Guará não recomendava a multi-vacinação, indicando apenas a imunização contra CDV com a vacina fornecida pelo Laboratório Solvay, de acordo com o seguinte esquema: três doses, em intervalos de 30 dias, para adultos e filhotes sem histórico de vacinação; duas doses para filhotes de mães vacinadas; uma dose anual para animais vacinados (reforço anual) (comunicação pessoal)<sup>5</sup>. Em contrapartida, a Sociedade de Zoológicos do Brasil, por ocasião do "I Workshop de Medicina Veterinária Preventiva em

<sup>6</sup> Maria Emília Santiago, Parque Zoológico Municipal de Bauru, Bauru, SP, telefone (014) 2237133

<sup>7</sup> Richard Burt, Laboratório Solvay Saúde Animal Ltda. (atualmente, Laboratório Fort Dodge), Campinas, SP.

Zoológicos”, realizado em 1992, elaborou parte do “Protocolo de Vacinação para Canídeos” recomendando a vacinação contra CDV, CPV e leptospirose:

- a) filhotes de mães vacinadas: vacinar às 8, 12, 16 semanas, e anualmente;
- b) filhotes de mães não vacinadas: vacinar às 6, 8, 12, 16 semanas, e anualmente;
- c) animais com histórico desconhecido: vacinar com duas ou três doses em intervalos de quatro semanas, e anualmente — vacinas empregadas: VVM-células de aves (Laboratório Solvay).



### 3.1 Animais

Para traçar o perfil sorológico, foram coletadas amostras de sangue de 55 (27.28) espécimes de lobos-guarás — 38 (21.17) adultos e 17 (6.11) filhotes — provenientes da natureza e de zôos brasileiros: Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte - FZBH (MG), Parque Natural da Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração - PNCBMM (Araxá, MG), Parque do Sabiá (Uberlândia, MG), Jardim Zoológico de Brasília (DF), Zoológico de Curitiba (PR), Zoológico Municipal de Andradas (MG), e Fundação Rio-Zôo (RJ). Para a avaliação pós-vacinal, foram coletadas amostras de soro sanguíneo de 47 (22.25) espécimes — 34 (18.16) adultos e 13 (4.9) filhotes — mantidos por seis zôos: FZBH (MG), PNCBMM (Araxá, MG), Jardim Zoológico de Brasília (DF), Zoológico de Curitiba (PR), Zoológico Municipal de Andradas (MG) e Fundação Rio-Zôo (RJ). Foram testadas 361 amostras de soro para CDV e 353 para CPV.

As informações sobre o manejo adotado por cada zôo foram cadastradas em fichas padronizadas (Anexo 1), e os dados referentes a cada animal armazenados em fichas individuais (Anexo 2). Os lobos-guarás foram identificados de acordo com sua procedência. As identificações BELO, ARA, UBER, BRAS, CURT, AND, RIO e WILD foram dadas, respectivamente, aos animais mantidos pela FZBH, PNCBMM, Parque do Sabiá, Zôo de Brasília, Zôo de Curitiba, Zôo Municipal de Andradas, Rio-Zôo, e capturados na natureza. Todos os espécimes, com exceção de WILD 00, foram vermifugados com anti-helmíntico de largo espectro, a base de pamoato de pirantel (14,5 mg/Kg) e praziquantel (5 mg/Kg), antes da primeira vacinação.

Quanto a procedência dos lobos-guarás selvagens, todos capturados com idade inferior ou próxima a um ano, sabe-se: WILD11 foi capturada na região de Caeté, MG, encaminhada ao Criadouro Científico Vila Lobos (Betim, MG), e, posteriormente, transferida para a FZBH; WILD01 e WILD02 foram capturados próximos aos municípios de Andradas e Uberlândia, respectivamente, e encaminhados aos zôos destes municípios; os filhotes WILD14 e WILD15 foram capturados no Parque Estadual de Ibitipoca (Lima Duarte, MG), e encaminhados ao PNCBMM; WILD00, capturado na região de Diamantina, MG, foi solto na mesma região, após coleta de sangue, fezes e obtenção de dados morfométricos<sup>8</sup>.

<sup>8</sup> Associação Pró-Carnívoros / CENAP - Centro Nacional para Pesquisa e Conservação de Predadores Naturais / IBAMA).

### **3.2 Contenção dos animais e coleta de amostras**

As amostras de sangue foram coletadas nos próprios recintos localizados nos respectivos zoológicos, mediante a contenção física (cambão, puçá, armadilha) ou contenção química dos animais, a critério do veterinário responsável pela coleta. Em animais com temperamento mais agressivo foi utilizada contenção química a fim de reduzir o estresse de contenção, bem como prover segurança ao colhedor. As drogas de escolha para a contenção química foram xilazina (2 mg/Kg) e quetamina (5 mg/Kg), associadas ou não à sulfato de atropina (0,05 mg/Kg), estando de acordo com as recomendações dos planos de manejo e programas de conservação para o lobo-guará. As amostras de sangue foram obtidas pela punção das veias cefálica ou safena dos animais. Foram utilizados tubos para coleta à vácuo (sem anticoagulante) ou seringas, e agulhas individuais 25x8. As coletas de sangue de filhotes ficaram condicionadas ao sistema de manejo adotado por cada zôo, que na maioria das vezes não permite qualquer tipo de contato humano com a fêmea parida durante as primeiras semanas de vida dos filhotes, exceção ao tratador.

### **3.3 Periodicidade das coletas**

O período de coleta estendeu-se de junho de 1995 a janeiro de 1998. Foi realizada uma primeira coleta geral de todos os animais, a fim de se determinar o perfil sorológico dos mesmos para os vírus CDV e CPV. Coletas subsequentes ocorreram no dia da vacinação e em intervalos variados após a última vacinação (considerando a fase reprodutiva dos animais e sistema de manejo adotado pelo zôo). O número de amostras coletadas de cada espécime variou de três a 20.

### **3.4 Processamento das amostras de sangue e soro**

As amostras de sangue obtidas nas coletas foram mantidas em temperatura ambiente até a coagulação e, em seguida, em geladeira (4-8°C) por seis horas. Posteriormente, algumas amostras foram submetidas à centrifugação por cinco minutos, nos laboratórios dos próprios zôos. Foi recomendado que a quantidade de soro obtida nunca fosse inferior a 1,0 mL. As amostras de soro, então, armazenadas em frascos estéreis devidamente identificados, foram congeladas e transportadas para o Laboratório de Virologia Animal do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, onde foram inativadas em banho-maria a 56°C por 30 min., divididas em duas alíquotas, e armazenadas à -20°C até a realização dos testes sorológicos. As alíquotas de soro utilizadas no teste de inibição da hemaglutinação (HI) foram tratadas com suspensão de

eritrócitos de suíno a 50% em solução tampão salina fosfatada (VAD-AB) pH=6,4 e suspensão de caolim 25% em solução tampão salina borato (BBS) pH=9,0 nas proporções 1:1:1/2, respectivamente, à temperatura ambiente (20°C), por 30 min., para remoção de inibidores inespecíficos da aglutinação. A seguir, as amostras foram centrifugadas a 8000 g por três minutos à temperatura ambiente.

Solução salina fosfatada VAD-AB pH = 6,4 (Clarke & Casals, 1958):

Solução VAD-A pH = 9,0	Solução VAD-B pH = 5,0
8,51g Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (0,3 M)	137,99g NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (0,2 M)
1,75g NaCl (0,15 M)	3,50g NaCl (0,15 M)
200 mL H <sub>2</sub> O dd	400 mL H <sub>2</sub> O dd

32% VAD-A + 68%VAD-B = VAD-AB

### 3.5 Vacinas e vacinação

Para efeito de uniformização, durante o experimento, a maioria dos animais (BELO, ARA, BRAS, RIO) foi vacinada com as vacinas polivalentes Eurican<sup>®</sup> CHPL<sup>9</sup> e Eurican<sup>®</sup> CHPLR<sup>10</sup>. A Fig. 4 apresenta os tipos de vacinas e o número de espécimes de lobos-guarás vacinados antes e depois do início das coletas de sangue para a realização dos teste sorológicos.

Apresentações de vacinas					
	Polivalente	CDV (Solvay)	CPV (Merial)	Polivalente (Eurican <sup>®</sup> )	Polivalente (Duramune <sup>®</sup> )
Instituições	Até 1995			A partir de 1996	
FZBH		10	10	14	
PNCBMM		6		14	
Zôo Brasília		7		7	
Zôo Curitiba	9				9
Rio-Zôo		2		2	
Parque Sabiá	1				
Zôo Andradas				1	

Figura 4 - Número de lobos-guarás vacinados contra CDV e CPV considerando os diferentes esquemas de vacinação adotados pelos zôos, baseados em três diferentes apresentações de VVM.

<sup>9</sup> Eurican<sup>®</sup> CHPL: VVM polivalente contra CDV, CPV, adenovírus e leptospirose (Laboratório Merial)

<sup>10</sup> Eurican<sup>®</sup> CHPLR: VVM polivalente contra CDV, CPV, adenovírus, leptospirose e raiva (Laboratório Merial)

FZBH (espécimes com histórico de vacinação para CDV e CPV): 10 lobos-guarás (BELO 01-10) vinham sendo vacinados contra CDV (vacina monovalente<sup>11</sup>) desde 1993, e contra CPV e leptospirose (Eurican<sup>®</sup> P<sup>12</sup> e Eurican<sup>®</sup> L<sup>13</sup>, respectivamente) desde 1995. A partir de 1996, quando foi realizada a primeira coleta de sangue para avaliação sorológica, os espécimes adultos passaram a ser vacinados (reforço anual) com uma dose de Eurican<sup>®</sup> CHPL e os filhotes nascidos em cativeiro (BELO 11-13) vacinados com três doses, em intervalos de 30 dias, a partir de dois meses de idade.

PNCBMM (espécimes com histórico de vacinação para CDV): seis lobos-guarás (ARA 1-6) vinham sendo vacinados contra CDV (vacina monovalente) desde 1994. Em 1996, quando foi realizada a primeira coleta de sangue para avaliação sorológica, os espécimes adultos e filhotes nascidos em cativeiro foram vacinados com duas doses de Eurican<sup>®</sup> CHPL e CHPLR, em intervalo de 30 dias. Os filhotes (ARA 07,08,10,12,13,16) foram vacinados a partir de 4-6 meses de idade — vacinar os filhotes nessa idade foi opção da veterinária responsável pelo PNCBMM. A partir de 1997, espécimes com histórico de vacinação passaram a receber reforço anual de uma dose de Eurican<sup>®</sup> CHPLR.

Zôo de Brasília e Rio-Zôo (espécimes com histórico de vacinação para CDV): nove lobos-guarás vinham sendo vacinados contra CDV (vacina monovalente) desde 1994. Em 1996, quando foi realizada a primeira coleta de sangue para avaliação sorológica, os espécimes adultos foram vacinados com duas doses de Eurican<sup>®</sup> CHPL e uma dose de CHPLR, em intervalos de 30 dias, exceto o espécime BRAS08 que não foi revacinado. A partir de 1997, espécimes com histórico de vacinação passaram a receber reforço anual de uma dose de Eurican<sup>®</sup> CHPL ou CHPLR, exceto o espécime BRAS08.

Zôo de Curitiba (espécimes com histórico de vacinação para CDV e CPV): nove lobos-guarás (CURT 1-9) vinham sendo vacinados com Masterguard<sup>®14</sup>, Lepto-bac<sup>®15</sup> e Parvovax<sup>®</sup> P<sup>16</sup>, desde 1993. A partir de 1997, passou a ser utilizada a vacina Duramune<sup>®</sup> DA<sub>2</sub>P+PV+LCI<sup>17</sup> na revacinação anual dos espécimes adultos. O esquema de vacinação adotado pelo zôo não foi alterado em função deste estudo.

<sup>11</sup> Vacina monovalente contra CDV fornecida exclusivamente para zôos pelo Laboratório Solvay

<sup>12</sup> Eurican<sup>®</sup> P: VVM monovalente contra CPV (Laboratório Merial)

<sup>13</sup> Eurican<sup>®</sup> L: vacina contra leptospirose (Laboratório Merial)

<sup>14</sup> Masterguard<sup>®</sup>: VVM polivalente contra CDV, adenovírus, parainfluenza (Laboratório Solvay).

<sup>15</sup> Lepto-bac<sup>®</sup>: vacina contra leptospirose (Laboratório Solvay).

<sup>16</sup> Parvovax<sup>®</sup> P: VVM monovalente contra CPV (Laboratório Solvay).

<sup>17</sup> Duramune<sup>®</sup> DA<sub>2</sub>P+PV+LCI: VVM polivalente contra CDV (amostra Rockborn do CDV, originária de células de cão), CPV, adenovírus, parainfluenza e leptospirose (Laboratório Fort Dodge).

O espécime UBER01 do Parque do Sabiá foi vacinado com três doses consecutivas de vacina polivalente, entretanto, o veterinário responsável, quando consultado, não soube precisar as datas de vacinação e a marca do produto utilizado.

O espécime WILD01 foi vacinado com duas doses de vacina polivalente. Os espécimes WILD 14 e 15 também foram vacinados com duas doses de Eurican<sup>®</sup> CHPL e CHPLR, em intervalo de 30 dias. WILD 04 e 11 foram vacinados com três doses de Eurican<sup>®</sup> CHPL, em intervalos de 30 dias. Todos eles passaram a ser revacinados (reforço anual) com Eurican<sup>®</sup> CHPL. Seis espécimes (WILD 00 e 02, ARA 09 e 10, CURT 10 e AND 02) não foram vacinados dentro do período de coleta de amostras para este estudo.

Os 55 lobos-guarás, dos quais obteve-se uma amostra de soro a fim de se verificar o perfil sorológico, foram divididos em dois grupos: "vacinados" e "não vacinados" — espécimes com ou sem histórico de vacinação, respectivamente, quando foi realizada a primeira coleta de sangue (Fig. 5).

Vacinação		Não vacinados			
Cativeiro		Adultos		Filhotes	
Adultos	Filhotes	Cativeiro	Natureza	Cativeiro	Natureza
35	4	1	2	7	6

Figura 5 - Distribuição dos 55 lobos-guarás em dois grupos — "vacinados" e "não vacinados" — considerando histórico de vacinação, idade e procedência dos espécimes.

### 3.5.1 Características das vacinas Eurican<sup>®</sup>

Segundo o informe técnico fornecido pelo Laboratório Merial, o CDV utilizado na vacina é um Paramixovírus, cepa Cornell, modificado e atenuado por passagens em ovos embrionados de aves SPF, posteriormente adaptado à cultura de células da linhagem VERO, com título mínimo de  $10^3$  TCID<sub>50</sub>/dose. A inocuidade da vacina é testada em cobaias e camundongos por via intracerebral, intraperitoneal e subcutânea. O controle específico é realizado em furões (espécie 500 vezes mais sensível que o cão) e filhotes de cães, por via subcutânea ou intracerebral. A ausência de patogenicidade permite a utilização em canídeos selvagens, procionídeos e mustelídeos. Quanto a parvovirose canina, é utilizada a cepa Cornell 780916 do CPV, atenuado por 88 passagens em cultura de células de rim de cão SPF e mais 27 passagens em cultura de células de linhagem CRFK (rim de gato) para assegurar estabilização. Cada dose vacinal contém, no mínimo,  $10^3$  TCID<sub>50</sub>. Ao nível de produção, cada dose contém  $10^{4,5}$  a  $10^{5,5}$

TCID<sub>50</sub> (títulos obtidos em CRFK). Após a vacinação, a cepa vacinal é eliminada nas fezes. Esta excreção não passa de 10<sup>5</sup> TCID<sub>50</sub>/g de fezes, iniciando-se no 3º dia e cessando no 7º dia. Através de contaminação experimental com o vírus selvagem, observa-se que a excreção viral inicia-se no 2º dia e termina no 8º dia, num nível muito mais alto, chegando a 10<sup>10</sup> TCID<sub>50</sub>/g de fezes. A inocuidade não-específica é testada inoculando-se a cepa vacinal por via intracerebral em camundongos recém-nascidos, que permanecem em observação durante 21 dias. A cepa Cornell 780916 é completamente apatogênica. A inocuidade específica é testada em cães de 6-8 semanas de vida, que recebem duas doses de vacina pelas vias subcutânea, intramuscular e endovenosa, permanecendo em observação durante 21 dias sem apresentar hipertermia nem sinais clínicos anormais. As curvas de peso são também normais. Os controles hematológicos não apresentam alterações leucocitárias.

