

ANGELO LIPARINI PEREIRA

**TÍTULO DE ANTICORPOS CONTRA O VÍRUS DA PARVOVIROSE EM
CÃES VACINADOS NA ÁREA URBANA EM ESTABELECIMENTOS
DO MUNICÍPIO DE VIÇOSA/MG.**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2005

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

P436t
2005

Pereira, Angelo Liparini, 1977-

Título de anticorpos contra o vírus da parvovirose em
cães vacinados na área urbana em estabelecimentos do
município de Viçosa/MG / Angelo Liparini Pereira. –
Viçosa : UFV, 2005.
x, 61f. : il. ; 29cm.

Inclui apêndice.

Orientador: Mauro Pires Moraes.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 47-50.

1. Parvovírus canino - Aspectos imunológicos.
2. Parvovírus canino - Epidemiologia. 3. Reações antígeno
-anticorpo. 4. Vacinas - Testes. 5. Cão - Imunologia.
6. Imunologia veterinária. I. Universidade Federal de
Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 636.70896911

AGRADECIMENTOS

À minha família pela segurança que se encontra na união e no amor incondicional.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), pela oportunidade de realização do curso.

Ao professor Mauro Pires Moraes pela amizade, pela orientação na realização deste trabalho e na minha formação profissional, e por ter me incentivado na idéia da pesquisa.

Ao professor José Antônio Viana pelo companheirismo desde a época em que eu era calouro do curso de graduação

À professora Márcia Rogéria de Almeida por ter sido sempre muito atenciosa e ter contribuído para a finalização do trabalho.

À todos os professores que contribuíram para minha formação profissional.

À minha namorada Karina Martinho pelo companheirismo e por tornar os meus dias mais felizes.

Aos funcionários Marquinhos, Monteiro, Luiz Carlos, Batalha, Dagoberto, Ademir e Élcio, pela amizade.

Ao funcionário Dedeco, que sempre foi muito gentil em me ajudar extraindo sangue dos suínos.

À Rosinéia Aparecida da cunha Andrade, secretária da pós-graduação do Departamento de veterinária, por ser tão atenciosa e prestativa.

Ao Vinícius Zavan, que foi meu companheiro na padronização e realização das técnicas.

À todos os amigos do curso de pós-graduação pelo convívio.

À turma dos porecas que sempre souberam como aliviar meu estresse.

Aos estagiários e bolsistas do laboratório de virologia pela ótima convivência que tivemos.

Aos integrantes da banda The Dark Side, que se tornaram irmãos para mim.

Aos proprietários dos cães utilizados neste trabalho, que contribuíram para o progresso da ciência.

Às Doutorandas Priscilla e Larissa pela força, apoio, amizade.

À Fabiana Monti pela simpatia e por simplesmente ter tornado esse experimento possível de ser realizado.

Ao Ronaldo de Oliveira Faria, que sempre foi muito atencioso e tanto me ajudou na estatística do experimento.

Ao Carlos Paleta, amigo de todas horas, que me deu uma super força na realização dos slides da apresentação.

CONTEÚDO

	Página
RESUMO	vii
ABSTRACT	ix
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
3. REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1. Etiologia da parvovirose	4
3.2. Epidemiologia	5
3.3. Curso da Infecção	6
3.4. Sinais Clínicos	7
3.5. Diagnóstico	8
3.6. Prevenção	9
3.6.1. Imunidade passiva	9
3.6.2. Imunidade adquirida	10
3.6.3. Falha vacinal	11
4. MATERIAL E MÉTODOS	13
4.1. Amostragem e delineamento da pesquisa	13

4.2. Tampões para teste da hemaglutinação (HA) e inibição da hemaglutinação (HI)	15
4.2.1. Preparo do tampão salina borato (BABs) pH 9.0.....	15
4.2.1.1. Preparo da solução de NaCl (cloreto de sódio) 1.5M.....	15
4.2.1.2. Preparo da solução de H ₃ BO ₃ (ácido bórico) 0.5M .	15
4.2.1.3 Preparo da solução de NaOH (hidróxido de sódio) 1.0M.....	16
4.2.1.4. Preparo do tampão salina borato (BBS)	16
4.2.1.5. Preparo do BSA (soroalbumina bovina) a 2% em BBS.....	16
4.2.1.6. Preparo do tampão BABS : BSA a 0,2% em BBS...	16
4.2.2. Preparo do tampão VAD pH 6.0 (diluyente de hemácia) .	17
4.2.2.1. Preparo da solução “A” do VAD.....	17
4.2.2.2. Preparo da solução “B” do VAD.....	17
4.2.2.3. Preparo da solução VAD pH 6.0	17
4.3. Preparo da solução de alsever.....	17
4.4. Preparo da suspensão de hemácias de porco a 10%	18
4.5. Cultivo celular	18
4.6. Vírus vacinal.....	19
4.7. Isolamento Viral.....	19
4.8. Teste de hemaglutinação (HA) para parvovírus canino	20
4.9. Preparo da suspensão de Caolim (Reagem) a 25%.....	20
4.10. Tratamento do soro canino.....	20
4.11. Teste de inibição da hemaglutinação (HI) para parvovírus canino.....	21
4.12. Análise estatística	22
 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	 23
5.1. Avaliação dos títulos de anticorpos segundo os grupos de cães estudados, utilizando-se amostras de vírus vacinal para o teste de HI	23
5.2. Avaliação dos títulos de anticorpos segundo a idade	32
5.3. Avaliação dos títulos de anticorpos segundo a frequência de contato com outros cães.....	34
5.4. Avaliação dos títulos de anticorpos segundo o tempo decorrido desde a última dose da vacina	36
5.5. Avaliação dos títulos de anticorpos segundo os grupos de cães estudados, utilizando-se amostras de vírus de campo para o teste de HI	38

5.6. Análise de variância entre os grupos para testar se existe diferença no título de anticorpos em função do vírus empregado na técnica de HI	40
6. CONCLUSÕES	44
7. PERSPECTIVAS	46
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
9. APÊNDICE	51

RESUMO

PEREIRA, Angelo Liparini. Universidade Federal de Viçosa, março de 2005.
Título de anticorpos contra o vírus da parvovirose em cães vacinados na área urbana em estabelecimentos do município de Viçosa/MG.
Orientador: Mauro Pires Moraes. Conselheiros: Márcia Rogéria de Almeida Lamêgo e José Lúcio dos Santos.

Observações de casos clínicos suspeitos de parvovirose, atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa, indicam que os cães vacinados em lojas que comercializam produtos agropecuários apresentam maior frequência da doença, quando comparados aos cães vacinados em clínicas veterinárias. Com o objetivo de avaliar a resposta às vacinas comercializadas em diferentes estabelecimentos e seguindo ou não o protocolo de vacinação indicado pela literatura, foi determinado o título de anticorpos contra a parvovirose no soro de cães da área urbana do município de Viçosa-MG. Para tanto, uma amostra de soro sanguíneo foi obtida de cada um dos 150 cães selecionados. Estes animais estavam saudáveis e tinham entre seis meses e seis anos de idade. Os animais pertenciam a diversas raças e eram de ambos os sexos. Os cães foram selecionados segundo características pré-estabelecidas para compor cinco grupos de 30 animais: A) cães vacinados em clínicas veterinárias, seguindo o protocolo

indicado na literatura; B) cães vacinados em clínicas veterinárias, não seguindo o protocolo indicado; C) cães vacinados em lojas de produtos agropecuários, seguindo o protocolo indicado; D) cães vacinados em lojas de produtos agropecuários, não seguindo o protocolo indicado; E) cães não vacinados. O título de anticorpos foi mensurado no soro de cada animal, por meio do teste de inibição da hemaglutinação. De acordo com os resultados deste estudo, pôde-se concluir que a vacinação contra parvovirose é importante, considerando a diferença encontrada entre o título de anticorpos dos cães vacinados e não vacinados. Além disso, os cães vacinados contra parvovirose em clínicas veterinárias ficaram mais bem protegidos do que aqueles que foram vacinados em lojas de produtos agropecuários, principalmente quando essa vacinação foi realizada de acordo com o protocolo indicado pela literatura.

ABSTRACT

PEREIRA, Angelo Liparini. Universidade Federal de Viçosa, março de 2005.
Antibody titres against canine parvovirus in dogs vaccinated in the urban área in stores of the municipal district of Viçosa/Minas Gerais.
Advisor: Mauro Pires Moraes. Committe members: Márcia Rogéria de Almeida Lamêgo e José Lúcio dos Santos.

Observations of clinical cases suspected of canine parvovirus attended at the Veterinary Hospital at the Federal University of Viçosa indicate that the dogs vaccinated in stores which commercialize agropecuary products showed a greater frequency of the disease compared to the ones vaccinated at veterinary clinics. The objective of this study is the evaluation of the answer to the vaccines commercialized in different stores and following or not the vaccination protocol indicated by the literature, the antibody titers against the canine parvovirus in dogs serum in the urban area of the city of Viçosa-MG was determined. Blood serum sample was obtained from each of the 150 selected dogs. These animals were healthy and were from six months to six years old. The animals belong to several breeds and both sex. The dogs were selected following pre-established characteristics to form five groups of 30 animals each: A) dogs vaccinated in veterinary clinics following the literature patterns; B) dogs vaccinated in

veterinary clinics not following the indicated protocol; C) dogs vaccinated in agropecuary product stores following the indicated protocol; D) dogs vaccinated in agropecuary product stores not following the indicated protocol; E) dogs not vaccinated. The antibody titers were measured in each animal serum through the hemagglutination inhibition test. According to the results of this study, it was concluded that the vaccination against canine parvovirus is important, considering the difference between the titers of vaccinated and non-vaccinated dogs. Furthermore dogs vaccinated in veterinary clinics are more protected than that vaccinated in agropecuary product stores, mainly if this vaccination followed the literature patterns.

1. INTRODUÇÃO

O parvovírus canino (CPV) foi identificado pela primeira vez em 1978, como novo vírus infectando cães, sendo este associado à gastroenterite hemorrágica. Existe variação considerável na resposta clínica de cães à infecção com CPV, variando desde infecções inaparentes, até a moléstia fatal aguda. Infecções inaparentes ocorrem na maioria dos cães. A morbidade é inferior a 20% e a mortalidade, menor que 5%. A letalidade pode variar de 10 a 90%. Alguns fatores que predispõem à moléstia grave são: idade, stresse, aspectos genéticos e infecções concomitantes por parasitos ou bactérias intestinais.

O tratamento da doença é sintomático e auxiliar, não existindo terapia que combata o vírus diretamente. Líquidos e eletrólitos estão indicados, com base na avaliação do estado clínico. Antibióticos de amplo espectro podem ser indicados, como proteção contra as infecções bacterianas secundárias. Antiemético estão indicados em cães apresentando vômito persistente. Devem ser utilizados cuidadosamente medicamentos antidiarréicos, visto que a redução da velocidade do movimento do material ingerido pode aumentar a absorção de endotoxinas. Pode

haver indicação de transfusão de plasma ou sangue integral em cães com hipovolemia, decorrente da perda intestinal grave de proteínas séricas.

A imunização consiste no único meio efetivo de controle da doença na população canina. A maneira mais eficiente e mais freqüentemente recomendada para a proteção do filhote é a administração da primeira dose na sexta semana de idade e no local onde a ninhada permanece. O protocolo de vacinação indicado pela literatura, e utilizado por médicos veterinários de maneira geral, consiste em três doses de vacina aplicadas no filhote, iniciando-se entre seis a oito semanas de idade, em intervalos de 21 a 30 dias e revacinações anuais. A revacinação anual é recomendada, pois cães adultos podem desenvolver a doença.

Observações de casos clínicos suspeitos de parvovirose, atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa (HOV-UFV), indicam que os cães vacinados em lojas que comercializam produtos agropecuários e que, geralmente não contam com a orientação de um médico veterinário, apresentam maior freqüência da doença, quando comparados aos cães vacinados em clínicas veterinárias.

Desta forma, o presente estudo teve como objetivo determinar, por meio do teste de inibição da hemaglutinação (HI), os níveis séricos de anticorpos contra o vírus da parvovirose em cães não vacinados e vacinados, seguindo ou não o protocolo indicado, em diferentes estabelecimentos responsáveis pela vacinação.

2. OBJETIVOS

Determinar os níveis séricos de anticorpos contra o vírus da parvovirose:

- Em cães não vacinados,
- Em cães vacinados, seguindo ou não o protocolo indicado,
- Em cães vacinados em diferentes estabelecimentos responsáveis pela vacinação.

Avaliar os títulos de anticorpos segundo a idade;

Avaliar os títulos de anticorpos segundo a frequência de contato com outros cães;

Avaliar os títulos de anticorpos segundo o tempo decorrido desde a última dose da vacina;

Avaliar os títulos de anticorpos utilizando-se cepas virais diferentes no teste de HI.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Etiologia da parvovirose

O vírus da parvovirose canina (CPV) é um membro da família *Parvoviridae*. É um vírus não envelopado, sendo seu capsídeo possuidor de uma simetria icosaédrica com T=1, com um diâmetro de aproximadamente 260 Å. Esse vírus possui uma única fita simples de DNA composto por 5200 nucleotídeos. O conteúdo de DNA do vírion possui peso molecular entre $5,0 \times 10^6$ e $6,2 \times 10^6$ Da, enquanto que o capsídeo vazio possui peso molecular de $4,2 \times 10^6$ Da. O genoma do CPV codifica duas proteínas estruturais, a VP1 e a VP2, formadas por “splicing” alternativo do mesmo RNA mensageiro (JONGENEEL et al., 1986).

