

IDENTIFICAÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA O PARVOVÍRUS CANINO EM FILHOTES, ANTES E APÓS A PRIMEIRA DOSE VACINAL

MORAES, V.E.^{1*}; PINTO, A.P.¹; COIMBRA, H.S.²;
MÜLLER, E.N.³, CAMPELLO, A.³, NOBRE, M.O.⁴,
SCHUCH, L.F.D.⁵

RESUMO

A parvovirose é a doença infecciosa mais freqüente em cães jovens, e que caracteriza-se por causar uma enterite aguda e altamente contagiosa. O agente etiológico é o Parvovírus canino tipo dois (CPV-2). O presente trabalho teve como objetivo avaliar a titulação de anticorpos específicos anti-CPV presente no soro de filhotes da mesma ninhada, antes e após a primeira dose vacinal, o método usado para detecção de anticorpos foi a Inibição da hemaglutinação (IHA). Foram coletadas amostras de sangue com intervalos semanais, a partir de 30 dias de idade, de seis filhotes da mesma ninhada, totalizando sete amostras de cada cão. Com 50 dias de vida os cães foram vacinados, sendo divididos em dois grupos que receberam vacinas de diferentes laboratórios. Em todas as amostras de soro havia a presença de anticorpos específicos, e após a vacinação os filhotes não evidenciaram resposta a imunização ativa, concluindo-se que os animais possuíam alta influência de anticorpos maternos, indicando que, nesse caso, a vacinação deveria ser feita em uma idade posterior. Portanto o ideal é que a prática de vacinação contra o parvovírus canino em cães jovens ocorra após a titulação de anticorpos, identificando o momento da janela imunológica para que a vacina possa induzir adequada imunidade.

Palavras-chave: anticorpos, gastroenterite, Inibição da hemaglutinação, Parvovírus canino, vacinas.

INTRODUÇÃO

O Parvovírus canino do tipo 2 (CPV-2) causa uma enterite aguda e altamente contagiosa dos cães, este vírus possui afinidade pelas células em divisão rápida do intestino, da medula óssea e dos tecidos linfóides. Clinicamente, a enfermidade manifesta-se por febre, vômitos, diarreia, freqüentemente hemorrágica com rápida desidratação, mas a infecção pode ocorrer de forma subclínica, resultando em soroconversão sem sinais clínicos (Sherding, 1998). Os sinais clínicos da infecção são típicos e o diagnóstico clínico da infecção é apoiado por exames sanguíneos nos quais predomina intensa leucopenia (Strottmann, et al., 2008). O antígeno é um DNA-vírus de fita única, sendo extremamente resistente no ambiente (Candlish, 2000). A infecção com CPV ocorre por via fecal-oral (Sherding, 1998).

¹Acadêmica de Medicina Veterinária da UFPel

²Doutoranda do PPG em Veterinária/UFPel

³Mestrando em Veterinária/UFPel

⁴Professora Adjunta DCV/FV/UFPel

⁵Professor Adjunto DMVP/FV/UFPel

Faculdade de veterinária – UFPel - Caixa postal 356 - 96010-900 - Pelotas, RS

A gravidade da doença depende da magnitude e da duração da viremia e, também, do índice mitótico criptal das células do epitélio intestinal, às quais infecta (Candlish, 2000).

A enterite parvoviral é mais comum em cães com idade entre seis a doze semanas, pois já diminuíram os títulos dos anticorpos maternos originados, mas ainda não desenvolveram uma imunidade ativa (Candlish, 2000). Caso ocorra em uma fêmea em gestação, manifesta-se na forma de abortos, ou em seus filhotes, que, devido à baixa quantidade de anticorpos anti-CPV da mãe, não recebem quantidades suficientes de anticorpos maternos via colostro e leite e se tornam, conseqüentemente, suscetíveis à infecção antes de se iniciar um programa de vacinação (Strottmann, et al., 2008). A vacinação constitui o único meio realista e efetivo de prevenção e controle da infecção com Parvovírus canino (Sherding, 1998).

Como meio de diagnóstico de parvovirose e controle dos títulos de anticorpos maternos pode-se utilizar a técnica de Inibição da hemaglutinação (IHA) (Candlish, 2000). A IHA detecta a presença de anticorpos, presentes no soro, que tenham especificidade contra vírus com capacidade hemaglutinante (Caron, 2001).