### **3.6 Análise das amostras: sorodiagnóstico**

#### **3.6.1 Detecção de anticorpos específicos contra CDV**

As amostras foram testadas por soroneutralização (SN) em microplacas de 96 poços, com fundo chato. A prova consistiu, basicamente, em efetuar diluições duplas do soro a ser testado, em triplicata, frente ao vírus padrão da cinomose canina (amostra Onderstepoort; cedida pelo Laboratório Lema Biologic do Brasil) em suspensão contendo 100 TCID<sub>50</sub>/25 µL, sendo utilizado como revelador suspensão de células de linhagem contínua VERO (rim de macaco verde africano). Em cada placa de testes foram incluídos quatro tipos de controle: de meio, de células, de vírus (100, 10, 1,  $\frac{1}{10}$ ,  $\frac{1}{100}$  TCID<sub>50</sub>) e de soro positivo (Cinoglobulin®, Laboratório Biovet). As placas foram incubadas em estufa a 37°C com 5% de atmosfera de CO<sub>2</sub>, e examinadas diariamente quanto ao aparecimento de efeito citopático (ECP) característico — presença de sincício e destruição da monocamada — totalizando um período de cinco dias (Souza, 1996). Os títulos neutralizantes foram calculados pelo método de Reed-Muench (1938), em planilhas elaboradas para este fim no programa Microsoft® Excel. Foram considerados positivos títulos SN > 2.

#### **3.6.2 Detecção de anticorpos específicos contra CPV**

As amostras foram analisadas pelo teste de inibição da hemaglutinação (HI) em placas com 96 poços de fundo em "V", utilizando hemácias de suínos — mantidas sob refrigeração por três dias — baseado nas técnicas descritas por Clarke & Casals (1958) e Senda et al. (1986), que consistiu em colocar diluições duplas do soro a ser testado frente ao CPV (suspensão contendo 4 UHA) e suspensão de hemácias a 0,5%, sendo o título expresso como o inverso da maior



diluição em que se observou 100% de inibição da hemaglutinação. Como diluente da suspensão de hemácias, foi utilizado o tampão VAD pH = 6,4 (Clarke & Casals, 1958). Foram mantidos controles de soro positivo (Enteroglobulin<sup>®</sup>, Laboratório Biovet, suspensão de imunoglobulinas purificadas e concentradas, específicas contra CPV e coronavírus canino; título HI obtido igual a 1280/25 $\mu$ L), controles de vírus (4, 2, 1, 1/2 UHA) e controle de hemácias. As microplacas foram incubadas em geladeira, a 4 °C, por 18 horas. Foram realizadas duas leituras: a primeira com 4-5 horas e a segunda com 18 h. Foram considerados positivos títulos HI > 5.

O teste de HI foi realizado duas vezes. Na primeira vez, foi utilizada como antígeno a vacina Vanguard<sup>®</sup> HTLP CPV/CV (Laboratório Pfizer; vacina contendo cepa atenuada do CPV e coronavírus canino inativado, possuindo hidróxido de alumínio como adjuvante; a fração CPV possui título > 10<sup>7</sup> TCID<sub>50</sub>/dose, atenuado por 35 passagens em cultura de células de cão). Na segunda, foi utilizada como antígeno a vacina Primodog<sup>®</sup> (Laboratório Merial; vacina contendo cepa Cornell 780916 do CPV, atenuado por 88 passagens em cultura de células de rim de cão SPF e mais 27 passagens em cultura de células CRFK. O título em CRFK na liberação da vacina é, no mínimo, igual a 10<sup>6</sup> TCID<sub>50</sub>/1mL). A vacina Vanguard<sup>®</sup> HTLP CPV/CV foi titulada por HA, utilizando-se suspensão de hemácias de suínos a 1%. A vacina Primodog<sup>®</sup> foi titulada por HA, utilizando-se suspensão de hemácias a 0,5% e 1,0%, a fim de verificar alterações no título devido a variação na concentração de hemácias (Carmichael et al, 1980). Os resultados obtidos no primeiro teste de HI foram confirmados no segundo. Os títulos apresentados nas tabelas referem-se aos obtidos na repetição do teste.

### 3.7 Análise dos resultados

Foi realizada análise descritiva dos resultados. Os títulos de anticorpos dos lobos-guarás foram analisados tomando como parâmetros títulos protetores determinados para cães domésticos.

Títulos de AN contra CDV maiores ou iguais a 100 conferem aos cães domésticos proteção completa contra o vírus virulento. Títulos inferiores a 30 podem não conferir proteção. Títulos entre 30 e 100 conferem proteção moderada, ou seja, os animais são considerados protegidos desde que não sejam expostos a alta carga de vírus virulento ou apresentem uma queda na resistência (Gillespie et al., 1958; Polvey, 1986). O Maned Wolf Species Survival Plan considera títulos SN > 30 como protetores (Barbiers, 1997). No caso do CPV, títulos de anticorpos maiores ou iguais a 80 são considerados protetores (Smith-Carr et al., 1997).



## 4 Resultados e discussão

### 4.1 Perfil sorológico

A tabela 2 apresenta a distribuição de frequência dos títulos de anticorpos de 55 lobos-guarás em relação ao CDV e CPV considerando os títulos mínimos mensurados pelos testes e títulos protetores para cães domésticos. O resultado da análise das 55 amostras de soro obtidas inicialmente revelou que 95% (36/38) dos espécimes adultos e 35% (6/17) dos filhotes apresentavam títulos de anticorpos neutralizantes (AN) contra CDV mensuráveis pelo teste de SN, ou seja, títulos superiores a 2 (0,3 log). As tabelas 3 e 4 apresentam o perfil sorológico de 38 lobos-guarás adultos — 35 “vacinados” e três “não vacinados” — e 17 filhotes — nascidos em cativeiro e capturados na natureza — considerando os títulos, contra CDV e CPV, da primeira amostra de soro de cada espécime, obtidos pelos testes SN e HI, respectivamente.

Tabela 2 - Distribuição de frequência dos títulos de anticorpos de 55 lobos-guarás em relação ao CDV e CPV, testados por soroneutralização (SN) e inibição da hemaglutinação (HI), respectivamente, considerando os títulos mínimos mensurados pelos testes e títulos protetores para cães domésticos.

	Títulos de anticorpos	Adultos	Filhotes
CDV	SN > 2 (0,3 log)	95% (36/38)	35% (6/17)
	SN ≥ 30 (1,5 log)	68% (26/38)	24% (4/17)
	SN ≥ 100 (2,0 log) título desejável*	50% (19/38)	12% (2/17)
CPV	HI > 5 (0,7 log)	100% (38/38)	100% (17/17)
	HI ≥ 80 (1,9 log) título desejável*	95% (36/38)	47% (08/17)

\*Tomados como parâmetros títulos de anticorpos protetores para cães domésticos.

Dos 13 espécimes com título de SN < 2 (os valores 0,3 log apresentados nas tabelas 5-8 correspondem SN < 2) 12 pertencem ao grupo dos "não vacinados": seis filhotes provenientes da natureza, provavelmente, não tiveram contato com o vírus pois não apresentavam título (wild 00, 01, 02, 11, 14, 15); seis filhotes nascidos em cativeiro (ara 07, 08, 09, 10, 12, 13), embora filhos de mães vacinadas, tiveram soro coletado somente a partir dos três meses de vida — idade suficiente para determinar a ausência de anticorpos de origem materna, considerando a meia-vida destes anticorpos mensurada em cães (9,7 dias) e em coiotes (6,7 dias) (Green, 1984). uber 01, do grupo "vacinados", segundo informações dadas pelo veterinário responsável, teria sido vacinado com três doses de VVM polivalente, entretanto, não apresentou título para CDV.

Considerando o TAc contra CDV verificados na primeira amostra de soro de cada um dos 55 lobos-guarás e as informações registradas nas FICHAS DE IDENTIFICAÇÃO DAS INSTITUIÇÕES MANTENEDORAS DE LOBOS-GUARÁS e FICHAS DE IDENTIFICAÇÃO DE LOBOS-GUARÁS, 100% dos espécimes (n=39) com histórico de vacinação contra CDV apresentavam TAc contra esse vírus (Tab. 3 e 4), sugerindo a eficiência das vacinas utilizadas até então, e demonstrando a capacidade dos lobos-guarás em reconhecer os antígenos vacinais e desenvolver resposta imune. Dentre os 16 espécimes "não vacinados" (adultos: AND 02 e WILD 10, 11; filhotes: ARA 07, 08, 09, 10, 11, 12, 13, WILD 00, 01, 02, 04, 14, 15), três mostravam TAc contra CDV — AND 02, que morreu com suspeita de cinomose canina; ARA 11, que revelou um baixo título, quiçá, de anticorpos maternos; WILD 10, que, apesar da falta de registro em sua FICHA DE IDENTIFICAÇÃO, pode ter sido vacinado, segundo a veterinária responsável.

Já em relação ao CPV, a análise das 55 amostras de soro revelou que 100% dos espécimes apresentavam anticorpos mensuráveis pelo teste de HI, ou seja, acima de 5 (0,7 log) (Tab. 2). Dos 15 espécimes adultos com histórico de vacinação contra CPV dentro do grupo "vacinados", 14 apresentavam TAc superiores a 640 (2,4 log); 23 adultos (inclusive os três "não vacinados") e 13 filhotes "não vacinados", todos sem histórico de vacinação contra CPV, mostravam TAc contra CPV (Tab. 3 e 4). Nos filhotes, os títulos variavam de 10 a 160 (1,0 a 2,2 log), enquanto que nos adultos, exceto AND 02, os TAc foram 160 a 5120 (2,2 a 3,7 log). Algumas questões podem ser suscitadas:

- a) Todos os espécimes capturados na natureza (WILD) podem ter tido contato com o vírus de campo ou com vírus vacinal excretado nas fezes de cães ou gatos domésticos vacinados;
- b) Os filhotes "não vacinados" de cativeiro apresentavam TAc variando de 20 a 160 (1,3 a 2,2 log); dada a idade dos filhotes (4-6 meses) e a meia-vida de anticorpos maternos mensurados em cães domésticos e coiotes — 9,7 e 6,7 dias, respectivamente (Green et al.,

1984; Montali et al., 1987) — os títulos positivos apresentados pelos filhotes sugerem contato com o vírus virulento ou vacinal. Esse filhotes não tiveram contato com cães ou gatos domésticos, pois o PNCBMM é completamente cercado, não sendo permitido o trânsito de invasores (comunicação pessoal)<sup>18</sup>. Os filhotes ARA 12 e 13 podem ter tido contato com o vírus vacinal após o nascimento,

- c) Surto de gastroenterite hemorrágica (GEH) foram registrados no PNCBMM, em 1989, ocasionando a morte de três animais 48 horas após o início dos sinais clínicos; no Zôo de Brasília, em 1993, com a morte de três animais atribuídas à cinomose canina; na FZBH, em 1994, acometendo sete filhotes criados artificialmente, sendo que seis morreram (exceto BELO 06); a histopatologia foi negativa para CDV; nenhum animal adulto manifestou sinais clínicos de GEH. Este surto, ocorrido na FZBH, se causado por um parvovírus, poderia justificar os altos títulos verificados nos espécimes BELO, exceção a BELO 01, 03, 06 e BELO 02, vacinados com uma e duas doses, respectivamente, de vacina monovalente contra CPV.
- d) 21 espécimes adultos — dentre os 23 citados anteriormente — vacinados contra CDV com VVM monovalente (Laboratório Solvay), distribuída pelo Comitê de Manejo do Lobo-Guará à diversos zôos, apresentaram TAc contra CPV variando de 160 a mais de 5120 (2,2 a 3,8 log). Considerando o grande intervalo de tempo entre as datas em que foram registrados os surtos de GEH e coletadas as amostras de sangue dos espécimes, provavelmente, os surtos não foram responsáveis pelos altos títulos de HI verificados.
- e) Cães e gatos vadios são invasores comuns em alguns zôos brasileiros, onde buscam abrigo e sobras de alimento, sendo comum o trânsito destes animais nas adjacências dos recintos dos animais, ou, no caso dos gatos, dentro dos mesmos, podendo ser fonte de infecção para CDV (Montali et al., 1987), CPV (Smith-Carr et al., 1997), FPV e outros agentes. No caso do CPV, sua grande capacidade de sobrevivência no ambiente — sob condições favoráveis — favorece sua circulação, podendo o mesmo ser carregado pelo estafe do zôo ou mesmo por visitantes. Dada a susceptibilidade do lobo-guará ao CPV (Fletcher, et al. 1979; Mann, et al. 1980), era de se esperar que algum dos 23 espécimes destacados apresentasse a doença clínica caso houvesse contato com o vírus virulento carregado, mas isso não foi observado.
- f) E por fim, a capacidade de sobrevivência do CPV no ambiente e sua maior imunogenicidade em relação ao CDV (Appel et al., 1987) podem justificar o porquê de cinco filhotes WILD apresentarem títulos positivos para CPV e negativos para CDV (Tab. 4).

---

<sup>18</sup> Laura Teodoro de Oliveira, responsável técnica pelo PNCBMM, Araxá, MG, telefone 034 6693000

Tabela 3 — Perfil sorológico de 38 lobos-guarás adultos — 35 “vacinados” e três “não vacinados” — considerando os títulos, contra CDV e CPV, da primeira amostra de soro de cada espécime, obtidos pelos testes soroneutralização (SN) e inibição da hemaglutinação (HI), respectivamente.

Animal	Títulos		Animal	Títulos	
	SN	HI		SN	HI
✓ARA 01 <sup>M</sup>	16	2560	✓BRAS 01 <sup>M</sup>	54	5120
✓ARA 02 <sup>M</sup>	22	320	✓BRAS 02 <sup>F</sup>	3	2560
✓ARA 03 <sup>F</sup>	602	1280	✓BRAS 03 <sup>M</sup>	76	640
✓ARA 04 <sup>M</sup>	20	640	✓BRAS 05 <sup>M</sup>	45	640
✓ARA 05 <sup>F</sup>	302	640*	✓BRAS 06 <sup>F</sup>	76	640
✓ARA 06 <sup>F</sup>	151	320	✓BRAS 07 <sup>M</sup>	22	320
✓BELO 01 <sup>M</sup>	257	2560*	✓BRAS 08 <sup>F</sup>	11	640
✓BELO 02 <sup>M</sup>	22	>5120**	• CURT 01 <sup>M</sup>	107	320
✓BELO 03 <sup>M</sup>	107	640*	• CURT 02 <sup>F</sup>	427	320
✓BELO 04 <sup>M</sup>	107	640	• CURT 03 <sup>M</sup>	22	1280
✓BELO 05 <sup>M</sup>	302	640	• CURT 04 <sup>F</sup>	151	320
✓BELO 06 <sup>M</sup>	27	640*	• CURT 05 <sup>F</sup>	257	320
✓BELO 07 <sup>F</sup>	182	>5120	• CURT 06 <sup>F</sup>	257	80
✓BELO 08 <sup>F</sup>	302	320	• CURT 07 <sup>F</sup>	427	640
✓BELO 09 <sup>F</sup>	1445	320	• CURT 08 <sup>M</sup>	22	1280
✓BELO 10 <sup>F</sup>	129	320	• CURT 09 <sup>M</sup>	162	640
✓RIO 01 <sup>M</sup>	363	2560	WILD 10 <sup>M</sup>	52	160
✓RIO 02 <sup>F</sup>	45	1280	WILD 11 <sup>F</sup>	2	20
• UBER 01 <sup>M</sup>	2	2560	AND 02 <sup>M</sup>	45	10

<sup>M</sup> macho <sup>F</sup> fêmea

✓ animal com histórico de vacinação contra CDV com vacina monovalente (Solvay) fornecida pelo Comitê de Manejo.