VP1 contém 143 resíduos adicionais, se comparado à VP2. A terceira proteína (VP3) é gerada pela clivagem proteolítica de aproximadamente 17 resíduos do N-terminal da VP2 (COTMORE & TATTERSALL, 1987).

Aproximadamente 90% do capsídeo é formado pela combinação de VP2 com subunidades da VP3, enquanto que as subunidades restantes são VP1.

3.2. Epidemiologia

Parvovírus canino (CPV) foi inicialmente isolado em 1978 nos EUA (APPEL et al., 1979) e foi designado CPV tipo 2 (CPV-2) para distingui-lo de outro parvovírus previamente reconhecido em cães (BINN et al., 1970). Depois de sua emergência, CPV-2 se difundiu mundialmente e no momento as viroses com CPV-like são endêmicas na maior parte das populações de cães domésticos e selvagens (PARRISH et al., 1988).

Análise de CPV isolado por anticorpos monoclonais e enzima de restrição mostrou que existe uma nova estirpe antigênica, designada CPV tipo 2a (CPV-2a), tornando-se difundida por volta de 1979 e substituindo a cepa original durante 1980 à 1981 nos EUA (PARRISH et al., 1985).

Mais tarde, exames de isolados de cão identificaram uma outra variante antigênica, designada CPV tipo 2b (CPV-2b), que emergiu por volta de 1984, e após 1986 substituiu CPV-2a em muitas partes dos EUA (PARRISH et al., 1991). A mesma forma de difusão do CPV-2, sua emergência com subsequente substituição pelas novas cepas antigênicas foi demonstrada por análises antigênicas de isolados da Alemanha, Dinamarca, França, Espanha, Japão, Austrália e África, embora as proporções das cepas de CPV-2a e CPV-2b diferiam-se (PARRISH et al., 1988; MOCHIZUKI et al., 1993; YBAÑEZ et al., 1995; TRUYEN et al., 1996; STEINEL et al., 1998). No Brasil, infecções sugestivas foram primeiramente observadas durante 1979, na região sudeste do país (HAGIWARA et al., 1980). Subseqüentemente, difundiu-se pelo país inteiro um surto de enterite hemorrágica canina com alta morbidade e alta mortalidade.

A proporção do novo tipo antigênico de CPV varia em diferentes países. Nos EUA e sul da África, CPV-2b é o tipo de vírus predominantemente responsável pela maioria de surtos ocasionados pela infecção do CPV (PARRISH et al., 1991; STEINEL et al., 1998).

Ambos CPV-2a e CPV-2b estão presentes em UK, Alemanha e Espanha com frequências similares de isolamento (YBAÑEZ et al., 1995; GREENWOOD et al., 1996).

As novas cepas também substituíram a original em Taiwan e Itália, embora a CPV-2a ainda seja a predominante lá (CHANG et al., 1996; SAGAZIO et al., 1998). No entanto, CPV-2 ainda causa muitas infecções com diarreia aguda em cães no Japão (HIRASAWA et al., 1996).

O Brasil possui o mesmo padrão observado nos EUA da emergência do CPV-2, seguindo da substituição pelas variantes CPV-2a e CPV-2b. A cepa predominante no período de 1980 foi a CPV-2a, sendo consideravelmente substituída pelo CPV-2b de 1990 a 1995 (PEREIRA et al., 2000), porém ambas cepas ainda se encontram na população canina.

A evolução desse novo vírus pode ser devido a vantagens replicativas, provavelmente por uma maior afinidade do vírus nos receptores das células do hospedeiro ou a uma liberação mais eficiente do vírus nas fezes.

3.3. Curso da infecção

O parvovírus canino entra na célula hospedeira começando pela ligação ao receptor de transferrina, seguindo pela endocitose mediado pela clatrina e transportado para os endossomas (PARKER et al., 2001; SUIKKANEN et al., 2002).

Anticorpos microinjetados citoplasmaticamente nos receptores de transferrina (TfR) reduziram a proliferação de CPV quando injetados na célula 4 horas após a inoculação, mostrando que muitos capsídeos infectantes sobrevivem associados aos TfR nos compartimentos endocíticos por muitas horas (PARKER et al., 2001).

Depois de escapar da vesícula endossomal para o citosol, CPV foi detectado nos lisossomos (SUIKKANEN et al., 2002). Anticorpos contra o capsídeo do CPV injetados no citoplasma também previnem a proliferação de CPV quando injetados

até 6 horas pós-infecção, indicando que CPV sai vagarosamente da vesícula (VIHINEN-RANTA et al., 2002).

A transmissão ocorre pela via fecal-oral. Os cães ficam infectados pela ingestão ou inalação de CPV até a orofaringe. O início da infecção mais provavelmente ocorre nas tonsilas e logo em seguida nos linfonodos regionais, e tecido linfóide associado ao intestino, onde ocorre a multiplicação primária. A viremia ocorre depois da multiplicação primária do CPV no tecido linfóide, com a disseminação do vírus até as células da cripta no intestino delgado, que é o órgão alvo para a multiplicação secundária (MEUNIER et al., 1981).

As alterações patológicas que levam ao desenvolvimento da moléstia clínica ocorrem nas células da cripta, resultando em colapso da mucosa. As células cripta morrem e erosões na parede do intestino fazem com que a absorção de líquidos se torne prejudicada, resultando em vômitos e diarreias, característicos dessa doença (POLLOCK et al., 1982).

CPV é capaz de multiplicar-se em células de outros sistemas orgânicos, como o da medula óssea, coração, e células endoteliais. Foi relatada a moléstia neurológica induzida por CPV, decorrente da lesão induzida pelo vírus ao endotélio vascular do cérebro.

3.4. Sinais Clínicos

Sinais clínicos resultantes de desafios experimentais com a cepa CPV-2, são relativamente leves e não representativo da virulenta doença observada depois de uma infecção natural com a cepa CPV-2a ou CPV-2b (YULE et al., 1997).

Em cães que apresentam a moléstia clínica, o vômito e a diarreia são os primeiros sinais observados. Os cães afetados se tornam letárgicos e deprimidos. Ocorre anorexia, à medida que a moléstia progride (MARTIN, 2002). A febre é variável, mas a leucopenia é achado consistente. É comum a leucopenia

acompanhada de leucometrias globais que decrescem para menos de 2000 (SWANGO, 1997).

Linfopenia, normalmente avaliada pela contagem manual de células diferenciais, pode ser altamente variável. Neutropenia, comumente descrita em casos naturais de infecção, aparece de forma inconsistente após desafios experimentais. Porém a linfopenia é geralmente mais pronunciada que a neutropenia (SWANGO, 1997).

Os cães levemente afetados recuperam-se em um a dois dias, sem tratamento. Os cães mais gravemente afetados necessitam de tratamento sintomático e auxiliar, mas em sua maioria estes animais se recuperam após três a cinco dias de enfermidade. Se ocorre diarreia hemorrágica grave e o vômito se prolonga, o prognóstico é menos favorável, e os cães podem morrer, mesmo com tratamento auxiliar. Alguns cães podem morrer agudamente dentro de 24 horas após o início dos sinais clínicos. A moléstia fatal aguda é mais comum em cãezinhos jovens, alguns dos quais podem apresentar miocardite, se foram infectados quando tinham menos de 8 semanas de idade (SWANGO, 1997).

3.5. Diagnóstico

É preciso se ter cuidado, pois nem todos casos de diarreia hemorrágica, acompanhada ou não de vômito, são causados pelo parvovírus canino. Antes da emergência do CPV já havia descrições de gastroenterite hemorrágica em cães causada por outros agentes, que não o CPV. Os vírus da cinomose, da hepatite infecciosa canina, e o coronavírus, também causam diarreia em cães (SWANGO, 1997).

Cães jovens com diarreia e com episódios de vômito são considerados suspeitos, mas o diagnóstico diferencial se faz necessário. O achado de leucopenia pode apoiar o diagnóstico, mas o vírus da cinomose e o da hepatite infecciosa canina também causam leucopenia (SWANGO, 1997). É firmado o diagnóstico definitivo

com base na detecção de antígenos virais nas fezes, ou pela demonstração de título elevado de anticorpos anti-CPV.

Os testes baseados na detecção de CPV nas amostras fecais que tiverem resultado positivo são confirmatórios. Os resultados negativos podem ou não descartar a possibilidade de CPV. Se os cães estão enfermos há mais de três dias, geralmente apresentam título elevado de anticorpos, que estarão ingressando no trato intestinal juntamente com o sangue. Os anticorpos recém-formados podem ligar-se ao CPV no trato intestinal, inibindo sua detecção pelo ensaio imunoenzimático (ELISA), ou pela inibição da hemaglutinação (HI). A resposta imune à infecção pelo CPV é rápida, e os anticorpos são detectáveis de quatro a cinco dias após a exposição e os títulos atingem níveis elevados por volta do sétimo dia após a exposição. Como o período de incubação é de quatro a sete dias, muitos cães apresentam títulos elevados de anticorpos logo após o início dos sinais clínicos da moléstia. A presença de título elevado de anticorpos num teste de HI num soro isolado, coletado depois do cão estar enfermo por três ou mais dias, é diagnóstico de CPV, embora CPV possa não ser detectável na fezes (SWANGO, 1997).

3.6. Prevenção

3.6.1. Imunidade passiva

A proteção em cães muito jovens ocorre principalmente pela transferência passiva de anticorpos maternos para a prole.

Como no cão uma pequena quantidade de anticorpo atravessa a placenta, os filhotes dependem da ingestão do colostro para adquirirem os anticorpos maternos, cuja absorção, através do intestino dos filhotes, reduz-se rapidamente após 72 horas de vida (POVEY, 1986).

O título de anticorpos passivos é variável em uma mesma ninhada, dependendo do título de anticorpos no soro da mãe, da quantidade de colostro ingerida por cada um dos filhotes e do tempo decorrido do nascimento (POVEY, 1986).

Porém quando ocorre declínio dos anticorpos maternos, para abaixo do nível de proteção, os filhotes tornam-se rapidamente susceptíveis à doença. A idade que isso ocorre varia e é dependente do título de anticorpos passivos que foi obtido pelo filhote. A susceptibilidade à infecção pelo parvovírus freqüentemente coincide com o momento em que o filhote é separado de sua mãe, aumentando significativamente o risco de exposição.

3.6.2. Imunidade adquirida

Vacinação de cães contra parvovírus canino é geralmente feita utilizando-se vírus vivo modificado (MLV), porém a proteção pode também ser obtida utilizando-se material inativado se altas doses de antígeno for administrada.

No caso de MLV, para assegurar completa atenuação, o vírus é colocado para crescer em cultura de célula, com altos níveis de passagens (acima de 100 passagens). No entanto, a infectividade do CPV declina de acordo com o aumento da atenuação. A liberação fecal de uma cepa vacinal de CPV atenuado é mais demorada que das amostras observadas de cepas naturais (HOARE et al., 1997).

Como resultado da redução da infectividade, cepas de CPV com altas passagens são relativamente mais susceptíveis a interferências pelos anticorpos maternos.

Para uma boa vacinação, recomenda-se a aplicação de três doses da vacina contendo o antígeno viral da parvovirose, nos filhotes, a cada três ou quatro semanas, entre 45 dias e quatro meses de idade (SWANGO, 1997).

3.6.3. Falha vacinal

A vacina com o vírus vivo modificado (MLV) é preferencialmente utilizada na profilaxia da doença causada pelo CPV em cães. Porém, até mesmo vacina de boa qualidade às vezes falha no objetivo de promover uma resposta imune adequada aos cães.

O fator mais importante para o fracasso de vacinações contra CPV em filhotes é a presença de anticorpos maternos nos mesmos. Esses anticorpos podem interferir com o vírus vacinal, prevenindo então o começo de uma imunidade válida.

CARMICHAEL et al. (1984), observaram que é de aproximadamente três semanas o intervalo entre o tempo em que os anticorpos contra CPV derivados da mãe declinaram nos filhotes a níveis de baixa proteção e o tempo quando promove declínio a níveis de confiabilidade que permitam uma ativa resposta imune nos filhotes vacinados com altas passagens de MLV-CPV. Esse período de vulnerabilidade durante esse nível de subproteção de anticorpos maternos exclui o sucesso da vacinação. Em alguns casos (quando o título de anticorpos maternos é alto), a vacinação com altas passagens de MLV-CPV não induzirá uma resposta imune ativa, só conseguindo esta após o filhote ter completado 16 semanas de idade.

A administração da vacina viva ou da inativada em muitos casos não é bem sucedida, supostamente devido às amostras de antígenos utilizadas serem muito baixas para superar a interferência dos anticorpos derivados da mãe.

Em outro estudo foi reportado que filhotes com título de HI superior a 1:20 para anticorpos maternos, é suficiente para neutralizar a vacina MLV-CPV e previne o estabelecimento de uma imunidade protetora. Foi constatado que filhotes com HI inferior a 1:80 são susceptíveis a infecção pelo CPV. Esse período chamado de janela imunológica pode durar semanas. Durante a janela imunológica o filhote não pode ser ativamente imunizado devido à presença dos anticorpos maternos, mas eles estão susceptíveis a infecção pelo vírus (BUONAVOGLIA et al., 1992).