Assim, o trabalho teve como objetivo acompanhar a evolução da titulação de anticorpos contra o CPV, em soros de filhotes, antes e depois da vacinação de rotina, através da utilização da técnica de Inibição da hemaglutinação.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados seis filhotes da mesma ninhada que se encontravam no canil do Hospital de Clínicas Veterinárias (UFPel), 4 fêmeas e 2 machos, com idade ao início das coletas de 30 dias. Os animais foram identificados de 1-6. Eles apresentavam-se em bom estado geral e na avaliação clínica dentro dos parâmetros fisiológicos e foram desvermifugados. Foram coletadas sete amostras de sangue de cada animal, com intervalo de sete dias entre cada coleta. Os cães foram vacinados aos 50 dias de vida, sendo divididos em dois grupos: o primeiro grupo com cães vacinados com vacina comercial "A" e o segundo grupo com vacina "B".

As amostras sanguíneas foram coletadas da veia cefálica com seringas descartáveis e identificadas conforme o animal e a data de coleta, armazenadas em tubos "Eppendorff" e centrifugadas logo após a formação do coagulo (3000 x g, 10 minutos) para a separação do soro, o qual foi congelado para a realização do teste de IHA após a última coleta.

O teste para detectar anticorpos anti-CPV utilizado foi a Inibição da hemaglutinação (IHA). Para tanto, o soro foi inativado em banho maria a 56°C, durante 30 minutos, uma diluição prévia de 1:10 foi realizada e partir dela, foram realizadas diluições seriadas em base dois, todas utilizando tampão fosfato (PBS, pH 6,3). O antígeno utilizado foi uma amostra de Parvovírus canino obtida em cultivo celular, com título de 64 UHA, diluída 16 vezes em PBS (pH 6,3), para conter uma concentração final de 4 UHA. Hemáceas de suínos jovens foram coletadas em anticoagulante, lavadas três vezes (PBS, pH 7,0) e diluídas à 0,5% em PBS (pH 6,3).

¹Acadêmica de Medicina Veterinária da UFPel

²Doutoranda do PPG em Veterinária/UFPel

³Mestrando em Veterinária/UFPel

⁴Professora Adjunta DCV/FV/UFPel

⁵Professor Adjunto DMVP/FV/UFPel

O teste foi executado em placas de acrílico, onde foi adicionado volumes iguais (0,3 mL) das várias diluições do soro e de antígeno, incubado a 37⁰C, por 30 minutos quando, então, foi acrescentado o 0,3 mL da preparação de hemáceas, sendo incubadas “overnight” em geladeira (4-6⁰C). O título de IHA foi a recíproca da maior diluição do soro que inibiu completamente a hemaglutinação. Controle da sedimentação das hemáceas e a retrotitulação do vírus foi realizado em paralelo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A presença de anticorpos específicos foi evidenciada nos animais desde a primeira coleta e não houve aumento considerável destes anticorpos após a vacinação (Tabela 1). Sherding (1998), afirma que nas primeiras semanas de vida, os anticorpos maternos protegem os cães de infecção, mas, ao mesmo tempo, também interferem na imunização ativa, o que pôde ser observado no presente trabalho. No caso dos animais que apresentaram uma titulação elevada de anticorpos, podem ser resultantes de uma provável exposição ao antígeno. Estudos comprovam que títulos altos de anticorpos específicos anti-CPV são característicos de exposição natural ao agente (Dezengrini, et al., 2007).

Os títulos de anticorpos permaneceram durante todo período de acompanhamento, com exceção nos cães 2, 4 e 5, respectivamente aos 57, 44 e 57 dias. Foram também observados picos de aumento da titulação de anticorpos, antes da vacinação, nos cães 1, 5 e 6 aos 37 dias de idade e no cão 4 aos 50 dias (Tabela 1), possivelmente por exposição a vírus de campo, estimulando uma resposta imunológica, mas sem apresentarem sinais clínicos compatíveis com parvovirose. A resposta a imunização ativa não foi observada em nenhum dos filhotes, sendo que o título de anticorpos após vacinação não ultrapassou a 640 UIHA (Tabela 1).