• animal com histórico de vacinação contra CDV e CPV com vacina mista.

\* título de amostra de soro obtida 30 dias após aplicação de dose única de vacina contra CPV (Merial).

\*\* título de amostra de soro obtida 30 dias após aplicação de duas doses de vacina contra CPV (Merial).

Analisando o perfil sorológico novamente, desta vez tomando por parâmetros os TAc considerados protetores para cães domésticos, o resultado da análise das 55 amostras de soro revelou que 50% (19/38) dos espécimes adultos e 12% dos filhotes (2/17) apresentavam título de AN contra CDV maiores que 100, e 95% (36/38) dos espécimes adultos e 47% dos filhotes (8/17) apresentavam título maior ou igual a 80 contra CPV (Tab. 2). Em relação ao CDV, é desejável título acima de 100, ou seja, título que confere proteção completa contra o vírus

virulento em cães domésticos. Apesar da baixa pressão e incidência do CDV e CPV em zôos, ambos apresentam alta taxa de morbidade como pode ser observado em várias ocasiões (Cabasso et al., 1956; Fletcher et al., 1979; Maia & Gouveia, 1996).

Tabela 4 — Perfil sorológico de 17 lobos-guarás filhotes — nascidos em cativeiro e capturados na natureza — considerando os títulos, contra CDV e CPV, da primeira amostra de soro de cada espécime, obtidos pelos testes de soroneutralização (SN) e inibição da hemaglutinação (HI), respectivamente.

Animal	Títulos de filhotes nascidos em cativeiro		Títulos de filhotes capturados na natureza		
	SN	HI	Animal	SN	HI
ARA 07 <sup>F</sup>	2	20	WILD 00 <sup>M</sup>	2	20
ARA 08 <sup>M</sup>	2	40	WILD 01 <sup>F</sup>	2	40
ARA 09 <sup>F</sup>	2	20	WILD 02 <sup>F</sup>	2	20
ARA 10 <sup>F</sup>	2	20	WILD 04 <sup>F</sup>	32	10
ARA 11 <sup>M</sup>	4	20	WILD 14 <sup>M</sup>	2	20
ARA 12 <sup>F</sup>	2	40	WILD 15 <sup>F</sup>	2	20
ARA 13 <sup>M</sup>	2	40			
ARA 16 <sup>F</sup>	602 <sup>∇</sup>	1280 <sup>∇</sup>			
BELO 12 <sup>F</sup>	13 <sup>∇∇</sup>	20 <sup>∇∇</sup>			
BELO 13 <sup>F</sup>	65 <sup>∇∇</sup>	20 <sup>∇∇</sup>			
BELO 14 <sup>M</sup>	427 <sup>∇∇</sup>	20 <sup>∇∇</sup>			

<sup>M</sup> macho <sup>F</sup> fêmea

<sup>∇</sup> título de amostra de soro obtida 30 dias após aplicação de dose única de vacina mista (Merial).

<sup>∇∇</sup> título de amostra de soro obtida 30 dias após aplicação de três doses de vacina mista (Merial).

O perfil sorológico dos filhotes, quando comparado ao perfil dos adultos, revelou baixos percentuais de espécimes com títulos considerados protetores (Tab. 2), indicando a necessidade da realização da vacinação dos filhotes em idade mais precoce, assim como ocorre em cães domésticos. Esta prática é refutada por alguns zôos que preferem evitar qualquer tipo de contato físico com os filhotes nos primeiros meses de vida temendo sua posterior rejeição pelos pais. Dos 17 filhotes dos quais se obteve amostra de sangue para determinação do perfil sorológico, nove foram posteriormente vacinados entre 4-6 meses de idade e três com 60 dias (Tab. 6 e 8). As principais causas da mortalidade de filhotes de lobos-guarás nascidos em cativeiro nos primeiros 30 dias de vida, no período de 1982-94, foram incompetência paterna (88,3%) e doenças infecciosas (3,7%) (Maia & Gouveia, 1997). Distúrbios ou intervenções provocados pela presença de pessoas nos recintos de lobos-guarás com filhotes estão

associados à incompetência paterna (Velloso, 1991). Todavia, se considerarmos apenas a primeira semana de vida dos filhotes, a incompetência paterna foi responsável por 83,2% (352/423) das mortes. A partir da primeira semana esse percentual diminuiu, aumentando o das doenças infecciosas e pneumonia. Em filhotes entre 31-120 dias de vida, as principais causas de morte foram doenças infecciosas (35,4%), incompetência paterna (21,3%) e alterações no aparelho digestório (13,1%) (Maia & Gouveia, 1997). Considerando a susceptibilidade às doenças infecciosas e a menor probabilidade de rejeição pelos pais a partir dos 30 dias de vida, a primovacinação de filhotes de lobos-guarás com 45-60 dias de vida é justificável. Vale mencionar que, em relação aos cães domésticos, na maioria dos filhotes o TAC contra CDV é reduzido aos 42-56 dias de idade (Souza, 1996).

#### 4.2 Avaliação pós-vacinal

Dos 47 lobos-guarás vacinados durante o experimento, nenhum apresentou qualquer tipo de reação indesejável após a vacinação, sugerindo que a atenuação das cepas vacinais da vacina utilizada foi suficiente para os lobos-guarás, em parte, possivelmente, devido sua proximidade filogenética em relação ao cão doméstico. A segurança da amostra Onderstepoort para lobos-guarás foi claramente evidenciada por nove espécimes (um adulto e oito filhotes) — soronegativos para CDV — vacinados durante o experimento, pois, ao contrário dos espécimes soropositivos que apresentam alguma proteção contra o vírus vacinal, espécimes soronegativos são totalmente susceptíveis. (Backues (1994) relatou o caso de três ninhadas vacinadas com VVM contra CPV, com manifestação clínica da doença 7-10 dias após a vacinação. Não foi possível obter informações sobre as vacinas Duramune® PV e Duramune® KF -11 (Fort Dodge), que pudessem fornecer subsídios para algum comentário sobre os referidos acidentes vacinais. A autora não discute a possibilidade dos filhotes terem se infectado previamente à vacinação. De qualquer forma, 13 filhotes — com idade inferior a seis meses — foram vacinados contra CPV durante este estudo (Tab. 6 e 8), e nenhuma reação indesejável foi observada; outros dois espécimes (WILD 11 e BELO 01) também foram vacinados com menos de seis meses de vida. Thomas-Baker (1985) relata incidente envolvendo dois espécimes devido ao uso de vacina contra CDV originária de cultura de células de cão. Contudo, ao longo deste estudo, 10 lobos-guarás do Zôo de Curitiba — incluindo três filhotes — foram vacinados, por dois anos consecutivos, com a vacina Duramune® (Fort Dodge) que utiliza a amostra Rockborn, sem apresentarem, qualquer indício de reação pós-vacinal indesejável, segundo a instituição. Certamente, o número de espécimes vacinados, nessa situação, é muito pequeno para assegurar a inocuidade da amostra Rockborn para lobos-guarás; aspectos inerentes à produção das vacinas devem, também, ser considerados: número de passagens da amostra em cultura de tecidos (atenuação), título (carga viral), pureza e inocuidade da vacina. A maioria dos

animais (BELO, ARA, BRAS, RIO) foi vacinada com a vacina polivalente Eurican<sup>®</sup> (Tab. 5-8). A escolha destas vacinas deu-se em função de:

- a) Embora seja produzida para cães domésticos, a vacina Eurican<sup>®</sup> é indicada para carnívoros selvagens — segundo seu informe técnico — e este foi um argumento importante no convencimento dos colegas a utilizarem o produto em seus lobos-guarás;
- b) Vacinações empíricas de lobos-guarás com VVM realizadas anteriormente em alguns zôos, e ensaios publicados na literatura, tanto com lobos-guarás quanto com outras espécies de canídeos selvagens (Montali et al., 1983; Harrenstien et al., 1997) já assinalavam a segurança e imunogenicidade de alguns tipos de VVM desenvolvidas para cães domésticos;
- c) VVM monovalentes ou VI contra CDV e CPV não estão, usualmente, disponíveis no comércio, pois parece não haver demanda para o uso de imunógenos com essas características em cães domésticos, e o mercado para animais de zôos, no Brasil ou em outros países, é, segundo os laboratórios fabricantes de vacinas, muito pequeno para ser lucrativo (Appel & Summers, 1995).

As tabelas 5 a 8 apresentam os títulos pós-vacinais de lobos-guarás, imunizados contra CDV e CPV com diferentes marcas de VVM, obtidos por SN e HI, respectivamente. Os resultados da avaliação pós-vacinal demonstraram que dos 47 animais vacinados, dos quais foram obtidas amostras de soro após a vacinação, 34 (72%) foram capazes de desenvolver título de AN contra CDV iguais ou maiores a 100 (2 log), 9 (19%) desenvolveram entre 30 (1,3 log) e 100 (1,5 log) e 4 (9%) apresentaram resposta inferior a 30 (Fig. 6). Quanto ao CPV, dentre os 47 animais vacinados, 45 (96%) foram capazes de desenvolver TAc iguais ou maiores a 80 (1,9 log), e apenas 2 (4%) apresentaram resposta inferior a 80 (Fig. 7).

A interpretação de uma resposta imunológica é mais fidedigna quando pode-se evidenciar que houve soroconversão, ou seja, anticorpos específicos — capazes de ligarem-se a um antígeno-teste em um sistema (ensaio) definido — que estavam ausentes no soro na fase aguda da doença (ou num período anterior a infecção) passam a ser detectáveis no soro obtido no período convalescente. A soroconversão é evidência presuntiva de infecção recente quando caracterizada pelo aumento do TAc em pelo menos quatro vezes, ou quando obtém-se um título acima do título médio de anticorpos — previamente conhecido — de uma população. Entretanto, valores de títulos acima da média são informações consideravelmente menos precisas que aquelas obtidas pela análise pareada de amostras (Sherris, 1990). Logicamente, a soroconversão pode ocorrer devido a exposição natural ou vacinal (com ou sem a manifestação da doença) ao antígeno-teste ou a outro antígeno com propriedades ligantes similares. Antígenos com características imunogênicas semelhantes podem desencadear reações



cruzadas, e têm sido usados para desenvolver reagentes de diagnóstico de largo espectro (ex.: anti-soro usado para o grupo de *Salmonella spp*) e vacinas para uso em neonatos passivamente imunizados. Conseqüentemente, a soroconversão apenas sugere exposição ao antígeno e não é diagnóstico de doença. Técnicas laboratoriais baseadas no uso de antígenos altamente purificados como reagentes de vacinas ou de imunodiagnóstico permitem a diferenciação entre exposição vacinal e natural (Tyler & Cullor, 1980).

Uma vez que a maior parte dos lobos-guarás já apresentava consideráveis TAc no início deste estudo, a soroconversão (Sherris, 1990) só pode ser evidenciada na sorologia pareada dos espécimes adultos BRAS 02 — para CDV — CURT 01, 05, e ARA 06 — para CPV — todos do grupo "vacinados" e WILD 11 (grupo "não vacinados"), que apresentou clara soroconversão frente aos dois vírus. No caso dos filhotes — dos quais eram obtidas amostras de soro com menos freqüência — a soroconversão, tanto para CDV quanto para CPV, ficou evidente em cinco espécimes nascidos em cativeiro — filhotes de mães vacinadas (ARA 07, 08, 10, 12, 13) — e em três filhotes procedentes da natureza (WILD 01, 04, 15). Não houve diferença entre os títulos desses espécimes e daqueles que já apresentavam títulos considerados desejáveis (Fig. 8-13).

O perfil sorológico e a avaliação pós-vacinal verificados na análise das amostras de soro demonstraram que os lobos-guarás foram capazes de responder à vacinação com VVM desenvolvida para cães domésticos (Heerden et al., 1980; Halbrooks et al., 1981; Green et al., 1984; Harrenstien, et al., 1997), e que esta resposta pode ser mensurada por testes sorológicos padronizados para cães domésticos. Considerando o perfil sorológico, os espécimes vacinados com vacina monovalente contra CDV apresentavam títulos variando entre 0,45 e 2,48, enquanto que os espécimes vacinados com vacina polivalente apresentavam títulos contra CDV variando de 0,30 a 2,41. Diferenças nos valores dos títulos sorológicos baseadas em comparações entre o sexo dos espécimes, idade, procedência (cativeiro ou natureza), presença ou ausência de TAc por ocasião da primovacinação ou revacinação, apresentação da vacina utilizada (monovalente ou polivalente) e cepa atenuada do vírus presente na vacina (Rockborn e Cornell do CDV, por exemplo) não foram evidentes.

As figuras 8 a 13 apresentam a resposta pós-vacinal dos lobos-guarás ao longo do tempo e demonstram que, de maneira geral, os espécimes "vacinados" que apresentavam títulos considerados desejáveis os mantiveram estáveis ao longo de um ano. Ainda que estes títulos desejáveis perdurem por mais de 12 meses, como é observado em cães (Appel, 1987), a revacinação anual de lobos-guarás é recomendada, pois reforça o cumprimento do Programa de Medicina Veterinária Preventiva que apregoa a contenção de todo espécime cativo, pelo menos, uma vez por ano para que seja feito exame clínico afim de avaliar suas condições de

saúde. Espécimes que apresentavam títulos abaixo do desejável mostraram soroconversão — no caso da primovacinação de filhotes “não vacinados” — ou mantiveram títulos baixos e estáveis (espécimes revacinados) ao longo das coletas de sangue.

As variáveis observadas no grupo de lobos-guarás avaliados neste estudo (esquema de vacinação e tipo de vacina utilizada por cada zôo, número variável de amostras coletadas de diversos espécimes, idade da primovacinação de filhotes, momento da primeira coleta de sangue e idade dos filhotes na primovacinação) e o número reduzido de espécimes submetidos às mesmas variáveis não permitiram comparações considerando a procedência, idade e sexo. A vacinação pré-cobrição de fêmeas de lobos-guarás é indicada e importante para conferir anticorpos aos filhotes, como foi observado nos coiotes estudados por Green et al. (1984).

Os títulos de AN contra CDV maiores que 100 (2 log) e TAc contra CPV maiores que 80 (1,9 log) observados, corroboram com os achados de Montali et al. (1983) e Janssen et al. (1982), respectivamente, assim como com os títulos obtidos pelo Maned Wolf Species Survival Plan de filhotes vacinados com VI. Os TAc encontrados em lobos-guarás são comparáveis àqueles verificados em outras espécies de canídeos selvagens (Halbrooks et al., 1981; Janssen et al., 1982; Montali et al., 1983; Green et al., 1984) e outros carnívoros (Barker et al. 1983; Williams et al., 1996). Os TAc desejáveis perduraram por 12 meses, e, aparentemente, esses títulos permanecem estáveis por períodos superiores, assim como observado em cães domésticos e em outras espécies selvagens (Appel et al. 1987). Poucos foram os espécimes que apresentaram uma resposta aquém do desejado contra o CDV: BELO 06 e BELO 02, ambos nascido em cativeiro (filhotes de BELO 04 e 08) nas estações reprodutivas de 94 e 95, respectivamente — BELO 06 foi o único filhote sobrevivente do surto de GEH que ocorreu na FZBH em 94; CURT 08 — cuja amostra foi obtida 15 meses após a última vacinação — e CURT 03, nascido em cativeiro (filhote de CURT 08). Sua irmã, CURT 04, apresentou título acima do mínimo desejável; ARA 01 e 04 — espécimes com mais de 10 anos de idade (Tab. 5). Todos apresentaram TAc contra CPV acima do mínimo desejável, possivelmente devido a maior imunogenicidade do CPV em relação ao CDV.