Vários fatores influenciam o resultado da vacinação, e entre os fatores inerentes ao imunógeno, os principais são: o isolado viral utilizado, a manutenção de imunogenicidade suficiente durante todo o processo de atenuação e o número de partículas virais atenuadas em uma dose (título viral) (RIKULA et al., 2000). Vacinas que foram manuseadas e estocadas indevidamente também podem resultar em falha vacinal, uma vez que as vacinas contendo vírus vivo atenuado devem ser mantidas sob refrigeração todo o tempo (TIZARD & NI, 1998).

As diferenças individuais em animais vacinados influenciam o sucesso de um programa de imunização tanto quanto o antígeno utilizado (OTT, 1956). A idade, genética, estado de saúde, nutrição, meio ambiente e situações de estresse são importantes para o resultado da imunização. Qualquer um ou uma combinação de qualquer dos fatores acima, pode influenciar a resposta do sistema imune e subseqüentemente, o sucesso do programa de vacinação (WEBSTER, 1975; POVEY, 1986; OSBURN & STOTT, 1989).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Amostragem e delineamento da pesquisa

Amostras de sangue de cães vacinados ou não contra parvovirose foram coletadas de animais provenientes da área urbana de Viçosa-MG. A maior parte da coleta foi realizada em cães que utilizaram o atendimento ambulatorial do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa (HOV-UFV) e em clínicas veterinárias particulares, para consultas de rotina, sendo que apenas os animais saudáveis foram amostrados. A coleta restante realizou-se nas residências dos proprietários.

Uma única amostra de sangue foi obtida de cada animal, sendo que os mesmos foram selecionados aleatoriamente, segundo características pré-estabelecidas para compor os seguintes grupos:

Grupo A - Cães vacinados em clínicas veterinárias, seguindo o protocolo indicado na literatura.

Grupo B - Cães vacinados em clínicas veterinárias, não seguindo o protocolo indicado na literatura.

Grupo C - Cães vacinados em lojas de produtos agropecuários, seguindo o protocolo indicado na literatura.

Grupo D - Cães vacinados em lojas de produtos agropecuários, não seguindo o protocolo indicado na literatura.

Grupo E - Cães não vacinados.

O referido protocolo de vacinação indicado na literatura de acordo com SWANGO (1997) consistiu de três doses da vacina contendo o antígeno viral da parvovirose, associado a outros antígenos (vacinas polivalentes) administradas a intervalos de 21 a 30 dias em cães que iniciaram a vacinação entre seis e oito semanas. Ou duas doses da vacina, também a intervalo de 21 a 30 dias, nos cães que começaram a imunização a partir de três meses de idade, sendo que, nos dois casos, recebendo revacinações anuais. Os cães que não receberam a vacinação inicial como indicado acima, ou que não receberam as revacinações anuais, foram reunidos nos grupos em que a vacinação não seguiu o protocolo indicado. Somente foram incluídos no estudo os cães que haviam recebido a última dose de vacina há mais de 30 dias.

Cada grupo foi composto por 30 cães, entre seis meses e seis anos de idade, sadios e independentemente da raça ou sexo, totalizando 150 animais. Para a coleta de sangue, foi realizada venopunção da veia cefálica ou jugular, com agulha de 25 x 8 ou 30 x 8 mm⁽¹⁾ e seringa estéreis⁽²⁾. Foram coletados entre 3 e 5mL de sangue, sendo este transferido para um tubo de coleta sem anticoagulante⁽³⁾ e encaminhado ao Laboratório de Virologia do Departamento de Veterinária (DVT) da UFV. O sangue já coagulado foi centrifugado⁽⁴⁾ a 1500g, por 5 minutos, para a separação do soro. Este último foi removido, aliquotado em aproximadamente sete amostras de 150 µL e congelado a – 20 °C até o momento da realização do teste de inibição da

⁽¹⁾ B-D, Facilitar;

⁽²⁾ Unijet, Facilitar;

⁽³⁾ Vacutainer, Facilitar;

⁽⁴⁾ Centrifugador Excelsa Baby 1, FANEM Mod. 206.

hemaglutinação. O soro de cada animal foi analisado para detectar o título de anticorpos contra o vírus da parvovirose, por meio do teste de inibição da hemaglutinação.

Concomitantemente à coleta de sangue, foi aplicado um questionário aos proprietários dos cães participantes do estudo, para a obtenção de informações referentes ao histórico de vacinação do animal, onde as datas e os locais de todas as vacinações foram registrados, assim como a idade, o sexo e a raça do cão. Foram questionados o histórico de doenças anteriores e a frequência de contato com outros cães. O nome, endereço e telefone dos proprietários foram obtidos, além da data da coleta do sangue.

4.2. Tampões para teste da hemaglutinação (HA) e inibição da hemaglutinação (HI)

4.2.1. Preparo do tampão salina borato (BABs) pH 9,0

4.2.1.1. Preparo da solução de NaCl (cloreto de sódio) 1,5M

Foram pesados 8,77 g de NaCl e dissolvidos em um becker em aproximadamente 70 mL de H₂O deionizada, transferidos para uma proveta e completado o volume de 100mL com H₂O deionizada. A solução foi guardada na geladeira.

4.2.1.2. Preparo da solução de H₃BO₃ (ácido bórico) 0,5M

Foram pesados 3,1 g de NaCl e dissolvidos em um becker em aproximadamente 70 mL de H₂O deionizada, transferidos para uma proveta e completado o volume de 100 mL com H₂O deionizada.

4.2.1.3 Preparo da solução de NaOH (hidróxido de sódio) 1,0M

Foram pesados 2 g de NaOH e dissolvidos em um becker em aproximadamente 25 mL de H₂O deionizada, transferidos para uma proveta e completado o volume de 100 mL com H₂O deionizada.

4.2.1.4. Preparo do tampão BBS

Foi aliquotado:

NaCl 1,5M.....	80 mL
H ₃ BO ₃ 0,5M.....	100 mL
NaOH 1,0M.....	24 mL
H ₂ O destilada	1000 mL

A solução foi misturada, autoclavada a 120°C por 20 minutos e estocada na geladeira.

4.2.1.5. Preparo do BSA (soroalbumina bovina) a 2% em BBS

Foram pesados 2 g de BSA e dissolvidos em 100mL de BBS (dissolvido no banho-maria a 37°C). A solução foi estocada no congelador.

4.2.1.6. Preparo do tampão BABS : BSA a 0,2% em BBS

A solução de BSA a 2% foi diluída 1/10 em BBS. Foi pipetado 10 mL de BSA 2% e completado o volume de 100 mL em uma proveta com BBS. A solução foi estocada no congelador a – 10° C.

4.2.2. Preparo do tampão VAD pH 6,0 (diluyente de hemácia)

4.2.2.1. Preparo da solução “A” do VAD

Foram pesados 16,08 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Dissolveu-se em um Becker em aproximadamente 100 mL de H_2O deionizada. Transferiu-se para uma proveta e foram adicionados 20 mL de NaCl 1,5M. O volume foi completado para 200 mL com H_2O deionizada.

Obs.: A solução “A” tem o pH em torno de 9,0.

4.2.2.2. Preparo da solução “B” do VAD

Foram pesados 41,4g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Dissolveu-se em um becker em aproximadamente 800mL de H_2O deionizada. Transferiu-se para uma proveta e foram adicionados 100 mL de solução de NaCl 1,5M. O volume foi completado para 1000 mL com H_2O deionizada.

Obs.: A solução “B” tem o pH em torno de 5,0.

4.2.2.3. Preparo da solução VAD pH 6,0

Foram misturados 12,5 mL da solução “A” e 87,5 mL da solução”B” para o preparo de 100 mL de VAD. Foi checado o pH da solução pronta.

4.3. Preparo da solução de alsever

Foram aliquotados:

Dextrose.....	20,5 g
Citrato de sódio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).....	8,00 g
Cloreto de sódio (NaCl).....	4,20 g
H_2O deionizada	1000 mL

As substâncias foram pesadas separadamente, dissolvidas em um becker em aproximadamente 800 mL de H₂O deionizada. O pH foi ajustado para 6,1 com uma solução de ácido cítrico a 5% (5g de ácido cítrico para 100 mL de H₂O deionizada). A solução foi transferida para uma proveta e foi completado o volume para 1000 mL com H₂O deionizada. Em seguida, a solução foi autoclavada a 110°C por 10 minutos.

4.4. Preparo da suspensão de hemácias de suíno a 10%

O sangue de suíno foi coletado com solução de alsever (1mL de alsever para cada 4mL de sangue). A suspensão de hemácias foi centrifugada a 5000 *g* por 5 minutos para remover o alsever e lavada com tampão VAD pH 6,0. Esse processo foi realizado 3 vezes. A suspensão de hemácias foi estocada na geladeira a 10% em VAD pH 6,0.

Para as reações de HA e HI, a suspensão de hemácias a 10% foi diluída a 1:20 em VAD pH 6,0, para que ficasse numa concentração final de 0,5%.

4.5. Cultivo celular

Para a inoculação do vírus em cultivo celular, uma linhagem de células renais caninas (MDCK - “Madin-Darby canine kidney”- ATCC CCL-34) mantidas no laboratório foi utilizada. As células foram cultivadas em garrafas plásticas para cultura celular de 25cm², mantidas em meio de cultivo constituído de Meio Essencial Mínimo (MEM)⁽⁵⁾, suplementado com 0,2g/L de estreptomicina, 0,15g/L de penicilina G potássica e 10% de soro fetal bovino inativado (SFB)⁽⁶⁾ a um pH 7,2. O cultivo celular foi mantido em estufa de CO₂ (5% CO₂), com 70% de umidade e a 37 °C.

⁽⁵⁾ Cultilab;

⁽⁶⁾ Seromed;

4.6. Vírus vacinal

Utilizou-se uma suspensão do parvovírus vivo, atenuado e modificado (cepa Cornell), replicado em células renais felinas (CRFK – “Crandell Feline Kidney”), cedido por uma empresa produtora de vacinas veterinárias⁽⁷⁾, sendo aliquotado e congelado em nitrogênio líquido (-196 °C).

4.7. Isolamento Viral

Foram coletadas fezes de um animal suspeito de parvovirose no atendimento clínico do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Viçosa (HOV-UFV). Fez-se o tamponamento das fezes adicionando nove partes de PBS (NaCl 9,0g/L, K₂H₂PO₄ 0,144g/L e NaH₂PO₄ 0,795g/L, pH 7,2) para 1 parte de fezes. Centrifugou-se a 5000g por 5 minutos e coletou-se o sobrenadante.

Células MDCK foram colocadas para crescer com 500 µL de MEM e 10% de SFB em placas de 24 pocinhos, mantidas em estufa de CO₂ (5% CO₂), com 70% de umidade e a 37 °C. Após 24 horas de crescimento celular, os 500 µL de cada pocinho foram retirados e no local foram colocados 200 µL do sobrenadante previamente coletado. Essa placa foi mantida na estufa a 37°C durante 1 hora. Após esse procedimento, foram retirados os 200µL e colocaram-se novamente 500µL de MEM e 5% de SFB, mantendo a placa novamente na estufa de CO₂ (5% CO₂), com 70% de umidade e a 37 °C. A avaliação do efeito citopático foi feita após 3 ou 4 dias.

Esse processo de passagens do vírus em células MDCK foi feito 4 vezes, até que se obteve um efeito citopático bem definido nas células. O vírus foi posteriormente aliquotado e congelado em nitrogênio líquido (-196 °C).

⁽⁷⁾ Laboratório Hertape Ltda.- www.hertape.com.br;

4.8. Teste de hemaglutinação (HA) para parvovírus canino

Foram adicionados 50 µL de BABS pH 9,0 em todos orifícios da microplaca de 96 pocinhos.

No primeiro orifício das fileiras A, C, E, G, foram adicionados 50µL da amostra viral. Foram feitas diluições dobradas até o orifício 11, voltando pelo orifício 1 da fileira seguinte até o 11, desprezando-se 50µL da amostra viral diluída do último pocinho.

Foram adicionados em todos os orifícios da microplaca 50 µL da suspensão de hemácia de porco a 0,5% em VAD pH 6,0. A placa foi incubada “overnight” na geladeira a 5°C. A leitura foi feita começando pelo controle de hemácias. Foi determinada a maior diluição da amostra viral em que se observava a hemaglutinação total das hemácias. Esta diluição correspondia a 1 UHA/50µL.

As 8 unidades hemaglutinantes (UHA) a serem utilizadas no HI foi feita dividindo-se o título do HA por 8.

Esse teste foi feito com duas repetições, da mesma maneira. Porém, na primeira vez foi utilizado vírus vacinal e na segunda foi utilizado vírus de campo.

4.9. Preparo da suspensão de Caolim (Reagem) a 25%

Foram pesados 2,5g de caolim e colocados em um tubo de centrífuga graduado (Falcon) de plástico. Foram adicionados 5mL de BBS, homogeneizados e completado o volume para 10 mL com BBS. A solução foi estocada na geladeira até o momento do uso, quando homogeneizou-se novamente.