Os resultados do presente trabalho evidenciam a necessidade que a vacinação contra o CPV em cães jovens ocorra após a titulação de anticorpos, identificando o momento da janela imunológica para que a vacina possa induzir adequada imunidade. Este estudo também demonstra a necessidade de esquemas vacinais que preconizam a utilização da revacinação a cada duas ou três semanas até o cão completar 12 semanas de idade, quando não for avaliada, por testes específicos, a janela imunológica. Para Candlish (1982) os programas de vacinação podem ser iniciados com cinco a seis semanas de idade, mas a interferência dos anticorpos maternos originados é bastante provável nessa idade, e exigem-se doses vacinais adicionais para assegurar uma resposta.

¹Acadêmica de Medicina Veterinária da UFPel

²Doutoranda do PPG em Veterinária/UFPel

³Mestrando em Veterinária/UFPel

⁴Professora Adjunta DCV/FV/UFPel

⁵Professor Adjunto DMVP/FV/UFPel

Faculdade de veterinária – UFPel - Caixa postal 356 - 96010-900 - Pelotas, RS

Tabela 1 – Título de anticorpos específicos contra CPV em cães a partir de 30 dias de idade, vacinados aos 50 dias com duas diferentes vacinas comerciais, utilizando a técnica de Inibição da hemaglutinação (IHA).

CÃES	PERÍODOS DE COLETA (IDADE DOS CÃES) UIHA							
	30 dias	37 dias	44 dias	50 dias	V A C I N A Ç ~ A O	57 dias	64 dias	71 dias
1*	640	2560	640	640			640	640
2**	640	640	640	640	-		160	640
3*	640	160	640	640	160		640	640
4**	640	160	-	2560	640		640	160
5*	2560	2560	2560	640	-		640	160
6**	2560	10240	640	640	160		640	160

*vacinados com: vacina "A"; ** vacinados com a vacina "B"

Dos filhotes analisados não houve prevalência de anticorpos em machos ou fêmeas, embora alguns autores consideram o sexo como um fator de risco devido ao comportamento diferente de machos e fêmeas (Headley, 2000).

A determinação dos níveis de anticorpos é uma medida amplamente utilizada como indicador de imunidade ao CPV, ao fornecer informações a respeito da necessidade de vacinação ou revacinação de animais suscetíveis. De acordo com Sherding (1998) quase todas as falhas vacinais aparentes resulta provavelmente de uma exposição à infecção durante o período em que os filhotes ficam refratários a vacinação, mas permanecem suscetíveis a infecção se forem expostos.

CONCLUSÃO

Considerando os altos títulos de anticorpos contra o CPV presente no soro dos filhotes, conclui-se que eram oriundos da imunidade colostrálica. A vacinação aos 50 dias não foi efetiva na produção de anticorpos.

REFERÊNCIAS

- 1 BIRCHARD, S.J.& SHERDING, R.G. Vírus intestinais, Manual Saunders Clínica de Pequenos Animais. 1998.
- 2 DEZENGRINI, R. et al. Soroprevalência das infecções por parvovírus, adenovírus, coronavírus canino e pelo vírus da cinomose em cães de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil, Universidade Federal de Santa Maria. 2007.

¹Acadêmica de Medicina Veterinária da UFPel

²Doutoranda do PPG em Veterinária/UFPel

³Mestrando em Veterinária/UFPel

⁴Professora Adjunta DCV/FV/UFPel

⁵Professor Adjunto DMVP/FV/UFPel

Faculdade de veterinária – UFPel - Caixa postal 356 - 96010-900 - Pelotas, RS

3 CARON, L.; FLORES, E. Diagnóstico Viroológico. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva UFSM. 2001.

4 HEADLEY, S.A.; GRAÇA, D.L. Canine distemper: epidemiological findings of 250 cases. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science. 2000.

5 CANDLISH, M. C.; Ettinger et. al. Tratado de Medicina Interna Veterinária, Doenças do Cão e do Gato. 2000.

6 STROTTMANN, D.M. et. al. Cienc. Rural. Santa Maria Mar./Apr. Diagnóstico e estudo sorológico da infecção pelo parvovírus canino em cães de Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil. 2008.

¹Acadêmica de Medicina Veterinária da UFPel

²Doutoranda do PPG em Veterinária/UFPel

³Mestrando em Veterinária/UFPel

⁴Professora Adjunta DCV/FV/UFPel

⁵Professor Adjunto DMVP/FV/UFPel

Faculdade de veterinária – UFPel - Caixa postal 356 - 96010-900 - Pelotas, RS