#### **4.3 Vacinas e vacinações**

Três tipos de amostras de CDV vêm sendo utilizados com maior frequência atualmente: Lederle — atenuada em cultura de fibroblastos de embriões de galinhas (FEG) — Onderstepoort — adaptada em membrana corioalantóide de ovos embrionados de galinha — e Rockborn — originária de cultura de células de cão. A amostra Rockborn, considerada mais agressiva, induz 100% de imunidade em cães susceptíveis, entretanto, pode provocar, em

raras ocasiões, uma encefalite pós-vacinal, o que não é observado com a amostra Onderstepoort. Todavia, o percentual de cães imunizados após vacinação com esta amostra é menor (Appel et al., 1981; Harder & Osterhaus, 1997). Este aspecto foi bem demonstrado por Halbrooks et al. (1981): a vacina originária de cultura de células de cão foi fatal para raposas-cinzentas, mas bem tolerada por raposas-vermelhas. Em contrapartida, a vacina originária de cultura de células de galinha foi capaz de induzir imunidade nas duas espécies, não sendo observados efeitos negativos.

A vacinação de animais selvagens envolve riscos que devem ser avaliados em função dos benefícios que serão obtidos, já que as vacinas disponíveis são aquelas elaboradas para animais domésticos. Vários fatores devem ser considerados na avaliação da necessidade de integrar espécies selvagens em programas de vacinação e a maior decisão envolve a questão de se usar uma VVM ou VI. As vacinas VI, embora induzam uma resposta imunológica menos duradoura — e este fato foi observado também em carnívoros selvagens (Montali et al., 1983; Williams et al., 1996) — não apresentam risco de reversão de virulência. Contudo, quando o uso destas é contemplado, deve ser compreendido que os antígenos da vacina foram atenuados tendo em vista uma determinada espécie e que esta atenuação pode ser insuficiente para uma outra. Além disso, as amostras vacinais passam por processos de atenuação distintos, que vão determinar maior ou menor grau de patogenicidade de acordo com a sua capacidade de replicação nas células alvo e, por conseguinte, induzir uma resposta imunológica. Halbrooks et al. (1981) — que classificaram as relações familiares entre raposas-cinzentas, vermelhas e o cão doméstico contrárias às verificadas por Wayne (1993) — também observaram que proximidade filogenética não é condição suficiente para garantir a segurança e eficácia do uso de uma vacina em espécies que apresentam parentesco com aquela para a qual a vacina foi desenvolvida. Todavia, a filogenia pode ser o único referencial para a realização de ensaios dessa natureza. Considerando os estudos de Wayne (1993), canídeos do gênero *Canis* podem ser considerados como referenciais adequados às espécies lobo-guará e cachorro-domato-vinagre — únicas em seus gêneros. Isto pode ser verificado, quando foram comparados os TAc desenvolvidos por essas espécies em relação aos outros canídeos selvagens. Outro aspecto a ser considerado quando o uso de VVM é contemplado em coleções mistas de carnívoros, é a possibilidade do vírus vacinal infectar espécies susceptíveis próximas àquela vacinada (Montali et al., 1987).

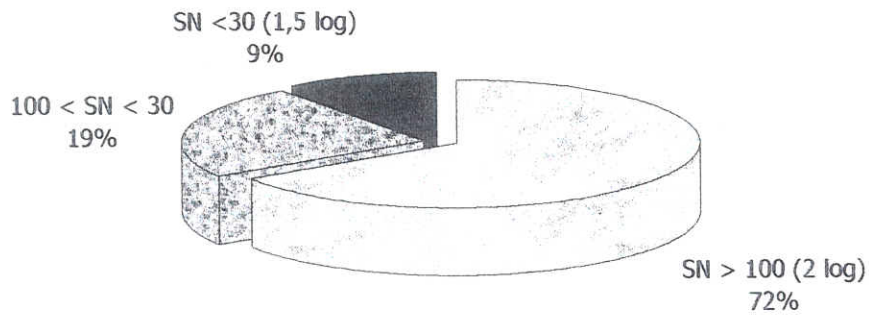


Fig. 6 - Resposta pós-vacinal de 47 lobos-guarás para o CDV, considerando o maior título de anticorpos obtido das múltiplas amostras de cada espécime pelo teste de soroneutralização (SN).

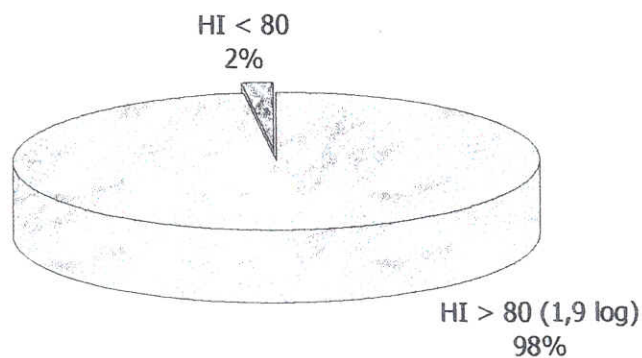


Fig. 7 - Resposta pós-vacinal de 47 lobos-guarás para o CPV, considerando o maior título de anticorpos obtido das múltiplas amostras de cada espécime pelo teste de inibição da hemaglutinação (HI).

A ausência de parâmetros de títulos protetores — determinados frente a desafios — para as diversas espécies de carnívoros selvagens, ao que parece, não é tida como entrave nas práticas de imunização, já que muitos autores extrapolam os parâmetros adotados em cães domésticos para as demais espécies de canídeos e outros carnívoros (Fletcher et al., 1979; Mann et al., 1980; Halbrooks et al., 1981; Janssen et al., 1982; Neuvonem et al., 1982; Montali et al., 1983; Mech & Goyal, 1993; Johnson et al., 1994; Williams et al., 1996; Gese et al., 1997; Harrenstien et al., 1997), ou apoiam-se em ensaios realizados com espécies aparentadas (Halbrooks et al., 1981; Montali et al., 1983; 1987; Harrenstien et al., 1997). Evidentemente, os títulos encontrados neste estudo não indicam se os lobos-guarás estão protegidos contra os vírus virulentos, ou seja, a vacina mostrou-se eficiente para induzir uma resposta imunológica, mas esta resposta não pode ser considerada suficiente para prevenir a doença. O único método satisfatório para determinar a susceptibilidade de uma dada espécie ao vírus ou avaliar o valor protetor de anticorpos é o desafio com amostra virulenta do vírus. Além disso, a determinação de níveis de anticorpos também não avalia a imunidade mediada por células (Heerden et al., 1980). Contudo, na literatura consultada, foi observado que, tratando-se de espécies selvagens, este procedimento não é de praxe, haja vista os poucos estudos encontrados. Barker et al. (1983) inocularam experimentalmente quatro espécies de carnívoros com três tipos de parvovírus e Neuvonen et al. (1982) inocularam três guaxinins e duas raposas do ártico; deve-se ressaltar que, exceção ao guaxinim, todas as outras espécies inoculadas apresentam potencial econômico para as indústrias de pele e alta-costura; Williams et al. (1995) desafiou espécimes de furões híbridos vacinados contra CDV.

Não foi objetivo deste estudo proceder o desafio da imunidade dos lobos-guarás vacinados com amostras virulentas de CDV e CPV. As inúmeras dificuldades encontradas para se obter amostras de soro, e, em alguns casos, para convencer os colegas a aplicarem a VVM demonstraram a inviabilidade de realizar-se o desafio de alguns animais, pois nenhum zôo estaria disposto a ceder espécimes para tal procedimento. A tempo, ainda que a ciência exija, muitas vezes, o completo banimento da passionalidade na realização de seus feitos, não seria confortável expor uma espécie selvagem considerada "vulnerável" do ponto de vista da biologia da conservação a desafio frente a agentes sabidamente capazes de provocar sua morte, quando estudos epidemiológicos e a adoção de medidas preventivas associadas à vacinação, podem, a médio e longo prazo, atestar, indiretamente, a eficiência desta prática. Montali et al. (1983), ao realizarem ensaios com pandas-vermelhos, também manifestaram a impossibilidade de se conduzir ensaios que requisessem o desafio de espécies ameaçadas de extinção; no caso do panda-vermelho, a falta de espécies do mesmo grupo taxonômico, porém sob menor risco, também impediu tais ensaios.

Segundo Fowler (1983) e Montali et al. (1983; 1987), a pressão de infecção a qual o animal está exposto deve ser cuidadosamente avaliada, pois pode determinar o tipo de resposta desejada, ou seja, TAc suficiente para promover proteção em relação à pressão de infecção, e, conseqüentemente, o tipo de vacina a ser utilizada (VVM ou VI). Mas, na ausência de valores de títulos protetores determinados para espécies selvagens, e sendo do senso comum que VI conferem TAc pouco duradouros, resta como alternativa a utilização de VVM — cuja segurança e eficácia tenham sido avaliadas — e a adoção de medidas que minimizem o contato das espécies selvagens com agentes patogênicos, ou seja, reduzam a pressão de infecção. Daí a importância da implementação, com rigor, de um amplo Programa de Medicina Veterinária Preventiva. Apesar da redução da incidência de CDV e CPV devido a crescente vacinação (Montali et al., 1987), o CDV tem ressurgido em populações de cães domésticos com alto grau de vacinação desde o final da década dos 80, culminando em epidemias na França, Alemanha e Escandinávia durante 1991-95 (Harder & Osterhaus, 1997). Cães e gatos vadios não são, geralmente, vacinados contra qualquer virose, tornando-se fonte de infecção para os animais selvagens; gatos vadios, ainda presentes em quantidade em alguns zôos brasileiros, foram susceptíveis à infecção experimental por CDV (Montali et al., 1987), mas evidências de infecção natural, doença clínica ou disseminação do vírus virulento nunca foram observadas (Harder & Osterhaus, 1997). De qualquer forma, o acesso desses animais às instituições mantenedoras de fauna deve ser impedido. Os animais de estimação do estafe da instituição devem receber, também, atenção especial quanto aos aspectos sanitários que envolvem sua criação.

Não há registro de surtos de CDV ou CPV em populações selvagens de lobos-guarás. O hábito solitário da espécie associado a ocupação de territórios extensos, com área de 25-30 km<sup>2</sup> (Fonseca et al., 1994) faz com que a densidade de indivíduos selvagens seja baixa, diminuindo, assim, a possibilidade do acometimento de um grande número de espécimes durante eventual surto. Não obstante, estas características também dificultam a obtenção de dados sanitários dos indivíduos selvagens, sendo infundadas as afirmações que doenças como a parvovirose sejam responsáveis pela morte de muitos indivíduos ao longo da área de ocorrência natural da espécie. Uma vez que a condição sanitária de lobos-guarás selvagens é desconhecida, assim como o impacto causado por doenças virais nas diversas populações — como foi observado por outros autores em relação a outros canídeos — os resultados deste estudo fornecem subsídios para adoção de medidas profiláticas, caso necessário, naquelas populações confinadas em áreas de conservação consideradas sob risco devido às fortes pressões antrópicas, seja pelo aumento das áreas destinadas a agroindústria e pecuária, seja pela expansão incessante das áreas urbanas que podem levar a um aumento no número de interações entre cães e outras espécies domésticas.

#### 4.4 Testes sorológicos

A SN, teste meticoloso por envolver cultura de células, mostrou-se eficaz na titulação das amostras de soro dos lobo-guará, fornecendo resultados claros e precisos. Raras foram as ocasiões em que alguma amostra teve que ser testada novamente. Isso aconteceu, geralmente, com os soros hemolisados ou que continham muita fibrina e outros resíduos. Alguns soros foram tóxicos para as células, entretanto, a leitura das placas não chegou a ser comprometida pela toxicidade, pois ela desaparecia a medida que o soro era diluído. Já o teste de HI, apesar da sua rapidez, praticabilidade e custo reduzido, está sujeito a um maior número de variáveis (pH, qualidade dos sais utilizados na preparação das salinas-tampões, temperatura, idade do porco do qual se obtém as hemácias, variação no título de HA do antígeno quando testado frente a hemácias oriundas de diferentes espécimes de porco), fazendo com que os resultados obtidos em laboratórios diferentes dificilmente sejam idênticos (Appel, 1987).

Neste estudo, as amostras foram testadas duas vezes pelo teste de HI, frente a duas vacinas diferentes (utilizadas como antígeno). A vacina Vanguard<sup>®</sup> HTLP CPV/CV foi titulada por HA, utilizando-se suspensão de hemácias a 1%; o título obtido foi igual a 256/50 $\mu$ L (1 UHA). Já os títulos de HA obtidos para a vacina Primodog<sup>®</sup> foram: 1024/25 $\mu$ L (1 UHA) — para concentração de hemácias a 0,5% — e 512/25 $\mu$ L (1 UHA) — para concentração de hemácias a 1,0%. Os resultados obtidos no segundo teste de HI confirmaram aqueles obtidos no primeiro, indicando que a presença do coronavírus canino inativado e do hidróxido de alumínio na vacina Vanguard<sup>®</sup> HTLP CPV/CV não interferiram na reação de hemaglutinação entre CPV e hemácias. Outras duas diferenças entre as repetições do teste de HI referem-se à concentração da suspensão de hemácias e número de UHA da suspensão de CPV. Na primeira repetição do teste, utilizou-se suspensão de CPV contendo 2 UHA. Esse fato ocorreu porque o título da vacina Vanguard<sup>®</sup> foi expresso sobre volume de 50 $\mu$ L — se a diluição 256 apresentava 1 UHA a diluição 64 apresentava 4 UHA — e no teste de HI foi utilizado volume de 25  $\mu$ L de suspensão de CPV, ou seja, metade do volume e, conseqüentemente, metade de UHA. Todavia, o título HA foi obtido frente a suspensão de hemácias a 1,0%. Segundo Carmichael et al. (1980), um aumento de 0,5% na concentração da suspensão de hemácias determina uma queda no título de HA na razão de dois, ou seja, no caso acima, o título 256/50 $\mu$ L (suspensão de hemácias a 1,0%) seria de 512/50 $\mu$ L se utilizada suspensão de hemácias a 0,5% e, desta forma, a suspensão de vírus teria 4 UHA. A fim de verificar essa diferença no título de HA, a vacina Primodog<sup>®</sup> — utilizada na repetição do teste — foi titulada frente a suspensões de hemácias a 0,5% e 1,0%; os títulos obtidos foram: 1024/25 $\mu$ L — para concentração de hemácias a 0,5% — e 512/25 $\mu$ L — para concentração de hemácias a 1,0%, corroborando, assim, com as

observações feitas pelos autores.

Embora Senda et al (1986) recomendem a leitura do teste de HI após incubação das placas por 18 h, foi realizada leitura também com 4-5 h de incubação, tempo suficiente para obter controles de hemácias satisfatórios. Não foi observada nenhuma diferença nos títulos entre as leituras realizadas com 4-5 h e 18 h. Contudo, a leitura dos poços correspondentes às primeiras diluições dos soros no teste de HI, evidentemente, não mostrou a mesma clareza e precisão da SN. O teste de HI está sujeito a variações devido ao efeito prozona e concentração de proteínas do soro. Foram comuns reações inespecíficas nas primeiras diluições dos soros, levando a uma leitura confusa e dificultosa. Thomas et al. (1984), dentre outros autores, observaram essas mesmas reações inespecíficas nas primeiras diluições de soros de cães e coiotes, Green et al. (1984) comentam sobre a pouca sensibilidade do teste de HI para detectar baixos níveis de anticorpos e sobre a maior especificidade da imunofluorescência indireta para sua detecção; os autores não consideram válidos os títulos de HI abaixo de 80 devido a inibidores não específicos do soro. Mesmo assim, optou-se pelo HI por ele fornecer resultados rápidos, a baixo custo e por ser o teste mais utilizado na avaliação de TAc contra CPV. Além disso, o ECP causado CPV em cultura de células não é muito característico. Contudo, considerando o avanço das técnicas de imunodiagnóstico, deve-se avaliar a substituição do HI por outro teste mais eficiente na detecção de anticorpos contra CPV. Muitos foram os protocolos testados até que se obtivesse resultados coerentes. As hemácias utilizadas como sistema revelador da reação, foram, sem dúvida, o maior entrave para a realização do teste, pois há uma grande variação na forma como hemácias originárias de espécimes de porcos diferentes reagem frente ao antígeno. Para minimizar erros, todas as amostras dos lobos-guarás foram testadas em dois dias consecutivos, sob as mesmas condições.