4.10. Tratamento do soro canino

O soro foi inativado colocando-o a 56°C durante 30 minutos em banho-maria. Dilui-se o soro em 1:5 com BBS. Foi adicionado igual volume de suspensão de

caolim a 25% (após o tratamento com caolim o soro fica diluído a 1:10). Misturou-se e incubou durante 30 minutos à temperatura ambiente, homogeneizando-se de 5 em 5 minutos. Foi feita uma centrifugação a 5000g durante 10 minutos. Coletou-se o sobrenadante para outro tubo.

Adicionou-se ao soro tratado com caolim a suspensão de hemácia a 50% em VAD pH 6,0. Homogeneizou-se e incubou durante 1 hora na geladeira, homogeneizando-se de 10 em 10 minutos. Foi feita uma centrifugação a 5000g durante 10 minutos.

Coletou-se o sobrenadante, que é o soro tratado diluído a 1:10. Foram feitas alíquotas em eppendorfs que foram estocados no congelador a -10°C .

4.11. Teste de inibição da hemaglutinação (HI) para parvovírus canino

Foram adicionados 25 μL de BABS nos orifícios da microplaca (96 pocinhos) das fileiras 2 até 11. Na fileira 12 foram adicionados 50 μL de BABS até a letra F. Nas letras G e H foram adicionados 25 μL de BABS. Foram adicionados 25 μL de soro tratado nas fileiras 1 e 2. Foram feitas diluições dobradas da fileira 2 até a fileira 10, desprezando-se os 25 μL de soro diluído da fileira 10. Foram adicionados 25 μL de soro nos orifícios G12 e H12 (controles de soro). Adicionaram-se em todos os orifícios das fileiras 1 a 11, 25 μL da amostra viral diluída em BABS para conter 8 UHA do vírus. As placas foram incubadas em câmara úmida na estufa a 37°C por 2 horas. Foram adicionadas em todos os orifícios da microplaca 50 μL da suspensão de hemácias de porco a 0,5% em VAD pH 6,0. As placas foram incubadas “overnight” na geladeira a 5°C .

Esse teste foi feito com duas repetições, da mesma maneira. Porém na primeira vez foi utilizado vírus vacinal e na segunda foi utilizado vírus de campo.

4.12. Análise estatística

O experimento foi conduzido sob o delineamento inteiramente casualizado, DIC, com 30 repetições e 5 tratamentos referentes aos diferentes grupos de cães analisados (A, B, C, D e E).

Os valores observados para o Título foram convertidos em $\text{Log}_{10}(\text{Título})$. Posteriormente, os valores de $\text{Log}_{10}(\text{Título})$ foram submetidos à análise de variância (ANOVA) com posterior aplicação do teste de Tukey a 10% de significância.

Os dados foram classificados em função dos seguintes fatores:

Tabela 1 – Código adotado para os diferentes níveis do fator.

Fator	Níveis do Fator	Código Adotado
Idade (Meses)	6 a 16	I1
	17 a 36	I2
	Acima de 36	I3
Contato	Nunca	C1
	Raro	C2
	Eventual	C3
	Frequente	C4
Última Dose (Meses)	Até 6	D1
	De 7 a 11	D2
	De 12 a 24	D3
	Acima de 24	D4
Sexo	Macho	M
	Fêmea	F

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Avaliação dos títulos de anticorpos segundo os grupos de cães estudados, utilizando-se amostras de vírus vacinal para o teste de HI

Os valores observados para o título foram convertidos em $\text{Log}_{10}(\text{Título})$ e submetidos a análise de variância (ANOVA), considerando nível de significância $\alpha = 10\%$. A partir desse teste concluiu-se que pelo menos um dos grupos se diferencia dos demais.

Hipóteses

$H_0 : m_A = m_B = m_C = m_D = m_E$

$H_a : \text{Não } H_0$

F calculado	P valor
3,70	0,0067

Logo em seguida, aplicou-se o teste de Tukey, $\alpha = 10\%$, para a diferenciação dos grupos. O grupo de cães não vacinados (grupo E) apresentou menor título médio de anticorpos em comparação a todos os grupos de cães vacinados ($m_E = 1,8261$), conforme a Tabela 2. Porém a média dos títulos do grupo E mostrou-se estatisticamente semelhante aos grupos C e D, que pertencem ao grupo de cães

vacinados em casas agropecuárias e que seguiram corretamente o protocolo e cães vacinados em casas agropecuárias e que não seguiram corretamente o protocolo, respectivamente. Isso mostra que os animais dos grupos A e B que foram vacinados em clínicas particulares apresentaram uma média de título mais alta, sugerindo que os animais desses grupos estão mais bem protegidos contra o parvovírus canino.

A diferença dos grupos A e B em relação aos outros grupos, poderia ser explicada pelos diferentes tipos de cães que freqüentam ambos estabelecimentos. Os cães vacinados em clínicas veterinárias pertencem a proprietários com um melhor poder aquisitivo, considerando o maior custo das vacinas comercializadas nestes estabelecimentos, quando comparados aos cães vacinados em lojas de produtos agropecuários. Conseqüentemente, os primeiros tendem a receber melhor alimentação e cuidados com a saúde, fatores que, segundo POVEY (1986) e OSBURN & STOTT (1989), influenciam positivamente na resposta imunológica. No entanto, esta explicação não se justifica plenamente, pois os animais do grupo A apresentaram média superior e estatisticamente diferente dos grupos D e C, mas já o grupo B apresentou média superior, porém estatisticamente igual aos grupos D e C. Esses dados nos mostram que além dos animais vacinados em clínicas particulares apresentarem média de título mais alta, o cumprimento do protocolo de vacinação também é fator decisivo na influência das médias dos títulos. Sendo os animais que seguiram o protocolo indicado com maior probabilidade de apresentarem títulos mais altos contra o parvovírus canino.

Tabela 2- Média aritmética dos títulos de anticorpos ($\log_{10}$) neutralizantes contra a parvovirose, utilizando-se vírus vacinal no teste de HI.

Média	Valor	Agrupamento de Tukey
$\hat{m}_A$	2,5086	A
$\hat{m}_B$	2,3882	A B
$\hat{m}_D$	2,0470	B C
$\hat{m}_C$	1,8764	B C
$\hat{m}_E$	1,8261	C

Médias seguidas por letras iguais são estatisticamente iguais, e médias seguidas por letras diferentes são estatisticamente diferentes a 10% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Valor Crítico para Teste de Tukey (Δ) = 0,5582.

Como era esperado pela experiência verificada no HOV-UFV, no grupo de cães não vacinados (grupo E), encontrou-se uma grande porcentagem de cães com título de anticorpos (26/30), uma vez que, todos os anos, vários animais são atendidos com diagnóstico clínico de parvovirose, sugerindo que estes cães estariam entrando em contato com o vírus a partir de cães doentes ou com infecção subclínica. Esse fato também pode ser explicado devido à grande resistência que o vírus tem no meio ambiente.

Tabela 3 – Número e percentual de cães pertencentes a cada grupo, segundo variáveis obtidas por meio da aplicação do questionário.

VARIÁVEIS	Grupos				
	A	B	C	D	E
IDADE (meses)					
6 a 16	17 (56,7)	4 (13,3)	26 (86,7)	7 (23,3)	13 (43,3)
17 a 36	6 (20,0)	17 (56,7)	3 (10,0)	15 (50,0)	6 (20,0)
Acima de 36	7 (23,3)	9 (30,0)	1 (3,33)	8 (26,7)	11 (36,7)
CONTATO					
Nunca	4 (13,3)	5 (16,7)	11 (36,7)	6 (20,0)	7 (23,3)
Raro	6 (20,0)	6 (20,0)	9 (30,0)	3 (10,0)	3 (10,0)
Eventual	16 (53,3)	12 (40,0)	4 (13,3)	6 (20,0)	4 (13,3)
Frequente	4 (13,3)	7 (23,3)	6 (20,0)	15 (50,0)	16 (53,3)
ÚLT. DOSE (meses)					
Até 6	17 (56,7)	2 (6,70)	17 (56,7)	3 (10)	-
De 7 a 11	13 (43,3)	3 (10)	13 (43,3)	4 (13,3)	-
De 12 a 24	-	22 (73,3)	-	11 (36,7)	-
Acima de 24	-	3 (10)	-	12 (40)	-
SEXO					
Machos	13 (43,3)	15 (50,0)	15 (50,0)	16 (53,3)	12 (40)
Fêmeas	17 (56,7)	15 (50,0)	15 (50,0)	14 (46,7)	18 (60)
TÍTULO					
Negativo	0 (00,0)	0 (00,0)	4 (13,3)	3 (10,0)	4 (13,3)
< nível protetor (1:80)	3 (10,0)	6 (20,0)	8 (26,7)	8 (26,7)	10 (30,0)
> nível protetor (1:80)	27 (90,0)	24 (80,0)	18 (60,0)	19 (63,3)	16 (53,3)

A = cães vacinados em clínicas veterinárias seguindo o protocolo indicado na literatura; B = cães vacinados em clínicas veterinárias não seguindo o protocolo indicado na literatura; C = cães vacinados em lojas de produtos agropecuários seguindo o protocolo indicado na literatura; D = cães vacinados em lojas de produtos agropecuários não seguindo o protocolo indicado na literatura; E = cães não vacinados.

O presente estudo não teve como objetivo traçar o perfil epidemiológico em relação à prevalência dos títulos de anticorpos na população canina do município. No entanto, de acordo com as observações citadas, é possível sugerir que o vírus da parvovirose esteja ocorrendo de forma endêmica no município de Viçosa-MG, ao contrário do vírus da cinomose, que também é bastante diagnosticado no HOV-UFV (MONTI, 2004), uma vez que para o vírus da cinomose 77,8% (21/27) dos cães do grupo E que apresentaram títulos negativos, tiveram, em algum momento, contato com outros cães e, portanto, a possibilidade de infecção pelo vírus selvagem.

Uma explicação seria de ambas doenças terem caráter endêmico, porém os cães acometidos com a parvovirose teriam uma maior sobrevivência, ao contrário da cinomose. Assim, para o vírus da cinomose, a maioria dos cães estaria entrando em contato com o vírus, adoecendo e morrendo, não colaborando com a afirmação de GREENE & APPEL (1990), para os quais até 75% das infecções são subclínicas, com conseqüente produção de anticorpos (APPEL, 1969). Outra explicação seria o fato do vírus da parvovirose (não envelopado) sobreviver muito mais tempo no ambiente que o vírus da cinomose (envelopado), permitindo que algum cão se contamine até meses depois com fezes contaminada pelo primeiro.

O título médio de anticorpos de todos os cães vacinados em clínicas veterinárias, independentemente do protocolo indicado pela literatura (grupos A e B), apresentou uma menor variação se comparados a todos os cães vacinados em lojas que comercializam produtos agropecuários (grupos C e D) e cães que não foram vacinados (grupo E), conforme na figura 1.

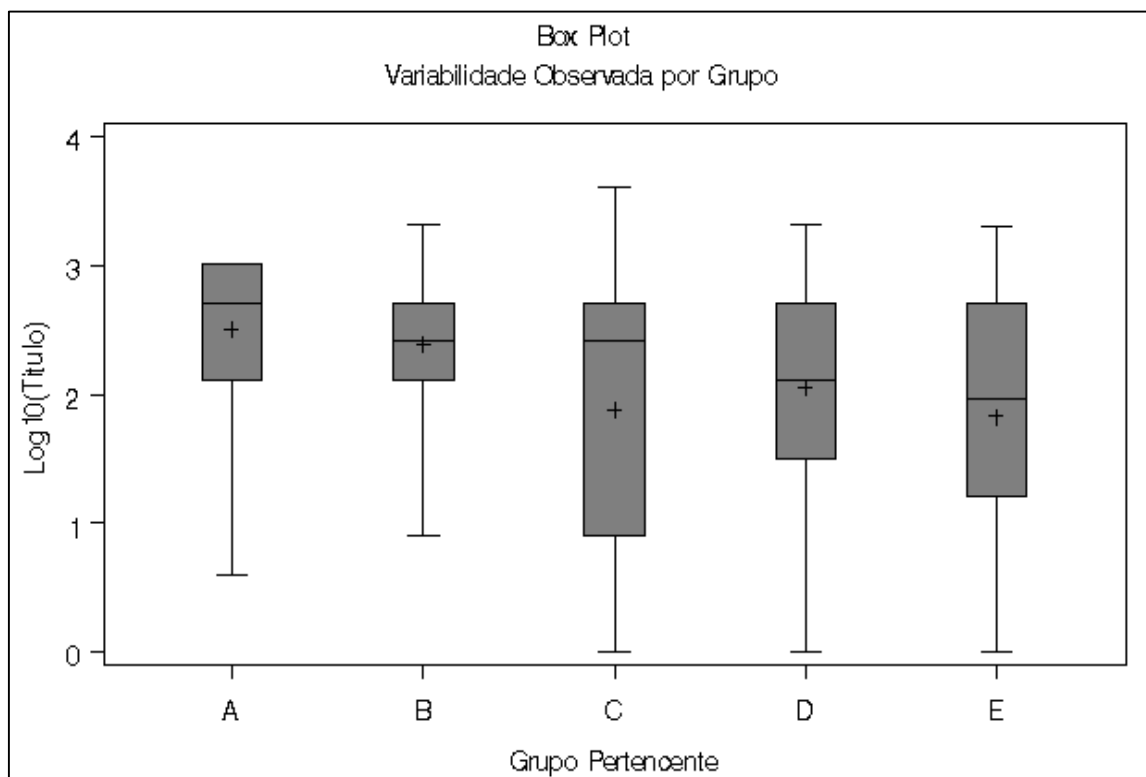


Figura 1 – Variabilidade observada por grupo.