#### **4.5 Considerações finais**

A imunoprofilaxia das doenças infecciosas, em animais selvagens, vem se intensificando e deixará de ser uma prática polêmica à medida que estudos completos visando a avaliação do uso de imunógenos disponíveis atestarem sua eficácia ou rejeitarem seu uso. A implementação de novas tecnologias em engenharia genética e biologia molecular tem permitido o desenvolvimento de produtos mais seguros e incitado excelentes perspectivas, como é o caso da vacina oral contra a raiva. Neste contexto, as instituições mantenedoras de fauna selvagem — criadas em função das espécies que nelas são abrigadas — podem e devem desempenhar papel fundamental na realização de pesquisas, não medindo esforços na busca de soluções que venham otimizar a conservação e a criação das espécies em cativeiro.



O mercado para animais de zôos pode ser visto como pequeno quando comparado ao mercado para animais domésticos, entretanto, vários segmentos da indústria — fabricantes de rações pelletizadas, por exemplo — vêm oferecendo, ao longo dos anos, mais e mais produtos específicos para animais selvagens, sugerindo a viabilidade econômica de investimentos em produtos para essas espécies. No caso das vacinas, não há registro da susceptibilidade dos carnívoros a alguns dos antígenos presentes nas vacinas polivalentes comercializadas pelos diversos laboratórios. Estudos que demonstrem as conseqüências da associação desses antígenos em uma mesma vacina não estão disponíveis, indicando que o uso de alguns tipos de vacinas polivalentes deve ser evitado. Também deve ser considerada a variação da incidência das diversas doenças, que pode determinar a vacinação diferenciada contra os diversos antígenos — em lobos-guarás, por exemplo, é recomendada a vacinação semestral contra *Leptospira* e vacinação anual contra CDV, CPV e raiva. Em contrapartida, a associação de antígenos aos quais determinados carnívoros apresentam susceptibilidade pode ser desejável naquelas espécies que sofrem maior risco de vida devido tanto ao estresse de abordagem quanto aos procedimentos de contenção (física ou mecânica) as quais precisam ser submetidas para que seja realizada a vacinação.

Em 1990, o Comitê de Manejo do Lobo-Guará sugeriu a realização de um estudo imunológico para pôr fim a apreensão geral sobre possíveis efeitos ou reações indesejáveis dos lobos-guarás à vacinação (Velloso, 1991). Desde então, apesar dos esforços de alguns colegas, muito pouco foi feito nesse sentido, não permitindo ao Comitê a implementação de recomendações sustentadas em estudos científicos completos. Tanto os resultados das poucas sorologias realizadas quanto os procedimentos de imunização praticados por alguns zôos nunca permitiram uma análise concludente quanto a imunização de lobos-guarás.

Sendo assim, em junho de 1995, foram dados os primeiros passos no intuito de viabilizar a realização deste estudo, aqui apresentado. Naquela ocasião, foi solicitado apoio à Sociedade de Zoológicos do Brasil e ao Comitê de Manejo do Lobo-Guará para que intermediassem os contatos com as instituições mantenedoras de lobos-guarás, mas ambos não se manifestaram. Então, 18 instituições foram, direta e insistentemente, convidadas a participar do projeto. Destas, seis responderam à correspondência enviada, mostrando-se, num primeiro momento, dispostas a colaborar com os objetivos propostos. Entretanto, apenas três instituições deram, efetivamente, continuidade às negociações: FZBH, PNCBMM e Jardim Zoológico de Brasília. No Zôo de Brasília, todavia, com a saída da colega responsável pelas negociações, não houve continuidade nas coletas de sangue. Posteriormente, o Zôo de Curitiba e Fundação Rio-Zôo ofereceram-se em participar, vacinando e enviando algumas amostras dos animais do seu plantel; também o Zôo Municipal de Andradadas, MG, ao tomar conhecimento deste estudo,

enviou amostras que haviam sido coletadas de animais mortos na instituição com suspeita de cinomose canina. O Parque do Sabiá, após novos contatos, prontificou-se a colaborar. Ficou claro, logo no início, que tanto a vacinação dos lobos-guarás quanto a obtenção das sucessivas amostras de soro seriam os maiores obstáculos a serem vencido na realização do projeto. A maioria das instituições, mesmo não tendo respondido a primeira correspondência enviada, foi contactada outras tantas vezes ao longo do desenvolvimento do projeto, e, apesar do nosso compromisso em fornecer-lhes as vacinas e o material necessário à realização das coletas, assim como arcar com as despesas de envio das amostras, justificaram não poderem colaborar devido a falta de tempo para a realização das coletas, falta de infra-estrutura para contenção dos animais ou falta de marcação nos animais de seus plantéis. Infelizmente, este projeto não dispunha de recursos financeiros para a realização de viagens freqüentes com a finalidade de coletar as amostras de soro, ficando a realização destas sob a dependência da boa vontade e interesse dos colegas. Deve-se, pois então, ser destacada a colaboração da FZBH e do PNCBMM, que realizaram coletas periódicas de todo seu plantel de lobos-guarás ao longo de mais de dois anos de trabalho, inclusive durante os períodos de estro e gestação. É importante mencionar que não foi observado qualquer prejuízo no sucesso reprodutivo das fêmeas por causa das coletas mensais de sangue.

Após a apresentação dos resultados parciais dessa dissertação durante o "III Workshop do Lobo-Guará", realizado em junho deste 1998, o Comitê de Manejo do Lobo-Guará passou a recomendar, no "Plano de Manejo do Lobo-Guará", a vacinação de lobos-guarás cativos contra CDV, CPV, hepatite, leptospirose e raiva (Pessuti, 1998). A recomendação para vacinação contra leptospirose baseou-se nos registros de óbito no International Studbook for the Maned Wolf, em ensaios realizados no Laboratório de Zoonoses da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais que demonstraram a positividade de alguns espécimes às *Leptospira ssp* e também devido ao grande número de roedores invasores presentes nos zôos. Em relação a raiva, há na literatura registro da ocorrência dessa doença em três espécimes cativos, não vacinados, do Zoológico de Brasília (Silva & Breckenfeld, 1968). Além disso, ainda é grande o número de espécimes de lobo-guará importados da natureza, justificando-se, assim, a vacinação. Os resultados obtidos neste estudo devem, também, suscitar uma revisão nas recomendações do Maned Wolf Species Survival Plan e Sociedade de Zoológicos do Brasil para vacinação de lobos-guarás afim de reduzir o número excessivo de vacinações e, conseqüentemente, contenções desnecessárias.

Foi sugerido ao Comitê de Manejo o seguinte programa de vacinação contra CDV e CPV:

- ✓ Vacinação pré-cobrição de fêmeas: é recomendada para conferir proteção passiva ao filhotes.
- ✓ Filhotes de lobos-guarás — nascidos em cativeiro ou sem histórico de vacinação: a vacinação é recomendada a partir dos 45-60 dias de vida; os espécimes devem ser vacinados com três doses consecutivas de vacina polivalente contra CDV e CPV, em intervalos de 21-30 dias.
- ✓ Lobos-guarás adultos sem histórico de vacinação: é recomendada a vacinação com duas doses consecutivas de vacina polivalente contra CDV e CPV, em intervalos de 21-30 dias.
- ✓ Lobos-guarás adultos com histórico de vacinação: devem ser revacinados anualmente contra CDV e CPV.

As poucas observações de campo do lobo-guará — dificultadas pelo seu caráter tímido e atividades crepusculares — os diferentes sistemas de manejo reprodutivo adotados pelos zôos e a variação de comportamentos apresentados pelos casais reprodutivos fazem da criação em cativeiro do lobo-guará um grande desafio. Trabalhos de observação do comportamento reprodutivo vêm sendo conduzidos no campo e em cativeiro na tentativa de buscar respostas que maximizem o manejo e a sobrevivência dos filhotes. Os programas de reprodução devem ser criteriosos na orientação dos cruzamentos, procurando manter a variabilidade genética da população cativa e evitar o risco de uma superpopulação. E, acima de tudo, é preciso ressaltar a necessidade do desenvolvimento de campanhas de educação visando a preservação do habitat natural desta espécie para que ela, assim como tantas outras espécies do cerrado, não fique fadada à exclusividade do cativeiro e os zôos se transformem em museus vivos da fauna.

#### 4.6 Perspectivas

- ⇒ Avaliar o uso de vacina recombinante contra CDV — desenvolvida para cães domésticos e associada a outros antígenos — em lobos-guarás e em outros carnívoros (canídeos, mustelídeos e procionídeos).
- ⇒ Avaliar a eficiência de vacinas inativadas desenvolvidas para gatos domésticos na profilaxia de doenças a vírus em pequenos felinos neotropicais.

Tabela 5 - Títulos pós-vacinais de lobos-guarás adultos, imunizados contra CDV com diferentes marcas de VVM, obtidos por soroneutralização (SN).

Animal	Títulos das amostras																			
	1995						1996						1997							
	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	
ARA 01 <sup>M</sup>																				
ARA 02 <sup>M</sup>																				
ARA 03 <sup>F</sup>																				
ARA 04 <sup>M</sup>																				
ARA 05 <sup>F</sup>																				
ARA 06 <sup>F</sup>																				
BELO 01 <sup>M</sup>																				
BELO 02 <sup>M</sup>																				
BELO 03 <sup>M</sup>																				
BELO 04 <sup>M</sup>																				
BELO 05 <sup>M</sup>																				
BELO 06 <sup>M</sup>																				
BELO 07 <sup>F</sup>																				
BELO 08 <sup>F</sup>																				
BELO 09 <sup>F</sup>																				
BELO 10 <sup>F</sup>																				
WILD 11 <sup>F</sup>																				
CURT 01 <sup>M</sup>																				
CURT 02 <sup>F</sup>																				
CURT 03 <sup>M</sup>																				
CURT 04 <sup>F</sup>																				
CURT 05 <sup>F</sup>																				
CURT 06 <sup>F</sup>																				
CURT 07 <sup>F</sup>																				
CURT 08 <sup>M</sup>																				
CURT 09 <sup>M</sup>																				
WILD 10 <sup>M</sup>																				
BRAS 01 <sup>M</sup>																				
BRAS 02 <sup>F</sup>																				
BRAS 03 <sup>M</sup>																				
BRAS 05 <sup>M</sup>																				
BRAS 06 <sup>F</sup>																				
BRAS 07 <sup>M</sup>																				
BRAS 08 <sup>F</sup>																				
AMD 02 <sup>M</sup>																				
IBER 01 <sup>M</sup>																				
RIO 01 <sup>M</sup>																				
RIO 02 <sup>F</sup>																				
<sup>1</sup> Macho																				
<sup>1</sup> Fêmea																				

<sup>1</sup> Macho  
<sup>1</sup> Fêmea

<sup>1</sup> Eurican<sup>®</sup> P + Eurican<sup>®</sup> L + CDV (Solvay)  
<sup>2</sup> Eurican<sup>®</sup> P + Eurican<sup>®</sup> L (Rhodia-Merieux)

<sup>3</sup> Eurican<sup>®</sup> CHPL (Rhodia-Merieux)  
<sup>4</sup> Eurican<sup>®</sup> CHPLR (Rhodia-Merieux)

<sup>5</sup> Masterguard<sup>®</sup> Plus + Leotip-Bac<sup>®</sup> (Solvay)  
<sup>6</sup> Duramune<sup>®</sup> DA;PV (Fort Dodge)

<sup>1</sup> Morte do animal

Tabela 6 - Títulos pós-vacinais de lobos-guarás filhotes, imunizados contra CDV com diferentes marcas de VVM, obtidos por soroneutralização (SN).

Animal	Títulos das amostras																									
	1995			1996			1997			1998																
	Ago	Set	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Feb	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	
ARA 07 <sup>F</sup>	☆	☆	0,30 <sup>2</sup>	2,48 <sup>1</sup>	2,03	2,18		2,11				2,33					v <sup>6</sup>	1,88		2,18	2,03	2,03				
ARA 08 <sup>M</sup>	☆	☆	0,30 <sup>2</sup>	2,86 <sup>1</sup>	2,56	2,21		2,57				2,56					v <sup>1</sup>	2,86 <sup>1</sup>		2,48						
ARA 09 <sup>F</sup>						☆	☆							0,30		†										
ARA 10 <sup>F</sup>						☆	☆					0,30		0,30		v <sup>1</sup>	2,86 <sup>1</sup>						2,56			
ARA 11 <sup>M</sup>						☆	☆					0,60				†										
ARA 12 <sup>F</sup>																			☆				0,30 <sup>2</sup>			3,16 <sup>3</sup>
ARA 13 <sup>M</sup>																			☆				0,30 <sup>2</sup>			2,86 <sup>3</sup>
WILD 14 <sup>M</sup>																			☆				0,30 <sup>2</sup>			0,30 <sup>3</sup>
WILD 15 <sup>F</sup>																			☆				0,30 <sup>2</sup>			2,56 <sup>3</sup>
ARA 16 <sup>F</sup>																			☆				v <sup>2</sup>			2,78 <sup>3</sup>
BELO 12 <sup>F</sup>																			☆	v <sup>4</sup>	v <sup>4</sup>	v <sup>4</sup>	1,13			
BELO 13 <sup>F</sup>																			☆	v <sup>4</sup>	v <sup>4</sup>	v <sup>4</sup>	1,81			
BELO 14 <sup>M</sup>																			☆	v <sup>4</sup>	v <sup>4</sup>	v <sup>4</sup>	2,63			
WILD 00 <sup>M</sup>							☆																			0,30
WILD 01 <sup>F</sup>						☆								0,30 <sup>3</sup>	0,30 <sup>3</sup>											
WILD 02 <sup>F</sup>						☆								0,30	†											
WILD 04 <sup>F</sup>	☆							1,51 <sup>3</sup>	1,96 <sup>3</sup>	2,26 <sup>3</sup>																

M: Macho

F: Fêmea

V = Vacinação sem coleta de sangue

1. Eurican® CHPL (Rhodia-Merieux)

2. Eurican® CHPLR (Rhodia-Merieux)

3. Masterguard® Plus + Leopt-Bac® (Solvay)

4. Cinovac® PCV (Fort Dodge)

☆ = Mês do nascimento

† Morte do animal

Tabela 7 - Títulos pós-vacinais de lobos-guarás adultos, imunizados contra CPV com diferentes marcas de VVM, obtidos por inibição da hemaglutinação (HI).