Essa grande variação do grupo E, provavelmente se dá porque no mesmo grupo existem cães que sequer entraram em contato com o antígeno (parvovírus canino) e existem cães que já tiveram contato direto com o vírus selvagem, que em geral promove uma resposta imunológica muito mais elevada que o vírus vacinal, fazendo com que o título de anticorpos no animal fique mais elevado do que aquele que foi submetido a uma vacinação.

Os cães dos grupos C e D podem ter tido também essa grande variação de títulos de anticorpos devido provavelmente a uma menor qualidade das vacinas nas casas agropecuárias. Já que de acordo com TIZARD & NI (1998), vacinas manuseadas e estocadas indevidamente podem resultar em falha vacinal, uma vez que as vacinas contendo vírus vivo atenuado devem ser mantidas sob refrigeração todo o tempo.

Na figura 2, pode-se ter uma idéia geral das porcentagem dos títulos de cada grupo.

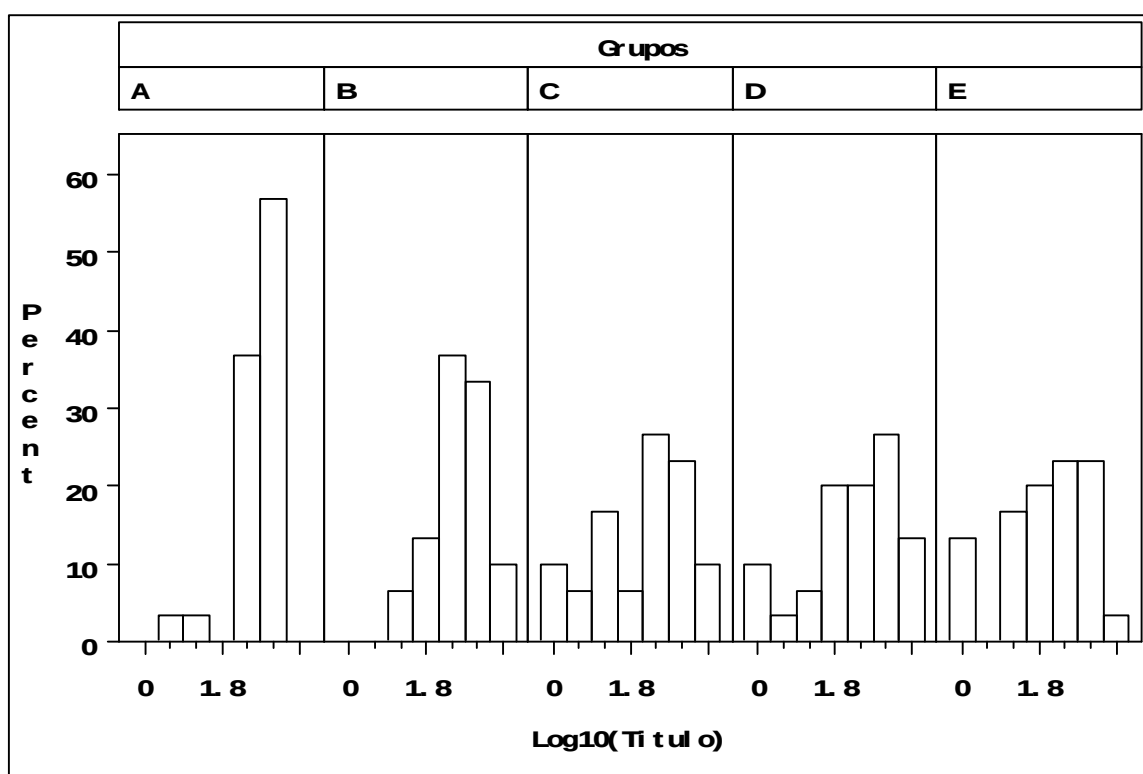


Figura 2 – Porcentagem dos títulos de cada grupo

A figura 3 nos mostra que o grupo A tem uma grande porcentagem de cães com $\text{Log}_{10}(\text{Título})$ igual a 2,4 e maior ainda com $\text{Log}_{10}(\text{Título})$ igual a 3. No grupo B, apesar da porcentagem do $\text{Log}_{10}(\text{Título})$ estar um pouco mais dispersa, ela ainda se concentra principalmente entre $\text{Log}_{10}(\text{Título})$ igual a 2,4 e $\text{Log}_{10}(\text{Título})$ igual a 3.

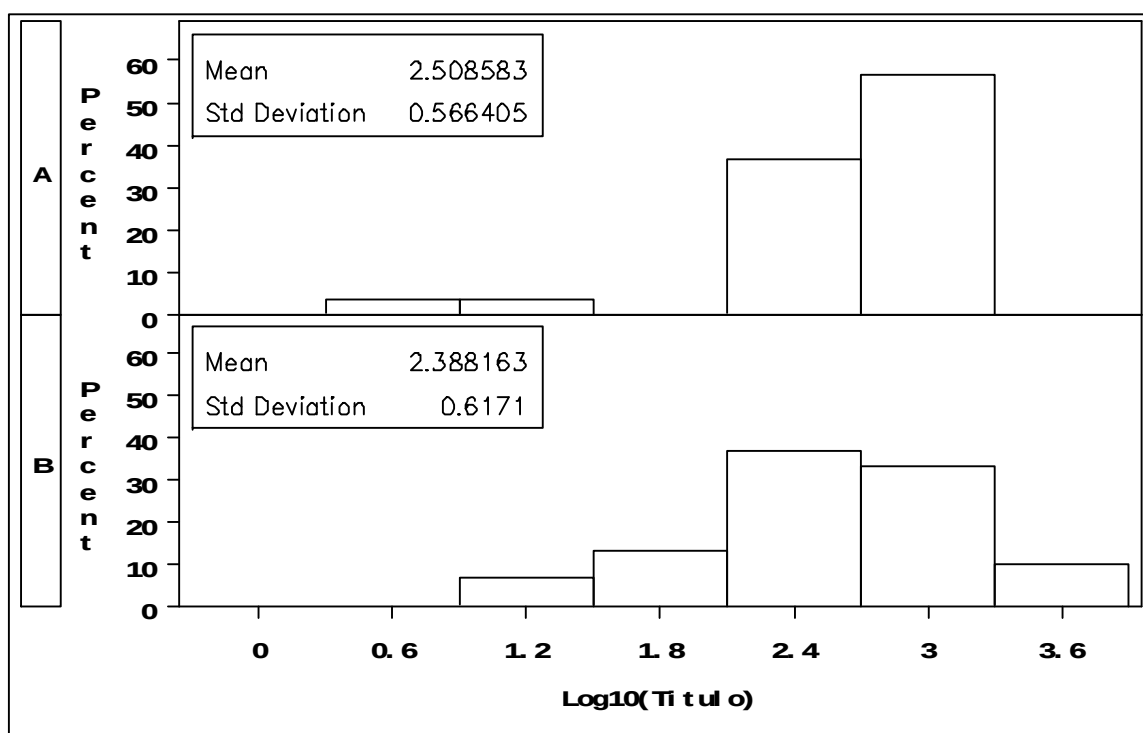


Figura 3 – Porcentagem dos títulos de anticorpos para os grupos A e B.

Já nos grupos C, D e E ocorre uma grande dispersão das porcentagens, como se pode ver na figura 4, aparecendo uma grande porcentagem de cães com $\text{Log}_{10}(\text{Título})$ igual a 0, que são cães sem qualquer título de anticorpos e ao mesmo tempo também aparece uma grande porcentagem de cães com $\text{Log}_{10}(\text{Título})$ igual a 3,6, que seriam cães com título de anticorpos bastante elevados.

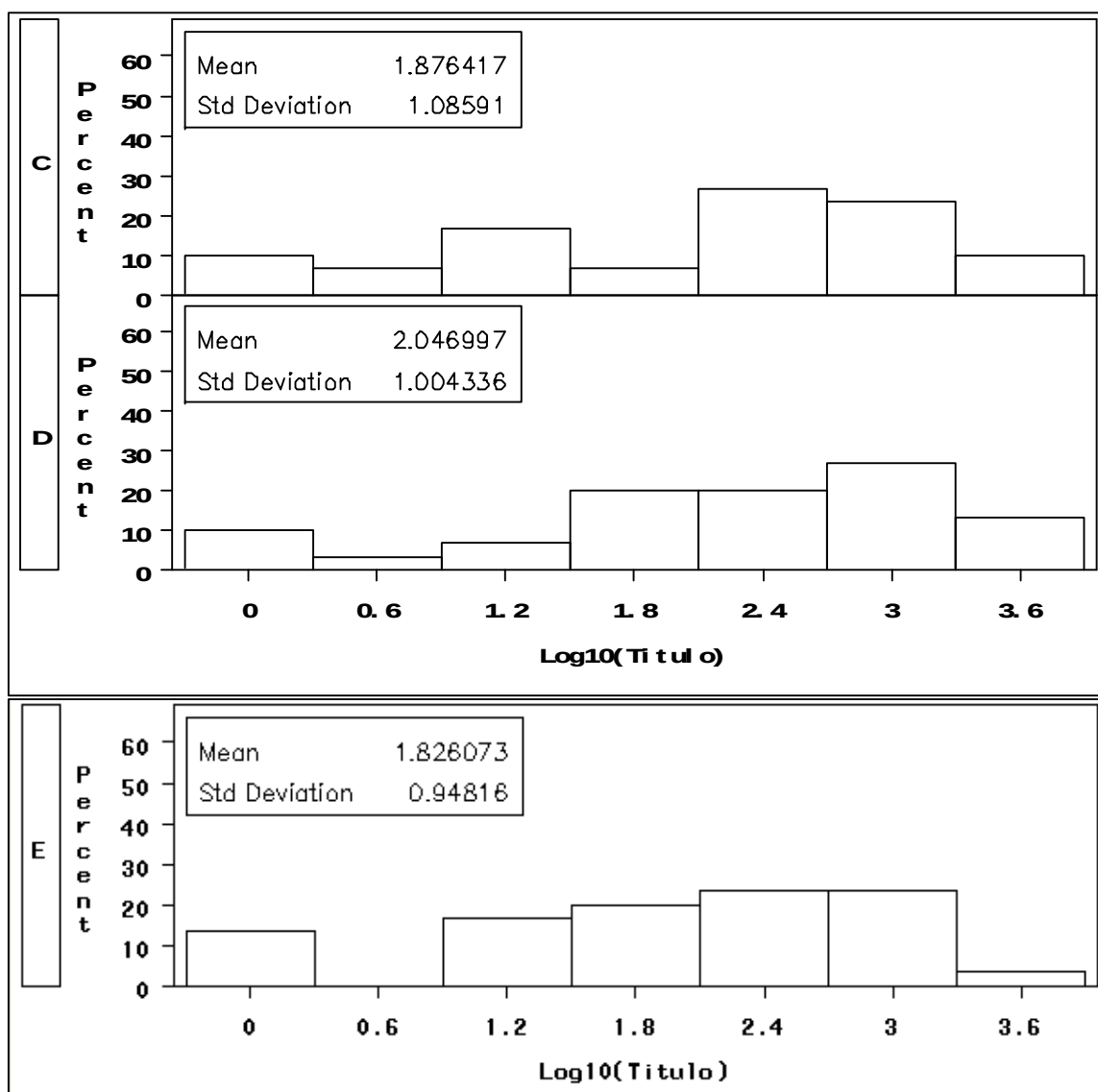


Figura 4 – Porcentagem dos títulos de anticorpos para os grupos C, D e E.

Vários trabalhos publicados, que mensuraram os anticorpos contra parvovirose por meio da inibição da hemaglutinação (HI), consideraram protegidos os cães que desenvolveram títulos de anticorpos a partir de 1: 80 (BUONAVOGLIA et al.,1992).

As porcentagens de títulos negativos encontradas em todos os grupos de cães nos mostram que os cães que foram vacinados em clínica particular, seguindo ou

não o protocolo, não tiveram nenhum título negativo, o que já ocorreu no grupo de cães vacinados em casa agropecuárias, seguindo ou não o protocolo, e cães que não foram vacinados : grupo A = 0% (0/30), B = 0% (0/30), C = 13,3% (4/30), D = 10% (3/30), E = 13,3% (4/30) como demonstrado pela tabela 3. Além disso, os cães vacinados em clínicas particulares, seguindo ou não o protocolo, apresentaram uma porcentagem dos títulos de anticorpos neutralizantes considerados protetores pela literatura (> 80) bem mais elevada que os cães vacinados em casas agropecuárias, seguindo ou não o protocolo, e que os cães que não foram vacinados: grupo A = 90% (27/30), B = 80% (24/30), C = 60% (18/30), D = 63,3% (19/30) e E = 53,3% (16/30).