Animal	Títulos das amostras																			
	1995						1996						1997							
	Jun	Jul	Agosto	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	
ARA 01 <sup>M</sup>									3,40 <sup>4</sup>	3,40 <sup>3</sup>	3,40	3,40	3,40	2,50	2,50	2,50				
ARA 02 <sup>M</sup>									2,50 <sup>4</sup>	2,50 <sup>3</sup>	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50				
ARA 03 <sup>F</sup>									3,10 <sup>4</sup>	2,80 <sup>3</sup>	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80				
ARA 04 <sup>M</sup>									2,80 <sup>4</sup>	2,50 <sup>3</sup>	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50				
ARA 05 <sup>F</sup>									v <sup>4</sup>	2,80 <sup>3</sup>	3,40	2,80	2,80	3,40	3,40	3,40				
ARA 06 <sup>F</sup>									2,50 <sup>4</sup>	2,50 <sup>3</sup>	2,20	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50				
BELO 01 <sup>M</sup>	v <sup>1</sup>	3,40 <sup>2</sup>	v <sup>2</sup>				3,70		3,70 <sup>3</sup>	3,70	3,40	3,40	3,40	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70
BELO 02 <sup>M</sup>	v <sup>1</sup>	v <sup>2</sup>			3,70 <sup>2</sup>		3,70		3,70 <sup>3</sup>	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70
BELO 03 <sup>M</sup>	v <sup>1</sup>	2,80 <sup>2</sup>	3,40 <sup>2</sup>			3,40			3,40 <sup>3</sup>	3,40	3,10	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40
BELO 04 <sup>M</sup>		2,80 <sup>1</sup>	v <sup>2</sup>	3,10 <sup>2</sup>			2,80		2,80 <sup>3</sup>	2,80	2,80	2,20	2,80	2,80	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
BELO 05 <sup>M</sup>		2,80 <sup>1</sup>	2,80 <sup>2</sup>	2,80 <sup>2</sup>			2,80		2,80 <sup>3</sup>	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,80	2,80
BELO 06 <sup>M</sup>	v <sup>1</sup>	2,80 <sup>2</sup>	v <sup>1</sup>		v <sup>7</sup>		3,70		3,40 <sup>3</sup>	2,50	2,80	2,80	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50
BELO 07 <sup>F</sup>	3,70 <sup>1</sup>	3,70 <sup>2</sup>	3,70 <sup>2</sup>			3,70			3,70 <sup>3</sup>	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70	3,70
BELO 08 <sup>F</sup>		2,50 <sup>1</sup>	2,50 <sup>2</sup>	2,80 <sup>2</sup>			2,80		2,50 <sup>3</sup>	2,80	2,50	2,50	2,50	2,80	3,10	3,10	2,80	2,80	2,80	2,80
BELO 09 <sup>F</sup>		2,50 <sup>1</sup>	2,50 <sup>2</sup>	2,50 <sup>2</sup>			2,50		2,50 <sup>3</sup>	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20	2,20
BELO 10 <sup>F</sup>		2,50 <sup>1</sup>	2,50 <sup>2</sup>	2,50 <sup>2</sup>			2,80		2,80 <sup>3</sup>	2,80	2,80	3,10	3,10	3,10	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80
WILD 11 <sup>F</sup>	1,30 <sup>3</sup>	3,10 <sup>3</sup>	3,10 <sup>4</sup>	3,10	3,10 <sup>2</sup>		3,10		3,10 <sup>3</sup>	3,10	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40	3,10	3,10
CURT 01 <sup>M</sup>	v <sup>5</sup>								v <sup>5</sup>	v <sup>5</sup>	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50				
CURT 02 <sup>F</sup>	v <sup>5</sup>								v <sup>5</sup>	v <sup>5</sup>	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50				
CURT 03 <sup>M</sup>	v <sup>5</sup>								v <sup>5</sup>	v <sup>5</sup>	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10				
CURT 04 <sup>F</sup>	v <sup>5</sup>								v <sup>5</sup>	v <sup>5</sup>	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50				
CURT 05 <sup>F</sup>	v <sup>5</sup>								v <sup>5</sup>	v <sup>5</sup>	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50				
CURT 06 <sup>F</sup>									v <sup>5</sup>	v <sup>5</sup>	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90	1,90				
CURT 07 <sup>F</sup>									v <sup>5</sup>	v <sup>5</sup>	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80				
CURT 08 <sup>M</sup>									v <sup>5</sup>	v <sup>5</sup>	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10	3,10				
CURT 09 <sup>M</sup>									v <sup>5</sup>	v <sup>5</sup>	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50	2,50				
WILD 10 <sup>M</sup>									v <sup>5</sup>	v <sup>5</sup>	3,70 <sup>3</sup>	3,70 <sup>3</sup>	3,70 <sup>3</sup>	3,70 <sup>3</sup>	3,70 <sup>3</sup>	3,70 <sup>3</sup>				
BRAS 01 <sup>M</sup>	v <sup>7</sup>								v <sup>6</sup>	v <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>				
BRAS 02 <sup>F</sup>	v <sup>7</sup>								v <sup>6</sup>	v <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>				
BRAS 03 <sup>M</sup>	v <sup>7</sup>								v <sup>6</sup>	v <sup>6</sup>	2,80 <sup>6</sup>	2,80 <sup>6</sup>	2,80 <sup>6</sup>	2,80 <sup>6</sup>	2,80 <sup>6</sup>	2,80 <sup>6</sup>				
BRAS 05 <sup>M</sup>	v <sup>7</sup>								v <sup>6</sup>	v <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>				
BRAS 06 <sup>F</sup>	v <sup>7</sup>								v <sup>6</sup>	v <sup>6</sup>	2,80 <sup>6</sup>	2,80 <sup>6</sup>	2,80 <sup>6</sup>	2,80 <sup>6</sup>	2,80 <sup>6</sup>	2,80 <sup>6</sup>				
BRAS 07 <sup>M</sup>	v <sup>7</sup>								v <sup>6</sup>	v <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>	2,50 <sup>6</sup>				
BRAS 08 <sup>F</sup>	v <sup>7</sup>								v <sup>6</sup>	v <sup>6</sup>	2,80 <sup>6</sup>	2,80 <sup>6</sup>	2,80 <sup>6</sup>	2,80 <sup>6</sup>	2,80 <sup>6</sup>	2,80 <sup>6</sup>				
ANI 02 <sup>M</sup>									v <sup>6</sup>	v <sup>6</sup>	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80	2,80				
LIBER 01 <sup>M</sup>	v <sup>5</sup>								v <sup>5</sup>	v <sup>5</sup>	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40				
RIO 01 <sup>M</sup>									v <sup>5</sup>	v <sup>5</sup>	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40				
RIO 02 <sup>F</sup>									v <sup>5</sup>	v <sup>5</sup>	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40	3,40				

v<sup>5</sup> = Vacinação sem coleta de sanguev<sup>7</sup> = CDV monovalente (Solvay)v<sup>1</sup> = Machov<sup>2</sup> = Fêmea1 Eurlcan<sup>®</sup> P + Eurlcan<sup>®</sup> L + CDV (Solvay)2 Eurlcan<sup>®</sup> P + Eurlcan<sup>®</sup> L (Rhodia-Merieux)3 Eurlcan<sup>®</sup> CHPL (Rhodia-Merieux)4 Eurlcan<sup>®</sup> CHPLR (Rhodia-Merieux)5 Masterguard<sup>®</sup> Plus + Leopt-Bac<sup>®</sup> (Solvay)6 Duramune<sup>®</sup> DA<sub>2</sub>PV

† Morite do animal (Fort Dodge)

3,40<sup>3</sup>3,40<sup>3</sup>3,40<sup>3</sup>3,40<sup>3</sup>

3,10

3,10

3,10

3,10

Tabela 8 - Títulos pós-vacinais de lobos-guarás filhotes, imunizados contra CPV com diferentes marcas de VVM, obtidos por inibição da hemaglutinação (HI).

Animal	Títulos das amostras																		
	1995			1996			1997			1998									
	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez	Jan	
ARA 07 <sup>F</sup>	☆	1,90 <sup>2</sup>	3,10 <sup>1</sup>	3,20	3,40		3,10			v <sup>6</sup>	3,10		3,70	3,70	3,10				
ARA 08 <sup>M</sup>	☆	1,60 <sup>2</sup>	3,70 <sup>1</sup>	3,70	3,70		3,10												
ARA 09 <sup>F</sup>							1,30			†									
ARA 10 <sup>F</sup>				1,30			1,30		v <sup>1</sup>	2,80 <sup>1</sup>		3,10				2,80			
ARA 11 <sup>M</sup>				2,20						†									
ARA 12 <sup>F</sup>											☆					1,60 <sup>4</sup>			3,10 <sup>3</sup>
ARA 13 <sup>M</sup>											☆					1,60 <sup>4</sup>			3,10 <sup>1</sup>
WILD 14 <sup>M</sup>											☆					1,90 <sup>2</sup>			3,10 <sup>1</sup>
WILD 15 <sup>F</sup>											☆					1,90 <sup>2</sup>			2,50 <sup>1</sup>
ARA 16 <sup>F</sup>											☆							☆	3,10 <sup>1</sup>
BELO 12 <sup>F</sup>											☆					v <sup>4</sup>	v <sup>4</sup>	v <sup>4</sup>	3,70
BELO 13 <sup>F</sup>											☆					v <sup>4</sup>	v <sup>4</sup>	v <sup>4</sup>	3,70
BELO 14 <sup>M</sup>											☆					v <sup>4</sup>	v <sup>4</sup>	v <sup>4</sup>	3,70
WILD 00 <sup>M</sup>											☆								1,30
WILD 01 <sup>F</sup>					☆								1,60 <sup>3</sup>	1,30 <sup>3</sup>	1,30				
WILD 02 <sup>F</sup>					☆								1,60	†					
WILD 04 <sup>F</sup>	☆												1,00 <sup>3</sup>	2,80 <sup>3</sup>	2,80 <sup>3</sup>				

<sup>M</sup> Macho  
<sup>F</sup> Fêmea

v = Vacinação sem coleta de sangue  
1. Eurican<sup>®</sup> CHPL (Rhodia-Merieux)

2. Eurican<sup>®</sup> CHPLR (Rhodia-Merieux)  
3. Masterguard<sup>®</sup> Plus + Leotp-Bac<sup>®</sup> (Solvay)

4. Cinovac<sup>®</sup> PCv (Fort Dodge)  
☆ = Mês do nascimento  
† Morte do animal

Fig. 8 - Resposta pós-vacinal de lobos-guarás da FZBH para o CDV num período de 30 meses, testados por soroneutralização (SN).  
(os marcadores referem-se às vacinações)

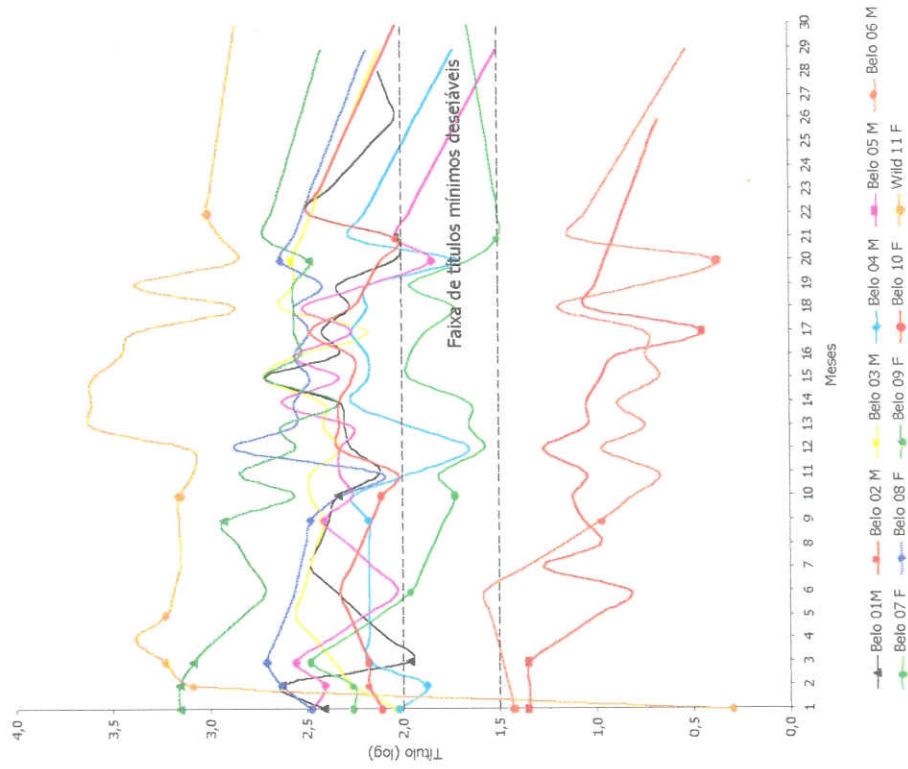


Fig. 9 - Resposta pós-vacinal de lobos-guarás da FZBH para o CPV num período de 30 meses, testados por inibição da hemaglutinação (HI).  
(os marcadores referem-se às vacinações)

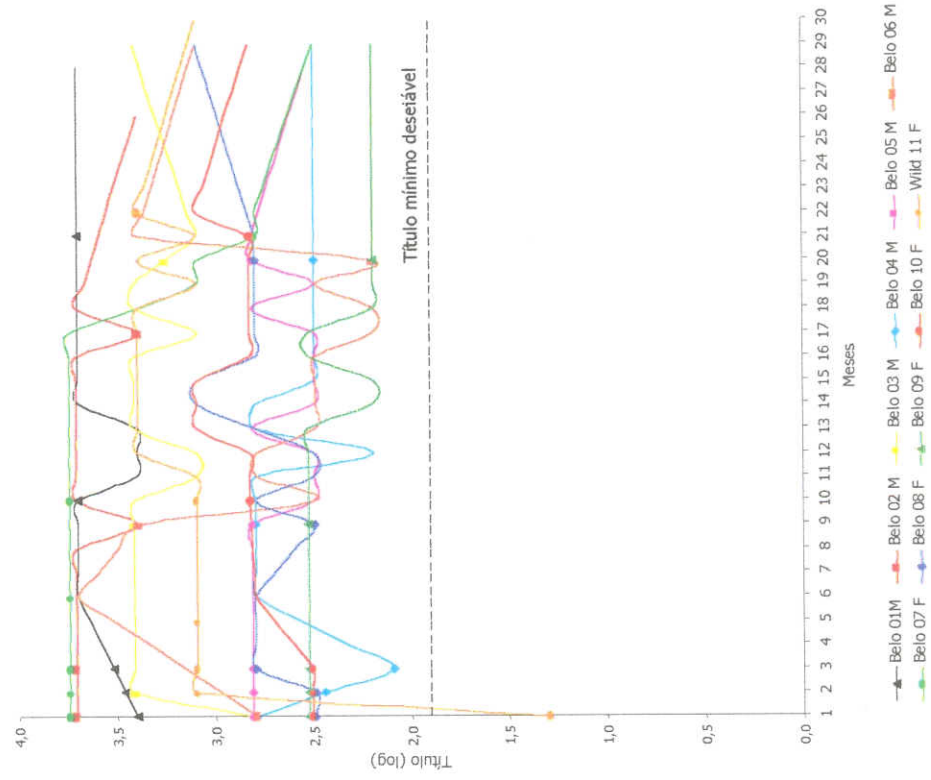




Fig. 10 - Resposta pós-vacinal de lobos-guarás do PNCBMM para o CDV num período de 22 meses, testados por soroneutralização (SN). (os marcadores referem-se às vacinações)