Nenhuma vacina imuniza 100% de uma população, devido entre outros fatores, às variações biológicas (GREENE, 1990). RIKULA et al. (2000) afirmaram que uma vacina suficientemente imunogênica deveria produzir uma pequena proporção de cães sem títulos de anticorpos e um aumento na proporção de cães com níveis altos. A amostragem realizada não permite que sejam feitas inferências sobre a população canina de Viçosa-MG, dessa forma, pesquisas devem ser desenvolvidas para avaliar a imunogenicidade das vacinas comercializadas atualmente, tanto em clínicas veterinárias quanto em lojas de produtos agropecuários, levando em consideração a importante afirmação de RIKULA et al. (2000) de que a performance de qualquer vacina deve ser testada em ensaios de campo e não somente no laboratório.

A maioria das vacinas contra parvovirose comercializadas atualmente é polivalente, o que, segundo DAVIES & PIDFORD (1991), compromete o desenvolvimento de uma adequada resposta imunológica. Estes autores sugeriram que vacinas com múltiplos componentes devem ser usadas com cautela, pois demonstraram que uma vacina contendo cinco antígenos diferentes, incluindo o da parvovirose, promove uma menor resposta no título de anticorpos contra todos os antígenos, quando comparada à aplicação de uma vacina com quantidade menor de antígenos. Também para SCHULTZ (1995), quanto mais componentes são

combinados em uma única vacina, maior será a interferência de um antígeno com outro. Neste caso, há competição entre as células apresentadoras de antígeno, podendo impedir que o animal responda normalmente a cada um deles.

Porém pode-se afirmar, nas condições do presente estudo, que a vacinação ainda é uma ferramenta importante para a prevenção da parvovirose, considerando a diferença entre cães vacinados e não vacinados.

5.2. Avaliação dos títulos de anticorpos segundo a idade

Para se avaliar os títulos de anticorpos segundo a idade, os resultados foram novamente submetidos à análise de variância (ANOVA), considerando nível de significância $\alpha = 10\%$.

Hipóteses

1) Idade

$H_0 : m_{I1} = m_{I2} = m_{I3}$

$H_a : \text{Não } H_0$

Para o grupo A:

	F calculado	P valor
CV = 23,81%	0,01	0,9890

Para o grupo B:

	F calculado	P valor
CV = 29,65%	0,15	0,8602

Para o grupo C:

	F calculado	P valor
CV = 51,51%	0,68	0,5192

Para o grupo D:

F calculado	P valor
0,51	
	0,5836

CV = 45,50%

Para o grupo E:

F calculado	P valor
0,79	0,4639

CV = 55,51%

Portanto, conclui-se a 10% de probabilidade pelo teste F que as médias de todos grupos são estatisticamente iguais, significando que a idade não influenciou no título de anticorpos para nenhum grupo.

A interferência dos anticorpos maternos, que poderia estar presente nestes animais no momento da imunização inicial, parece não ter tido nenhuma influência significativa, uma vez que, segundo POVEY (1986) e GREENE (1990), a vacinação na presença de anticorpos maternos é a causa mais comum de interferência vacinal em animais jovens.

A idade exata na qual os filhotes perdem a sua proteção maternal e tornam-se capazes de desenvolver uma imunidade ativa, varia em cada ninhada (BAKER et al., 1959). Estes autores consideraram que o momento para vacinar uma ninhada deve ser aquele em que todos os filhotes estiverem com títulos de anticorpos maternos abaixo de 1:20, porém, nem todos os filhotes da ninhada perdem sua proteção exatamente ao mesmo tempo.

Para todos grupos, não foi encontrado modelo que explicasse a variação da idade em função do título.

5.3. Avaliação dos títulos de anticorpos segundo a frequência de contato com outros cães.

Para se avaliar os títulos de anticorpos segundo a frequência de contato com outros cães, os resultados também foram submetidos à análise de variância (ANOVA), considerando nível de significância $\alpha = 10\%$.

Hipóteses

2) Contato

$H_0 : m_{C1} = m_{C2} = m_{C3} = m_{C4}$

$H_a : \text{Não } H_0$

Para o grupo A:

F calculado	P valor
0,61	0,6159

CV = 23,81%

Para o grupo B:

F calculado	P valor
0,24	0,8708

CV = 29,65%

Para o grupo C:

F calculado	P valor
2,94	0,0558

CV = 51,51%

Portanto, conclui-se a 10% de probabilidade pelo teste F que pelo menos uma das médias se diferencia das demais.

Aplicação do Teste de Tukey a 10% de probabilidade:

Hipóteses

$H_0 : m_i = m_j$

$H_a : m_i \neq m_j \text{ para } (i \neq j)$

Tabela 4 – Média dos títulos de anticorpos do grupo C segundo a frequência dos contatos

Média	Valor	Agrupamento de Tukey
$\hat{m}_{C4}$	2,8598	A
$\hat{m}_{C3}$	2,2577	A B
$\hat{m}_{C1}$	1,5746	B
$\hat{m}_{C2}$	1,3761	B

Médias seguidas por letras iguais são estatisticamente iguais, e médias seguidas por letras diferentes são estatisticamente diferentes a 10% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Para o grupo D:

F calculado	P valor
1,03	0,3995

CV = 45,50%

Para o grupo E:

F calculado	P valor
0,30	0,8275

CV = 55,51%

Portanto, conclui-se a 10% de probabilidade pelo teste F que as médias dos grupos A, B, D e E são estatisticamente iguais, significando que o contato não influenciou no título de anticorpos para esses grupos.

Já no grupo C o contato parece ter influenciado nas médias dos títulos. De acordo com a tabela 4, os cães que tiveram contato freqüente com outros cães apresentaram maior título médio (2,8598), se diferenciando estatisticamente dos cães que nunca tiveram contato (1,5746) ou que o contato foi raro (1,3761), porém não houve diferença estatística dos cães que tiveram contato eventual (2,2577).

Isso se deve provavelmente pelo contato que os cães tem com o vírus selvagem. O cão que tem contato freqüente com outros cães tem uma maior chance

de se deparar com o vírus selvagem, ocorrendo uma promiscuidade do vírus entre esses cães, fazendo com que o título de anticorpos seja maior para esse grupo.

Porém o contato não é fator decisivo já que a maioria dos cães do grupo E (não-vacinados) que nunca tiveram contato com outros cães apresentaram título de anticorpos contra o mesmo. A causa desse acontecimento se dá por vários motivos, como por exemplo:

- O dono do animal pode ter tido contato com algum cão contaminado, carregando o vírus em seu corpo ou na sua roupa e passando para seu cão posteriormente;
- O dono do animal pode ter pisado por acidente em fezes de algum animal contaminado, carregando assim o vírus para dentro de sua casa;
- Utilização de utensílios de um cão contaminado em um não contaminado;
- Podemos citar a água também como um agente carreador do vírus.

5.4. Avaliação dos títulos de anticorpos segundo o tempo decorrido desde a última dose da vacina.

Para se avaliar os títulos de anticorpos segundo o tempo decorrido desde a última dose da vacina, os resultados também foram submetidos à análise de variância (ANOVA), considerando nível de significância $\alpha = 10\%$.

Hipóteses para os grupos A e C

3a) Tempo da Última Dose

$H_0 : m_{D1} = m_{D2}$

$H_a : \text{Não } H_0$

Para o grupo A:

F calculado	P valor
0,13	0,7169

CV = 23,81%

Para o grupo C:

F calculado	P valor
0,01	0,9438

CV = 51,51%

Portanto, conclui-se a 10% de probabilidade pelo teste F que as médias são estatisticamente iguais, ou seja, para os animais que seguiram o protocolo de vacinação, se eles foram vacinados até 6 meses atrás ou se eles foram vacinados do período de 7 à 11 meses atrás, isso não influenciou no título de anticorpos contra o vírus.

Hipóteses para os grupos B e D

3b) Tempo da Última Dose

$H_0: m_{D1} = m_{D2} = m_{D3} = m_{D4}$

$H_a: \text{Não } H_0$

Para o grupo B:

F calculado	P valor
0,08	0,97

CV = 29,65%

Pelo teste F a 10% de probabilidade, as médias são estatisticamente iguais. De acordo com esses dados, os cães vacinados em clínicas veterinárias não tiveram o tempo da última dose como fator preponderante na influência do título de anticorpos.

Para o grupo D:

F calculado	P valor
3,79	0,0394

CV = 45,50%

Portanto, conclui-se a 10% de probabilidade pelo teste F que pelo menos uma das médias se diferencia das demais.

Aplicação do Teste de Tukey a 10% de probabilidade:

Hipóteses

$H_0 : m_i = m_j$

$H_a : m_i \neq m_j$ para $(i \neq j)$

Tabela 5 – Média dos títulos de anticorpos do grupo D segundo o tempo decorrido desde a última dose da vacina.

Média	Valor	Agrupamento de Tukey
$\hat{m}_{D2}$	2,5588	A
$\hat{m}_{D3}$	2,4356	A
$\hat{m}_{D4}$	1,8313	A B
$\hat{m}_{D1}$	0,8027	B

Médias seguidas por letras iguais são estatisticamente iguais, e médias seguidas por letras diferentes são estatisticamente diferentes a 10% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

De acordo com a tabela 5, para o grupo D, aqueles que foram vacinados entre o período de 6 à 11 meses atrás obtiveram o maior título médio, porém estatisticamente igual aos que foram vacinados no período de 12 à 24 meses atrás e aos que foram vacinados num período superior à 24 meses.

5.5. Avaliação dos títulos de anticorpos segundo os grupos de cães estudados, utilizando-se amostras de vírus de campo para o teste de HI.

Os valores dos títulos de anticorpos utilizando-se amostras de vírus de campo foram avaliados da mesma forma que os valores dos títulos de anticorpos utilizando-se amostras de vírus vacinal, os quais foram convertidos em $\text{Log}_{10}(\text{Título})$ e submetidos a análise de variância (ANOVA), considerando nível de significância $\alpha = 10\%$. A partir desse teste concluiu-se também que pelo menos um dos grupos se diferencia dos demais.

Hipóteses

$H_0 : m_A = m_B = m_C = m_D = m_E$

$H_a : \text{Não } H_0$

	F calculado	P valor
	3,41	0,0107
CV = 38,64 %		

Logo em seguida, aplicou-se o teste de Tukey, $\alpha = 10\%$, para a diferenciação dos grupos. Novamente o grupo de cães não vacinados (grupo E) apresentou menor título médio de anticorpos em comparação a todos os grupos de cães vacinados ($m_E = 1,8664$), conforme a tabela 6.

A média dos títulos do grupo E mostrou-se mais uma vez estatisticamente semelhante aos grupos C e D, que pertencem ao grupo de cães vacinados em casas agropecuárias e que seguiram corretamente o protocolo e cães vacinados em casas agropecuárias e que não seguiram corretamente o protocolo, respectivamente. Mais uma vez os animais dos grupos A e B que foram vacinados em clínicas particulares apresentaram uma média de título mais alta, apesar de nesse caso eles estarem estatisticamente semelhantes ao grupo D. Essa equivalência nos dados da avaliação do título de anticorpos utilizando-se amostras vacinais e amostras de campo, nos mostra que a vacina utilizada no mercado está sendo eficiente e reforça ainda a idéia de que a técnica foi bem empregada durante o experimento.

Tabela 6 - Média aritmética dos títulos de anticorpos ($\log_{10}$) neutralizantes contra a parvovirose, utilizando-se vírus de campo no teste de HI.

Média	Valor	Agrupamento de Tukey
$\hat{m}_A$	2,4885	A
$\hat{m}_B$	2,4082	A B
$\hat{m}_D$	2,0871	A B C
$\hat{m}_C$	1,9266	B C
$\hat{m}_E$	1,8664	C

Médias seguidas por letras iguais são estatisticamente iguais, e médias seguidas por letras diferentes são estatisticamente diferentes a 10% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Valor Crítico para Teste de Tukey (Δ) = 0.5341.

5.6. Análise de variância entre os grupos para testar se existe diferença no título de anticorpos em função do vírus empregado na técnica de HI

Grupo A_{VV} vs A_{Vc}

$$H_0 : m_{AVV} = m_{AVc}$$

$$H_a : \text{Não } H_0$$

F calculado	P valor
0,02	0,8808

$$CV = 20,66\%$$

Portanto, conclui-se a 10% de probabilidade pelo teste F que as médias são estatisticamente iguais.

Tabela 7 - Média aritmética dos títulos de anticorpos do grupo A, utilizando-se vírus vacinal e de campo no teste de HI.

Média	Valor	Agrupamento
m _{AVV}	2,5086	A
m _{AVc}	2,4885	A

Grupo B_{VV} vs B_{Vc}

$$H_0 : m_{BVV} = m_{BVc}$$

$$H_a : \text{Não } H_0$$

F calculado	P valor
0,02	0,8959

$$CV = 24,66\%$$

Portanto, conclui-se a 10% de probabilidade pelo teste F que as médias são estatisticamente iguais.

Tabela 8 - Média aritmética dos títulos de anticorpos do grupo B, utilizando-se vírus vacinal e de campo no teste de HI.

Média	Valor	Agrupamento
m_{Bvv}	2,3882	A
m_{Bvc}	2,4082	A

Grupo C_{vv} vs C_{vc}

$$H_0 : m_{Cvv} = m_{Cvc}$$

$$H_a : \text{Não } H_0$$

F calculado	P valor
0,03	0,8580

$$CV = 56,87\%$$

Portanto, conclui-se a 10% de probabilidade pelo teste F que as médias são estatisticamente iguais.

Tabela 9 - Média aritmética dos títulos de anticorpos do grupo C, utilizando-se vírus vacinal e de campo no teste de HI.

Média	Valor	Agrupamento
m_{Cvv}	1,8764	A
m_{Cvc}	1,9266	A

Grupo D_{vv} vs D_{vc}

$$H_0 : m_{Dvv} = m_{Dvc}$$

$$H_a : \text{Não } H_0$$

F calculado	P valor
0,03	0,8749

$$CV = 47,56\%$$

Portanto, conclui-se a 10% de probabilidade pelo teste F que as médias são estatisticamente iguais.

Tabela 10 - Média aritmética dos títulos de anticorpos do grupo D, utilizando-se vírus vacinal e de campo no teste de HI.

Média	Valor	Agrupamento
m_{Dvv}	2,0470	A
m_{Dvc}	2,0871	A

Grupo E_{vv} vs E_{vc}

$H_0 : m_{Evv} = m_{Evc}$

$H_a : \text{Não } H_0$

F calculado	P valor
0,03	0,8681

CV = 50,69%

Portanto, conclui-se a 10% de probabilidade pelo teste F que as médias são estatisticamente iguais.

Tabela 11 - Média aritmética dos títulos de anticorpos do grupo A, utilizando-se vírus vacinal e de campo no teste de HI.

Média	Valor	Agrupamento
m_{Evv}	1,8261	A
m_{Evc}	1,8664	A

Como foi mostrado as tabelas 7, 8, 9 e 10, 11 não ocorreu nenhuma variação estatisticamente significativa entre qualquer grupo de animais, quando utilizado vírus de campo na realização dos testes de HI. Ficando os testes bastante semelhantes aos anteriormente realizados com vírus vacinal.

Isso provavelmente significa que a cepa viral utilizada nas vacinações está sendo condizente com o vírus que é responsável pela parvovirose no Brasil. E o vírus não sofreu nenhuma mutação que o fizesse se diferenciar. Isso já era de certa forma esperado, já que a mutação ocorre com menor frequência em vírus que têm o DNA como seu material genético.

Essa equivalência nos resultados para o mesmo grupo, porém utilizando-se cepas diferentes, pode ser mais facilmente visualizado na figura 5.

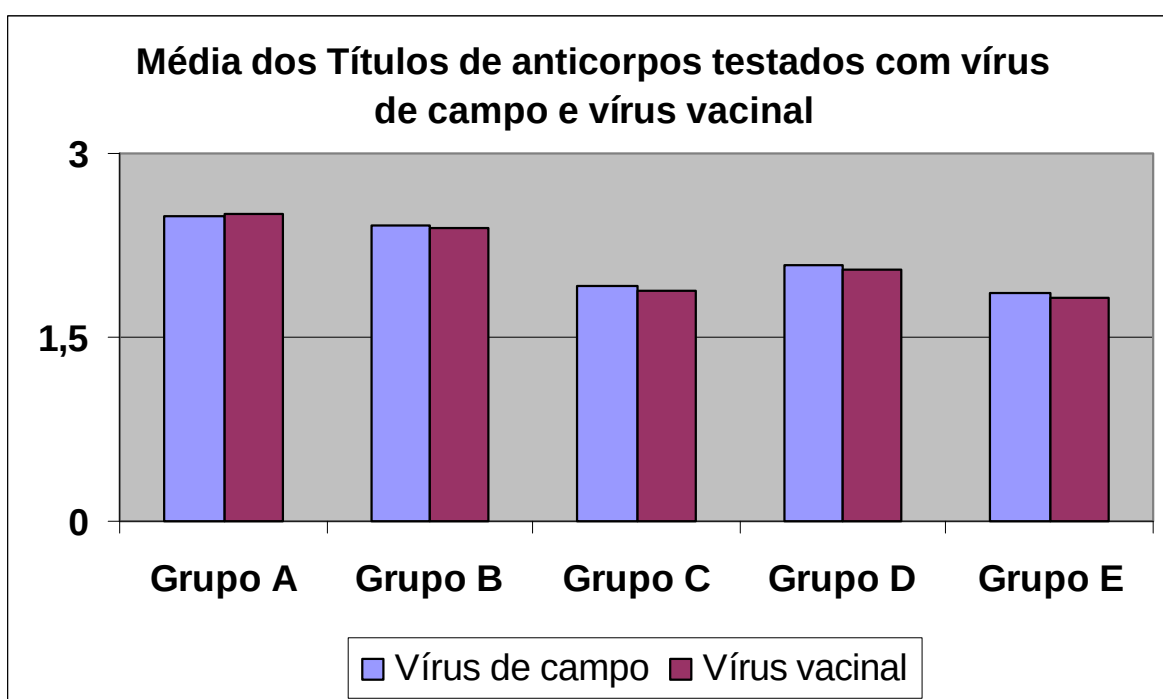


Figura 5 - Média dos títulos de anticorpos no teste de HI realizados com vírus de campo e vírus vacinal para os diferentes grupos.

6. CONCLUSÕES

Nas condições do presente estudo, pôde-se concluir que:

- ✓ Há diferença em vacinar os cães contra parvovirose, em clínicas veterinárias ou em lojas que comercializam produtos agropecuários, porém não podemos afirmar que esses dados estejam associados ao tipo de vacina utilizada ou a forma como a vacinação foi realizada.
- ✓ Os cães vacinados em clínicas particulares apresentaram maiores níveis de anticorpos
- ✓ A vacinação contra parvovirose é importante, considerando que os animais vacinados apresentaram maior título médio de anticorpos.
- ✓ O título de anticorpos contra parvovirose não foi influenciado pelo contato com outros cães, somente no grupo C (animais que foram vacinados em lojas que comercializam produtos agropecuários e que seguiram o protocolo de vacinação) houve alguma influência, ficando com os maiores valores de título médio de anticorpos os animais que tiveram um contato freqüente com outros.
- ✓ Os cães vacinados em clínicas veterinárias, apresentaram uma menor variação no título médio de anticorpos se comparados a todos os cães vacinados em lojas que comercializam produtos agropecuários e cães que não foram vacinados.

- ✓ Não houve variação do título médio de anticorpos no teste de HI utilizando-se vírus vacinal ou vírus de campo.

7. PERSPECTIVAS

O presente estudo não teve o intuito de avaliar diferentes tipos de vacinas em relação a sua eficácia, pois neste aspecto, a comparação da resposta imunológica conferida por vacinas monovalentes e polivalentes seria fundamental.

A padronização de testes laboratoriais acessíveis, objetivando realizar o diagnóstico definitivo nos casos suspeitos de parvovirose, seria uma ferramenta muito útil para as pesquisas e para a clínica de pequenos animais.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APPEL, M.J.G., SCOTT, F.W., CARMICHAEL, L.E. Isolation and immunization studies of a canine parvo-like virus from dogs with haemorrhagic enteritis. **Vet. Rec.**, v. 105, p.156–159, 1979.
- APPEL, M. J. G. Pathogenesis of canine distemper. **Am. J. Vet. Res.**, v. 30, n. 7, p. 1167-1182, 1969.
- BAKER, J. A.; ROBSON, D. S.; GILLESPIE, J. H.; BURGHER, J. A.; DOUGHTY, M. F. A nomograph that predicts the age to vaccinate puppies against distemper. **Cornell Vet.**, v. 49, p. 158-167, 1959.
- BINN, L.N., LAZAR, B.C., EDDY, G.A., KAJIMA, M. Recovery and characterization of a minute virus of canines. **Infect. Immun.** v. 1, p. 503-508, 1970.
- BUONAVOGLIA, C., TOLLIS, M., BUONAVOGLIA, D., PUCCINI, A. Response of pups with maternal derived antibody to modified-live canine parvovirus vaccine. **Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis.** v. 15, n. 4, p. 281-283, 1992.
- CARMICHAEL, L.E., POLLOCK, R.V.H. AND JOUBERT, J.C. Response of puppies to canine-origin parvovirus vaccines. **Mod. Vet. Pratt.**, v. 65, p. 99-102, 1984.
- CHANG, W.L., CHANG, A.C.H., PAN, M.J. Antigenic types of canine parvoviruses prevailing in Taiwan. **Vet. Rec.**, v. 138, p.447, 1996.

- COTMORE, S.E., TATTERSALL, P. The autonomously replicating parvoviruses of vertebrates. **Adv. Virus Res.**, v. 33, p. 91–169, 1987.
- DAVIES, D. H.; PIDFORD, S. Vaccination of dogs with multi-component vaccines. **Austr. Vet. J.**, v. 68, n. 5, p. 183-184, 1991.
- GREENE, C. E. Immunoprophylaxis and immunotherapy. In: **Infect. Dis. of the dog and cat**. Philadelphia: Saunders, 1990, Cap. 2, p. 21-54.
- GREENE, C. E.; APPEL, M. J. Canine distemper. In: **Infect. Dis. of the dog and cat**. Philadelphia: Saunders, 1990, Cap. 16, p. 226-239.
- GREENWOOD, N.M., CHALMERS, W.S.K., BAXENDALE, W., THOMPSON, H. Comparison of isolates of canine parvovirus by monoclonal antibody and restriction enzyme analysis. **Vet. Rec.**, v. 138, p. 495-496, 1996.
- HAGIWARA, M.K., JULY, J.R., BACCARO, M.R., ÂNGELO, M.J.O. Enterite hemorrágica em cães associada infecção por um parvovírus. **Arq. Inst. Biol.**, v. 47, p. 47-49, 1980.
- HIRASAWA, T., YONO, K., MIKAZUKI, K. Detection and genomic analysis of canine parvovirus by the polymerase chain reaction. **J. Vet. Med. Ser. B.**, v. 43, p. 545-554, 1996.
- HOARE, C. M., DEBOUCK, P., WISEMAN, A. Immunogenicity of a low passage, high-titer modified live canine parvovirus vaccine in pups with maternally derived antibodies. **Vaccine**, v. 15, nº3, p. 273-275, 1997
- JONGENEEL, C. V., SAHLI, R., MCMASTER, G. K., AND HIRT, B. A precise map of splice junctions in the mRNA's of minute virus of mice, an autonomous parvovirus. **J. Virol.**, v. 59, p. 564– 573, 1986.
- MARTIN, V., NAJBAR, W., GUEGUEN, S., GROUSSON, D., EUN, H. M., LEBREUX, B., ALBERT, A. Treatment of canine parvoviral enteritis with interferon-omega in a placebo-controlled challenge trial. **Vet. Microbiol**, v. 89, p. 115-127, 2002
- MEUNIER, P.C., GLICKMAN, L.T., APPEL, M.J. AND SHIN, S.J. Canine parvovirus in a commercial kennel: epidemiologic and pathologic findings. **Cornell Vet**, v. 71, p. 96-110, 1981.
- MOCHIZUKI, M., HARASAWA, R., NAKATANI, H. Antigenic and genomic variabilities among recently prevalent parvoviruses of canine and feline origin in Japan. **Vet. Microbiol**, v. 38, p. 1-10, 1993.
- MONTI, F. S. Anticorpos contra o vírus da cinomose em cães vacinados em diferentes estabelecimentos da área urbana de Viçosa/MG, tese de mestrado - curso de pós graduação em veterinária, UFV, 2004.

- OSBURN, B. I.; STOTT, J. L. Immune response to vaccination. **Adv. in Vet. Science and Comparative Med.**, v. 33, p. 93-109, 1989.
- OTT, R. L. Some concepts of canine distemper immunization. **Vet. Med.**, v. 51, p. 427-431, 1956.
- PARKER, J.S., MURPHY, W.J., WANG, D., O'BRIEN, S.J., PARRISH, C.R. Canine and feline parvoviruses can use human or feline transferrin receptors to bind, enter, and infect cells. **J. Virol**, v. 75, p. 3896–3902, 2001.
- PEREIRA C. A. D., MONEZIA T. A., MEHNERTA D. U., D'ANGELOB M., DURIGON E. L. Molecular characterization of canine parvovirus in Brazil by polymerase chain reaction assay. **Vet. Microbiol.**, v. 75, p. 127-133, 2000.
- PARRISH, C.R., O'CONNELL, P.H., EVERMANN, J.F., CARMICHAEL, L.E. Natural variation of canine parvovirus. **Science**, v. 230, p. 1046–1048, 1985.
- PARRISH, C. R., HAVE, P., FOREYT, W. J., EVERMANN, J. F., SENDA, M., AND CARMICHAEL, L. E. The global spread and replacement of canine parvovirus strains. **J. Gen. Virol**, v. 69, p. 1111–1116, 1988.
- PARRISH, C.R., AQUADRO, C.F., STRASSHEIM, M.L., EVERMANN J.F., SGRO, J., MOHAMMED, H.O. Rapid antigenic type replacement and DNA sequence evolution on canine parvovirus. **J. Gen. Virol**, v. 65, p. 6544–6552, 1991.
- POLLOCK, R. V., CARMICHAEL, L. E. Maternally derived immunity to canine parvovirus infection: transfer, decline, and interference with vaccination. **J. Am. Vet. Med. Assoc**, v. 180, p. 37-42, 1982.
- POVEY, R. C. Distemper vaccination of dogs: factors which could cause vaccine failure. **Canad. Vet. J.**, v. 27, p. 321-323, 1986.
- RIKULA, U.; NUOTIO, L.; SIHVONEN, L. Canine distemper virus neutralising antibodies in vaccinated dogs. **Vet. Rec.**, v. 18, p. 598-603, 2000.
- SAGAZIO, P., TEMPESTA, M., BUONAVOGLIA, D., CIRONE, F., BUONAVOGLIA, C. Antigenic characterization of canine parvovirus strains isolated in Italy. **J. Virol. Methods**, v. 73, p. 197-200, 1998.
- SCHULTZ, R. D. Vaccine Failure. In: SMITH, C. A. Are we vaccinating too much? **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 207, n. 4, p. 421-425, 1995.
- STEINEL, A., VENTER, E.H., VAN VUUREN, M., PARRISH, C.R., TRUYEN, U. Antigenic and genetic analysis of canine paroviruses in southern Africa. Onderstepoort **J. Vet. Res**, v. 65, p. 239–242, 1998.