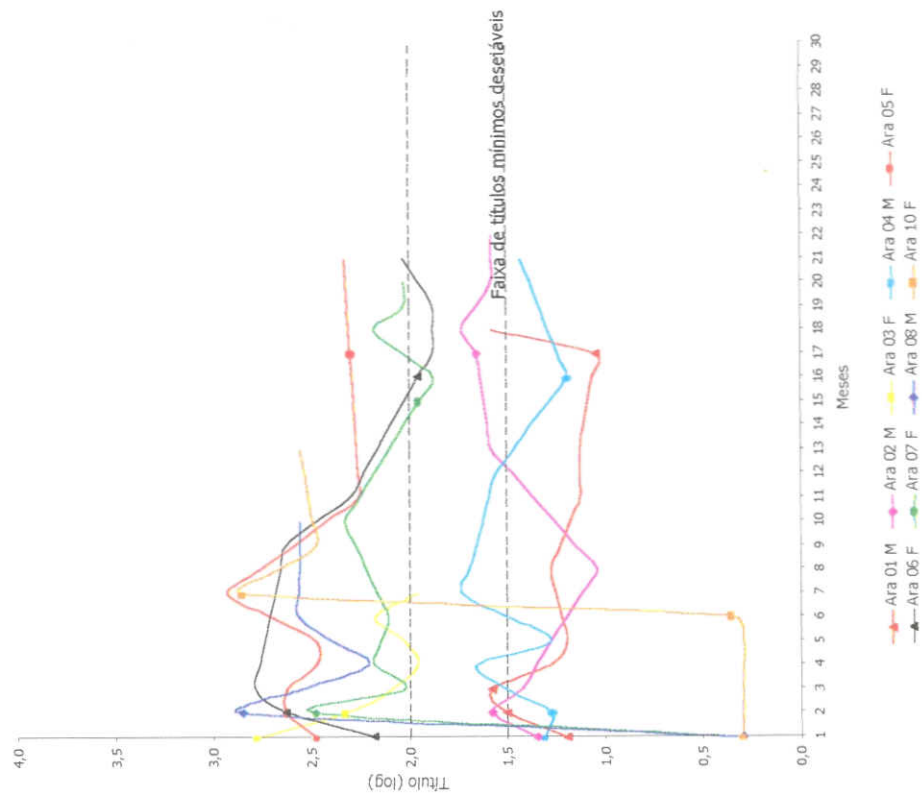


Fig. 11 - Resposta pós-vacinal de lobos-guarás do PNCBMM para o CPV num período de 22 meses, testados por inibição da hemaglutinação (HI). (os marcadores referem-se às vacinações)

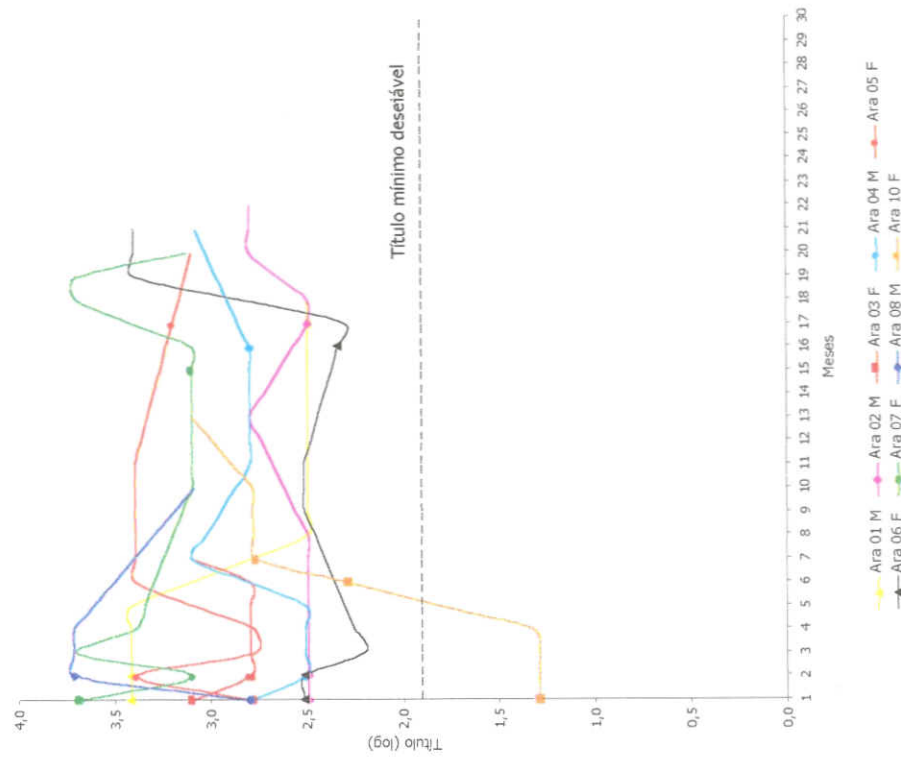


Fig. 12 - Resposta pós-vacinal de lobos-guarás do Zôo de Curitiba e Fundação Rio-Zôo para o CDV num período de 15 meses, testados por soroneutralização (SN).  
(os marcadores referem-se às vacinações)

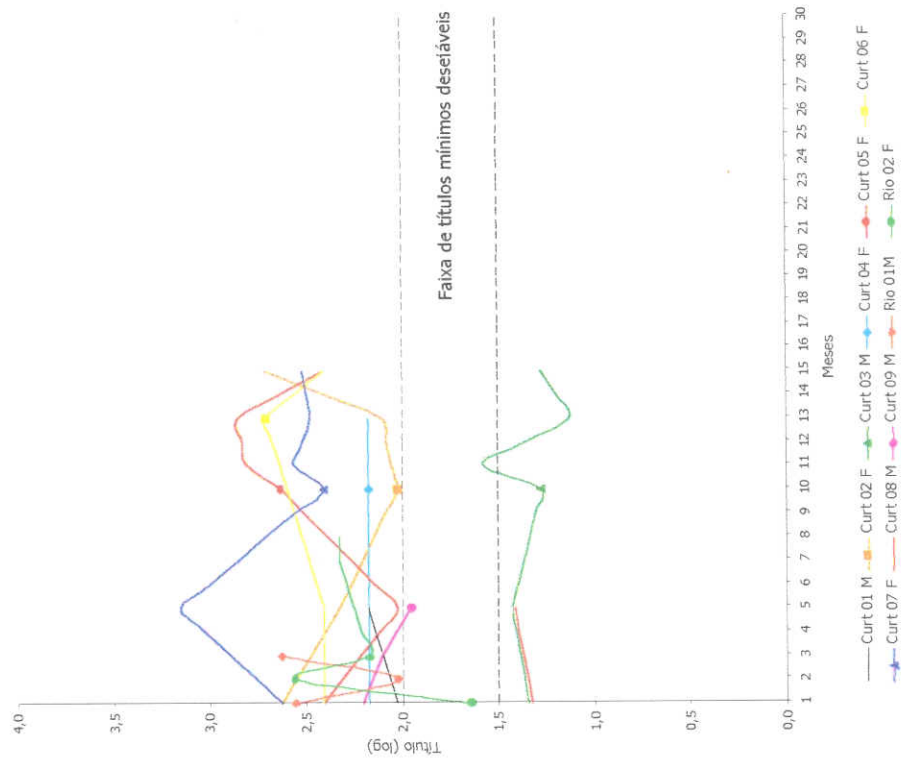
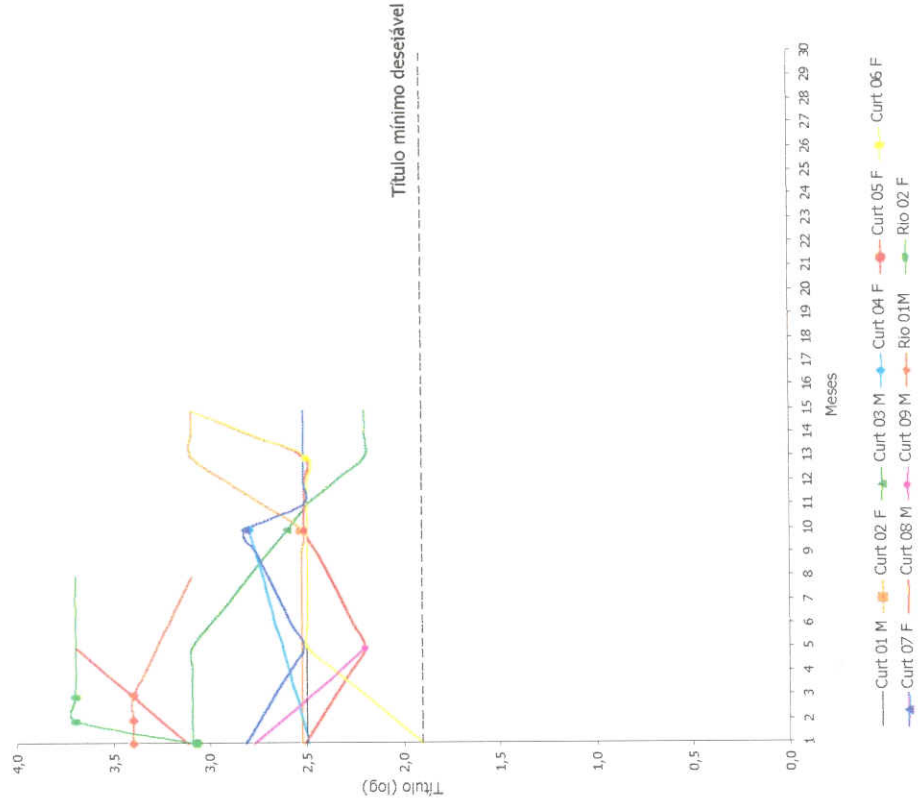







Fig. 13 - Resposta pós-vacinal de lobos-guarás do Zôo de Curitiba e Fundação Rio-Zôo para o CPV num período de 15 meses, testados por inibição da hemaglutinação (HI).  
(os marcadores referem-se às vacinações).





-  O perfil sorológico, obtido a partir da primeira amostra de cada um dos 55 espécimes de lobo-guará, revelou que 95% dos adultos e 35% dos filhotes apresentavam anticorpos contra CDV, sendo que 50% dos adultos e 12% dos filhotes apresentavam títulos considerados protetores para cães domésticos.
-  O perfil sorológico, obtido a partir da primeira amostra de cada um dos 55 espécimes de lobo-guará, revelou que 100% dos adultos e filhotes apresentavam anticorpos contra CPV, sendo que 95% dos adultos e 47% dos filhotes apresentavam títulos considerados protetores para cães domésticos.
-  Lobos-guarás, adultos e filhotes, são capazes de desenvolver anticorpos contra CDV e CPV após a vacinação com VVM desenvolvida para cães domésticos.
-  A VVM utilizada neste estudo — CDV atenuado por passagens sobre ovos embrionados de aves SPF e posteriormente adaptado às células da linhagem VERO — provou ser segura para lobos-guarás, tanto para adultos quanto para filhotes, que não manifestaram sinais clínicos das doenças contra as quais foram vacinados.
-  Métodos de sorodiagnóstico desenvolvidos para cães domésticos podem ser utilizados com eficácia para estudos com lobos-guarás.



#### Serological survey of captive maned wolves

*Chrysocyon brachyurus* (Illiger, 1811) for canine distemper virus (CDV) and canine parvovirus (CPV) and post-vaccination evaluation

The maned wolf is the largest South American canid and one of the most typical species from Brazilian savannah, included in the Official List of the Threatened of Extinction Brazilian Fauna. According to analysis of the International Studbook for the Maned Wolf, CDV and CPV are the most frequent infectious diseases in this species in the 1980-94 period, both being responsible for 10% of death in captivity. The objective of this study was to establish the serological status of maned wolves prior to vaccination and post-vaccination evaluation with modified-live vaccine against CDV and CPV, developed for domestic dogs. Samples of serum of 55 specimens of maned wolves — 38 adults and 17 pups — coming from the seven Brazilian Zoos and of the nature, were used for serological profile verification. For the post-vaccinal evaluation, 361 samples were tested for CDV, and 353 samples for CPV, obtained from 47 specimens of different ages — 36 adults and 13 pups — maintained by six zoos. The adult animals and pups (younger than six months), were vaccinated with two and three doses, respectively, of mixed vaccine produced for domestic dogs (EURICAN<sup>®</sup>, Merial), at intervals of 30 days. Blood samples were collected in the day of the vaccinations and at different intervals along two years. The samples of serum were submitted to the microneutralization and hemagglutination-inhibition tests. Out of the 47 maned wolves vaccinated during the experiment, none presented any type of undesirable reaction after the vaccination. The results about serological survey showed that: a) 68% of the maned wolves had neutralizing antibodies (NA) against CDV higher than 30 prior to vaccination; b) 80% of the specimens had antibodies measurable titers against CPV equal or higher than 80. Post-vaccinal response demonstrated that the maned wolves are capable to develop antibodies against CDV and CPV after the vaccination. The modified-live vaccine used in this experiment proved to be safe and immunogenic to the maned wolves.

Key-words: maned wolf, canine distemper, canine parvovirus, vaccination



## 7 Referências bibliográficas

- ANGELO, M.J.O., DINIZ, L.S.M., TANAKA, H. et al. Canine parvovirus occurrence in captive *Chrysocyon brachyurus* (maned wolf) at São Paulo Zoo. In: **ENCONTRO NACIONAL DE VIROLOGIA**, 4, 1988, São Lourenço. Anais... São Lourenço: Sociedade Brasileira de Virologia, 1988. p.110. Resumo.
- ANGELO, M.J.O., DINIZ, L.S.M., TANAKA, H. et al. Ocorrência de enterite hemorrágica associada à parvovirose canina em felinos e canídeos silvestres do Zôo de São Paulo. In: **ENCONTRO NACIONAL DE MICROBIOLOGIA AMBIENTAL**, 2, 1988, Águas de Lindóis. Anais... 1988. Resumo.
- APPEL, M.J.G. Reversion to virulence of attenuated canine distemper virus *in vivo* and *in vitro*. **J. Gen. Virol.**, v.41, p.385-393, 1978.
- APPEL, M.J.G., PARRISH, C.R. Raccons are not susceptible to canine parvovirus. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.181, n.3, p.489, 1982.
- APPEL, M.J.G. (Ed.) **Virus infection of carnivores**. Amsterdam: Elsevier Science Publisher, 1987, Cap. 13: Canine distemper virus, p.133-159.
- APPEL, M.J.G., SUMMERS, B.A. Pathogenicity of morbilliviruses for terrestrial carnivores. **Veterinary Microbiology**, v.44, p.187-191, 1995.
- BACKJUES, K. A. Problems with maned wolf puppies and parvovirus immunization, **Zoo Vet News**, v.10, n.2, 1994.
- BARBIERS, R., BUSH, M. Medical management of maned wolves. In: FLETCHALL, N.B., RODDEN, M., TAYLOR, S. (Eds.) **Maned wolf husbandry manual**, Smithsonian Institution: Washington, 1995, Cap. 7: Medical management, p. 1-8.
- BARKER, I.K., POVERY, R.C., VOIGT, D.R. Response of mink, skunk, red fox and raccon to inoculation with mink enteritis virus, feline panleukopenia virus, and canine parvovirus, and prevalence of antibody in wild carnivores in Ontario. **Can. Jour. Comp. Med.**, v.47, p.188-197, 1983.
- BROCHIER, B., AUBERT, M.F.A., PASTORET, P.P. et al. Field use of a vaccinia-rabies recombinant vaccine for the control of sylvatic rabies in Europe and North America. **Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.**, v.15, n.3, p.947-970, 1996.
- BUSH, M., MONTALI, R.J., BROWNSTEIN, D. et al. Vaccine-induced canine distemper in a lesser panda. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.169, n.9, p.959-960, 1976.
- CABASSO, V.J., SCHROEDER, C.R., STEBBINS, M.R. Isolation of distemper virus from the South American maned wolf (*Chrysocyon jubatus*). **Veterinary Medicine**, jul, p.330-332, 1956.
- CARMICHAEL, L.E., JOUBERT, J.C., POLLOCK, R.V.H.. Hemagglutination by canine parvovirus: serologic studies and diagnostic applications. **Am. J. Vet. Res.**, v.41, n.5, p.784-791, 1980.
- CARVALHO, C.T., Aspectos faunísticos do cerrado - O lobo-guará *Chrysocyon brachyurus* (Mammalia, Canidae). **Bol. Tec. I. F. S. Paulo**, n.21, jun, p.1-18, 1976.

- CLARKE, D.H., CASALS, J. Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne viruses. **Am. Journal Trop. Med. Hyg.**, v.7, p.561-573,1958.
- CREEL, S., CREEL, N.M., MUNSON, L., et al. Serosurvey for selected viral diseases and demography of african wild dogs in Tanzania. **J. Wildlife Diseases**, v.33, n.4, p.823-832,1997.
- CYPHER, B.L., SCRIVNER, J.H., HAMMER, K.L. et al. Viral antibodies in coyotes from California. **J. Wildlife Diseases**, v.34, n.2, p.259-264,1998.
- EUGSTER, A.K., BENDELE, R.A., JONES, L.P. Parvovirus infection in dogs. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.173, n.10, p.1340-1341, 1978.
- EVERMANN, J.F., FOREYT, W., MAAG-MILLER, L. et al. Acute hemorrhagic enteritis associated with canine coronavirus and parvovirus infections in a captive coyote population. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.177, n.9, p.784-786,1980.
- FLETCHER, K.C., EUGSTER, A.K., SCHMIDT, R.E., et al. Parvovirus infection in maned wolves. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.175, n.9, p.897-900, 1979.
- FONSECA, G.A.B., RYLANDS, A.B., et al. (Ed.) **Livro vermelho dos mamíferos brasileiros ameaçados de extinção**. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 1994.459 p.
- FOWLER, M.E. (Ed.) **Zoo & Wildlife Medicine**. 2 ed. Philadelphia: Saunders Company, 1983, Cap. 48: Carnívora, p.799-807.
- GESE, E.M., SCHULTZ, R.D., JOHNSON, M.R. et al. Serological survey for diseases in free-ranging coyotes *Canis latrans* in Yellowstone National Park, Wyoming. **J. Wildlife Diseases**, v.33, n.1, p.47-56,1997.
- GILLESPIE, J. H., BAKER, J. A., BURGHER, A. L., et al. The imune response of dogs to distemper virus. **Cornel Veterinary**, v.48, p.103-126, 1958.
- GINSBERG, J.R., MACDONALD, D.W. (Eds.) **Foxes, wolves, jackals, and dogs: an action plan for the conservation of canids**. Gland: IUCN/SSC Canid Specialist Group & IUCN/SSC Wolf Specialist Group, 1990. 117 p.
- GREEN, J., BRUSS, M.L., EVERMANN, J.F. et al. Serologic response of captive coyotes *Canis latrans* to canine parvovirus and accompanying profiles of canine coronavirus titers. **J. Wildlife Diseases**, v.20, n.1, p.6-11,1984.
- HALBROOKS, R.D., SWANGO, J., SCHNURENBERGER, P.R. et al. Response of gray foxes to modified live-virus canine distemper vaccines. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.179, n.11, p.1170-1173,1981.
- HARDER, T.C, OSTERHAUS, A.D.M.S. Canine distemper vírus — a morbillivirs in search of new hosts? **Trends in Microbiology**, v.5, n.3, p.120-124,1997.
- HARRENSTIEN, L.A., MUNSON, L., RAMSAY, E.C., et al. Antibory response of red wolves to canine distemper virus and canine parvovirus vaccination. **J. Wildlife Diseases**, v.33, n.3, p.600-605,1997.
- HEERDEN, J.V., SWART, W.H., MELTZER, D.G.A. Serum antibody levels before and after administration of live canine distemper vaccine to the wild dog *Lycaon pictus*. **J. So. African Vet. Med. Assoc.**, v.51, n.4, p.283-284, 1980.
- IUCN SPECIES SURVIVAL COMISSION. **IUCN Red list categories**. Switzerland: IUCN, 1994. 21 p.

- IUDZ - THE WORL ZOO ORGANIZATION. **The world Zoo conservation strategy: the role of the zoos and aquaria of the world in global conservation.** Brookfield: Chigado Zoological Society, 1993. 76 p.
- JANSSEN, D.L., BARTZ, C.R, BUSH, M. et al. Parvovirus enteritis in vaccinated bush dogs. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.181, n.11, p.1225-1227,1982.
- JOHNSON, M.R., BOYD, D.K., PIETCHER, D.H. Serological investigation of canine parvovirus and canine distemper to wolf *Canis lupus* pup mortalities. **J. Wildlife Diseases**, v.30, n.2, p.270-273,1994.
- LINS, L.V., MACHADO, A.B.M., COSTA, C.M.R. et al. **Roteiro metodológico para elaboração de listas de espécies ameaçadas de extinção.** Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 1997. 55 p. (Publicações Avulsas da Fundação Biodiversitas, 1).
- MACHADO, A.B.M., FONSECA, G.A.B., MACHADO, R.B. et al. (Ed.) **Livro vermelho das espécies ameaçadas de extinção da fauna de Minas Gerais.** Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 1998. 605 p.
- MACHIDA, N., KIRU, K., OH-ISHI, K. et al. Pathology and epidemiology of canine distemper in raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*). **J. Comp. Pathol.**, n.108, p.383-392, 1993.
- MAIA, O.B., GOUVEIA, A.M.G. Mortalidade de lobos-guarás *Chrysocyon brachyurus* em cativeiro. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA**, 25, 1997, Gramado. Anais... Porto Alegre: Sociedade de Veterinária do Rio Grande do Sul, 1997. p.233. Resumo.
- MANN, P.C., BUSH, M., APPEL, M. et al. Canine parvovirus infection in south american canids. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.177, n.9, p.779-783, 1980.
- MARTEN, B., PETER, W.P. **Haltung und zucht des mähenwolfes (*Chrysocyon brachyurus*): biologische und veterinärmedizinische aspekte.** Frankfurt am Main: Zoologischer Garten Frankfurt, 1990, 42 p.
- MARTEN, B. **Internationales register und zuchtbuch für den mähenwolf *Chrysocyon brachyurus* (Illiger, 1811).** Frankfurt am Main: Zoologischer Garten Frankfurt, 1997. 42 p.
- MARTINELLO, F., GALUPPO, F., OSTANELLO F., et al. Detection of canine parvovirus in wolves from Italy. **J. Wildlife Diseases**, v.33, n.3, p.628-631,1997.
- MATUKUMA, C.A., RICHTZENHAIN, L.J. Testes sorológicos na clínica de pequenos animais. **Rev. Clínica Veterinária**, n.8, p.20-23,1997.
- MCCORMICK, A.E. Canine distemper in african cape hunting dogs (*Lycaon pictus*) - possibly vaccine induced. **J. Zoo An. Med.**, v.14, p.66-71, 1983.
- MCINNES, E.F., BURROUGHS, R.E.J., DUNCAN, N.M. Possible vaccine-induced canine distemper in a South American bush dog *Speothos venaticus*. **J. Wildlife Diseases**, v.28, n.4, p.614-617,1992.
- MECH, L.D., GOYAL, S.M. Canine parvovirus effect on wolf population change and pup survival. **J. Wildlife Diseases**, v.29, n.2, p.330-333,1993.
- MECH, L.D, GOYAL S.M. Effects of canine parvovirus on gray wolves in Minnesota. **Jour. Wildlife Management**, v.59, n.3, p.565-570, 1995.

- MECH, L.D., KURTZ, H.J., GOYAL, S.M. Death of a wild wolf from canine parvovirus enteritis. **J. Wildlife Diseases**, v.33, n.2, p.321-322, 1997.
- MOLL, P., ALLDINGER, S., BAUMGÄRTNER, W. et al. Distemper in wild carnivores: an epidemiological, histological and immunocytochemical study. **Veterinary Microbiology**, v.44, p.193-199, 1995.
- MONTALI, R.J., BARTZ, C., TEARE, A.J. et al. Clinical trials with canine distemper vaccines in exotic carnivores. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.183, n.11, p.1163-1167, 1983.
- MONTALI, R.J., BARTZ, C., BUSH, M. Canine distemper virus. In: APPEL, M.J. (Ed.), **Virus infection of carnivores**. Amsterdam: Elsevier Science Publisher, 1987, p.437-443.
- MONTALI, R.J., BARTZ, C., BUSH, M. Parvoviruses. In: APPEL, M.J. (Ed.), **Virus infection of carnivores**. Amsterdam: Elsevier Science Publisher, 1987, p.419-428.
- MUNEER, M.A., FARAH, I.O., POMEROY, K.A et al. Detection of parvoviruses in wolf feces by electron microscopy. **J. Wildlife Diseases**, v.24, n.1, p.170-172, 1988.
- NETTLES, V.F., PEARSON, J.E., GUSTAFSON, G.A. et al. Parvovirus infection in translocated raccons. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.177, n.9, p.787-789, 1980.
- NEUVONEM, E.P., VEIJALAINEN, J.E, KANGAS, J. Canine parvovirus infection in housed raccon dogs and foxes in Finland. **Veterinary Record**, v.110, p.448-449, 1982.
- PESSUTTI, C. (Ed.) **Protocolo de Manejo do Lobo-guará**. São Paulo: Sociedade de Zoológicos do Brasil, 1998.
- POVEY, R. C. Distemper vaccination of dogs: factors which could cause vaccine failure. **Canine Vet. Jour.**, v.27, n.9, p.321-323, 1986.
- REED, L.J., MUENCH, H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. **The American Journal of Hygiene**, v.27, n.3, p.493-497, 1938.
- RIKULA, U., SIHVONE, L., VOIPIO, H.M. et al. Serum antibody response to canine distemper virus vaccines in beagle dogs. **Scand. Jour. Lab. Ani. Sci.**, v.23, n.1, p.31-33, 1996.
- ROEBEN, P. Studbooks for the maned wolf, bush dog and spectaled bear, *Chrysocyon brachyurus*, *Speothos venaticus* and, *Tremarctos ornatus*. **Intern. Zoo. Year.**, v.15, p.287-301, 1975.
- ROELKE-PARKER, M.E., MUNSON, L., PACKER, C. et al. A canine distemper virus epidemic in Serengeti lions (*Panthera leo*). **Nature**, v.379, n.1, p.441-445, 1996.
- SENDA, M., HIRAYAMA, N., YAMAMOTO, H. et al. An improved hemagglutination test for study of canine parvovirus. **Veterinary Microbiology**, v.12, p.1-6, 1986.
- SHÉRRIS, J.D. Laboratory diagnosis of infectious diseases. In: —, **Medical microbiology: an introduction to infectious diseases**. New York: Elsevier Science Publisher, 1990, p.266-267.
- SILVA, R.A., BRECKENFELD, S.G.B. Ocorrência de raiva em lobo-guará *Chrysocyon brachyurus* Illiger, 1815). **Pesq. Agropec. Bras.**, n.3, p.369-371, 1968.



- SMITH-CARR, S., MACINTIRE, D.K., SWANGO, L.J. Canine Parvovirus. Part I. Pathogenesis and vaccination. **The Compendium**, v.19, n.2, p.125-133, 1997.
- SOUZA, P.G. **Perfil sorológico de cadelas e respectivas crias: transferência e declínio de anticorpos passivos contra o vírus da cinomose canina**. Belo Horizonte: Escola de Veterinária da UFMG, 1996. 100 p. (Dissertação, Mestrado em Medicina Veterinária).
- SUTHERLAND-SMITH, M.R., RIDEOUT, B.A, MIKOLON, A.B. et al. Vaccine-induced canine distemper in european mink *Mustela lutreola*. **J. Zoo Wildlife Med.**, v.28, n.3, p.312-318,1997.
- THOMAS, N., FOREYT, W., EVERMANN, J.F. et al. Seroprevalence of canine parvovirus in wild coyotes from texas, Utah, and Idaho (1972 to 1983). **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.185, n.11, p.1283-1287,1984.
- THOMAS-BAKER, B. Vaccination-induced distemper in maned wolves. Vaccination-induced corneal opacity in maned wolves. **Proc. Am. Ass. Zoo. Vet.**, p.53, 1985.
- TYLER, J.W., CULLOR, J.S. Titers, tests, and truism: rational interpretation of diagnostic serologic testing. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.194, n.11, p.1550-1558,1989.
- VELLOSO, A.L. **Captive breeding and behaviour of maned wolf *Chrysocyon brachyurus* in brazilian zoos**. Jersey: Jersey Wildlife Preservation Trust, Jan, 1991. 51 p. (Dissertação, Diploma em Endangered Species Management).
- WAYNE, R.K. Molecular evolution of the dog family. **Trends in Genetics**, v.9, n.6, p.218-224,1993.
- WILLIAMS, E.S, ANDERSON, S.L., APPEL, M.S.J. et al. Vaccination of black-footed ferret (*Mustela nigripes*) x siberian polecat (*M. eversmanni*) hybrids and domestic ferrets (*M. putorius furo*) against canine distemper. **J. Wildlife Diseases**, v.32, n.3, p.417-423,1996.
- ZARNKE, R.L., BALLARD, W.B. Serologic survey for selected microbial pathogens of wolves in Alaska, 1975-1982. **J. Wildlife Diseases**, v.23, n.1, p.77-85,1987.



## FICHAS DE IDENTIFICAÇÃO DAS INSTITUIÇÕES MANTENEDORAS DE LOBOS-GUARÁS

NOME DA INSTITUIÇÃO:

ALIMENTAÇÃO:

REVACINAÇÃO ANUAL:      ( ) SIM      ( ) NÃO

VACINAÇÃO PRÉ-COBRIÇÃO:      ( ) SIM      ( ) NÃO

CRITÉRIOS PARA ESCOLHA DO PRODUTO:

CRITÉRIOS USADOS PARA DETERMINAÇÃO DO ESQUEMA DE VACINAÇÃO:

HOUE CASOS DE:      ( ) CINMOSE ( ) GEH ( ) OUTROS

OBS:





Síntese das respostas enviadas pelos zôos participantes, em 1996, nas FICHAS DE IDENTIFICAÇÃO DAS INSTITUIÇÕES MANTENEDORAS DE LOBOS-GUARÁS:

Alimentação:

todas as instituições oferecem dietas semelhantes, compostas por ração canina pelletizada, frutas, legumes, carne (bovina, fígado bovino, frango, pintainhos, ratos).

Revacinação anual: todas as instituições responderam "Sim".

Vacinação pré-cobrição: FZBH e PNCBMM responderam "Sim".

Critérios para a escolha do produto (vacina utilizada na vacinação):

FZBH: "Recomendações do CMLB."

PNCBMM: "Recomendações do CMLB."

Zôo de Brasília: "Recomendações do Grupo de Estudos de Canídeos Sul-americanos."

Zôo de Curitiba: "Dá-se preferência por vacinas com VVM, ou principalmente a vacina com vírus morto, buscando dessa forma que o animal não desenvolva a doença após o primeiro contato com a vacina."

Rio-Zôo: "De acordo com o Protocolo do CMLB."

Critérios usados para determinação do esquema da primeira vacinação:

FZBH: "De acordo com o Protocolo do CMLB."

PNCBMM: "De acordo com o Protocolo do CMLB."

Zôo de Brasília: "Os mesmos recomendados pela Sociedade de Zoológicos do Brasil, e relativos ao manejo do Zôo de Brasília."

Zôo de Curitiba: "Todo animal que pertence ao plantel do zôo é vacinado, em média, nos sete primeiros dias após sua entrada. Animais nascidos no zôo são vacinados (salvo exceções) com 6-8 semanas de vida. Os critérios usados para determinação do esquema de vacinação foram baseados nos critérios usados em cães domésticos."

Rio-Zôo: "De acordo com o Protocolo do CMLB."

Na instituição houve casos de cinomose, GEH, outros:

FZBH: "GEH. Em 1994, sete filhotes apresentaram GEH, sendo que seis morreram. A histopatologia foi negativa para cinomose."

PNCBMM: "GEH. Em outubro de 1989, diarreia sanguinolenta acometeu três animais do Parque, com morte dos três em 48 horas. Não foi coletado material para exames mais apurados."

Zôo de Brasília: "Cinomose. Em 29 de novembro de 1993, existiam quatro animais num recinto com subdivisões. Três animais adoeceram e morreram. Os óbitos ocorreram em 29/11 e 02/12/93. Na ocasião, foram introduzidos nos recintos animais provenientes de Americana, SP, com histórico de vacinação. dois dias após, iniciaram-se os sintomas. Tratamento: Cynoglobulin<sup>®</sup>, Citoneurin<sup>®</sup>, Etopytol<sup>®</sup>, Benzetacil<sup>®</sup>, soro fisiológico."