- SUIKKANEN, S., SÄÄJÄRVI, K., HIRSIMÄKI, J., VALILEHTO, O., REUNANEN, H., VIHINEN-RANTA, M., VUENTO, M. Role of recycling endosomes and lysosomes in dynein-dependent entry of canine parvovirus. **J. Virol**, v. 76, p. 4401–4411, 2002.
- SWANGO, L. J. Moléstias Virais Caninas. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária- moléstias do cão e do gato**. 4ª ed. São Paulo: Manole, 1997. Cap.69, p. 573-588.
- TIZARD, I.; NI, Y. Use of serologic testing to assess immune status of companion animals. *Journal of American Vet. Med. Assoc.*, v. 213, n. 1, p. 54-60, 1998.
- TRUYEN, U., EVERMANN, J. F., VIELER, E., AND PARRISH, C. R. Evolution of canine parvovirus involved loss and gain of feline host range. **Virology**, v. 215, p. 186–189, 1996.
- VIHINEN-RANTA, M., WANG, D., WEICHERT, W.S., PARRISH, C.R. The VP1 N-terminal sequence of canine parvovirus affects nuclear transport of capsids and efficient cell infection. **J. Virol**, v. 76, n.4, p. 1884–1891, 2002.
- WEBSTER, A. C. The adverse effect of environment on the response to distemper vaccination. **Austr. Vet. J.**, v. 51, p. 488-490, 1975.
- YBANEZ, R.R., VELA, C., CORTES, E., SIMARRO, I., CASAL, J.I. Identification of types of canine parvovirus circulating in Spain. **Vet. Rec.**, v. 136, p.174–175, 1995.
- YULE, T. D., ROTH, M. B., DREIER, K., JOHNSON, A. F., DENSMORE, M. P., SIMMONS, K., FANTON, R. Canine parvovirus vaccine elicits protection from the inflammatory and clinical consequences of the disease. **Vaccine**, v. 15, nº 6/7, p. 720-729, 1997

9. APÊNDICE

Tabela 12 – Título de anticorpos, utilizando-se o vírus vacinal no teste de HI, contra a parvovirose no soro de cães vacinados em clínicas veterinárias, seguindo o protocolo indicado (Grupo A), e respectivas características avaliadas por meio de questionário

Cão	Raça	Idade Meses	Sexo	Contato	Dose N ^o	Ultima Dose Meses	Título
A1	G. Retriever	11	M	Nunca	3	8	256
A2	Labrador	13	M	Eventual	3	9	1024
A3	Rottweiler	10	M	Nunca	3	5	512
A4	Lhasa Apso	14	F	Eventual	3	11	1024
A5	Bernese	13	M	Raro	3	9	512
A6	Pitbull	8	M	Raro	3	5	1024
A7	Basset Hound	22	F	Eventual	4	6	1024
A8	Poodle	18	M	Nunca	4	2	128
A9	Dog Alemão	8	F	Frequente	3	4	512
A10	SRD	13	F	Frequente	3	9	512
A11	Rottweiler	39	F	Frequente	6	11	128
A12	Schnauzer	32	F	Eventual	5	3	256
A13	Rottweiler	22	F	Eventual	4	6	1024
A14	Labrador	10	F	Eventual	3	6	1024
A15	Bernese	9	F	Frequente	3	5	16
A16	Boxer	42	M	Raro	6	2	512
A17	Bernese	12	F	Eventual	3	8	4
A18	Bernese	12	F	Eventual	3	8	128
A19	Bernese	60	F	Eventual	7	6	128
A20	Bernese	72	M	Eventual	8	9	1024
A21	Bernese	48	F	Eventual	6	9	512
A22	Labrador	12	F	Eventual	3	8	1024
A23	Dobermann	17	M	Eventual	6	4	256
A24	SRD	6	M	Raro	3	2	128
A25	Labrador	15	F	Eventual	3	10	128
A26	Boxer	30	M	Eventual	6	3	1024
A27	Pitbull	13	M	Raro	3	8	1024
A28	Boxer	10	M	Eventual	3	7	512
A29	SRD	72	F	Nunca	9	3	128
A30	Schnauzer	18	F	Eventual	4	2	256

Tabela 13 – Título de anticorpos, utilizando-se o vírus vacinal no teste de HI, contra a parvovirose no soro de cães vacinados em clínicas veterinárias, não seguindo o protocolo indicado (Grupo B), e respectivas características avaliadas por meio de questionário

Cão	Raça	Idade Meses	Sexo	Contato	Dose Nº	Ultima Dose Meses	Título
B1	Cocker Spaniel	21	M	Nunca	3	17	128
B2	SRD	24	F	Nunca	3	19	64
B3	Labrador	24	M	Eventual	3	20	256
B4	Dog Alemão	40	M	Eventual	4	24	32
B5	Schnauzer	43	F	Nunca	5	18	512
B6	São Bernardo	62	F	Raro	6	18	8
B7	Labrador	59	M	Eventual	6	18	1024
B8	Cocker Spaniel	24	F	Raro	2	24	128
B9	Labrador	19	F	Eventual	3	14	512
B10	SRD	53	M	Raro	3	47	1024
B11	Mastiff Inglês	26	M	Frequente	3	22	256
B12	Poodle	42	M	Frequente	3	38	16
B13	Boxer	20	M	Eventual	3	15	64
B14	Teckel	26	M	Eventual	3	22	256
B15	SRD	26	F	Raro	5	15	2048
B16	SRD	26	F	Raro	5	15	2048
B17	SRD	18	M	Eventual	3	15	512
B18	SRD	24	M	Eventual	3	21	256
B19	SRD	24	F	Eventual	3	22	1024
B20	SRD	24	F	Raro	3	21	32
B21	SRD	16	M	Frequente	1	13	128
B22	SRD	10	F	Frequente	1	6	128
B23	Teckel	29	M	Nunca	3	24	1024
B24	Schnauzer	60	F	Eventual	8	14	2048
B25	SRD	72	F	Eventual	4	14	512
B26	SRD	34	M	Nunca	2	28	128
B27	SRD	12	F	Frequente	1	4	512
B28	Pitbull	14	M	Raro	2	11	128
B29	SRD	60	F	Frequente	1	8	256
B30	SRD	24	F	Frequente	1	8	512

Tabela 14 – Título de anticorpos, utilizando-se o vírus vacinal no teste de HI, contra a parvovirose no soro de cães vacinados em lojas de produtos agropecuários, seguindo o protocolo indicado (Grupo C), e respectivas características avaliadas por meio de questionário

Cão	Raça	Idade Meses	Sexo	Contato	Dose Nº	Ultima Dose Meses	Título
C1	Poodle	36	F	Frequente	5	4	256
C2	SRD	15	M	Nunca	3	8	256
C3	Pastor Alemão	12	M	Frequente	2	8	4096
C4	SRD	48	F	Nunca	7	2	256
C5	SRD	12	F	Nunca	3	6	256
C6	Poodle	6	F	Raro	2	2	8
C7	Pitbull	12	M	Nunca	3	9	512
C8	SRD	16	M	Nunca	3	11	64
C9	Pitbull	12	M	Frequente	3	7	2048
C10	SRD	24	F	Nunca	4	7	2
C11	Pinsher	7	F	Frequente	3	4	512
C12	Poodle	11	F	Nunca	3	8	128
C13	Akita	9	F	Eventual	3	5	2048
C14	Pitbull	11	M	Eventual	3	7	512
C15	SRD	10	M	Frequente	3	7	512
C16	SRD	8	F	Nunca	3	4	8
C17	Pitbull	8	F	Raro	3	4	32
C18	Pitbull	7	M	Raro	3	3	512
C19	SRD	12	M	Eventual	3	8	8
C20	SRD	6	M	Raro	3	2	1
C21	Pitbull	9	F	Nunca	3	5	1
C22	Poodle	8	M	Raro	3	4	2
C23	Boxer	32	M	Raro	5	4	512
C24	Poodle	11	F	Nunca	3	8	1
C25	Pitbull	10	F	Nunca	3	4	256
C26	SRD	7	M	Raro	3	3	8
C27	SRD	12	M	Frequente	3	8	256
C28	Teckel	7	F	Raro	3	3	512
C29	Teckel	16	F	Raro	4	3	8
C30	Poodle	14	F	Eventual	2	10	128

Tabela 15 – Título de anticorpos, utilizando-se o vírus vacinal no teste de HI, contra a parvovirose no soro de cães vacinados em lojas de produtos agropecuários, não seguindo o protocolo indicado (Grupo D), e respectivas características avaliadas por meio de questionário

Cão	Raça	Idade Meses	Sexo	Contato	Dose Nº	Ultima Dose Meses	Título
D1	SRD	29	F	Eventual	3	24	32
D2	SRD	17	M	Frequente	3	14	256
D3	SRD	10	M	Frequente	1	4	256
D4	SRD	11	M	Nunca	1	9	512
D5	Boxer	42	F	Raro	3	36	16
D6	SRD	48	M	Frequente	3	43	32
D7	SRD	19	M	Frequente	3	15	32
D8	SRD	12	M	Frequente	1	10	128
D9	SRD	67	F	Nunca	5	36	1024
D10	SRD	12	F	Eventual	1	9	128
D11	SRD	27	M	Frequente	2	24	128
D12	Boxer	7	M	Frequente	1	3	1
D13	SRD	21	F	Nunca	3	16	2048
D14	SRD	28	F	Frequente	2	24	512
D15	SRD	60	F	Nunca	3	54	16
D16	Pinsher	41	M	Nunca	3	36	2
D17	SRD	42	F	Frequente	3	36	64
D18	Rottweiler	10	M	Raros	2	7	2048
D19	Pitbull	30	F	Eventual	3	24	512
D20	SRD	48	F	Frequente	3	42	128
D21	Pitbull	6	M	Frequente	1	4	1
D22	Pitbull	24	M	Frequente	2	27	1024
D23	SRD	36	F	Raro	2	34	512
D24	SRD	30	F	Eventual	2	28	1
D25	SRD	26	M	Eventual	3	18	512
D26	SRD	24	M	Frequente	3	18	2048
D27	Labrador	48	M	Frequente	3	42	2048
D28	Boxer	18	F	Eventual	3	12	64
D29	SRD	60	F	Nunca	5	36	64
D30	Pitbull	21	M	Frequente	2	18	512

Tabela 16 – Título de anticorpos, utilizando-se o vírus vacinal no teste de HI, contra a parvovirose no soro de cães não vacinados (Grupo E), e respectivas características avaliadas por meio de questionário

Cão	Raça	Idade Meses	Sexo	Contato	Título
E1	Pinsher	24	F	Freqüente	2024
E2	SRD	36	M	Nunca	256
E3	SRD	18	F	Freqüente	64
E4	SRD	60	F	Nunca	128
E5	SRD	12	F	Freqüente	64
E6	SRD	24	M	Raro	16
E7	SRD	45	F	Freqüente	512
E8	SRD	60	F	Nunca	256
E9	SRD	12	M	Nunca	1024
E10	SRD	48	F	Raro	256
E11	SRD	13	F	Freqüente	256
E12	SRD	12	F	Freqüente	8
E13	SRD	9	F	Eventual	16
E14	SRD	6	F	Freqüente	32
E15	SRD	24	M	Nunca	1
E16	SRD	8	M	Freqüente	512
E17	SRD	6	F	Nunca	1
E18	Dobermann	6	F	Nunca	512
E19	SRD	60	M	Freqüente	512
E20	SRD	24	F	Freqüente	512
E21	SRD	36	M	Eventual	16
E22	SRD	60	F	Eventual	32
E23	SRD	60	M	Freqüente	64
E24	SRD	48	F	Freqüente	128
E25	SRD	12	M	Eventual	512
E26	SRD	11	F	Freqüente	1
E27	SRD	12	M	Freqüente	256
E28	SRD	72	M	Raro	16
E29	SRD	48	M	Freqüente	64
E30	SRD	8	F	Freqüente	1

Tabela 17 – Título de anticorpos, utilizando-se o vírus de campo no teste de HI, contra a parvovirose no soro de cães vacinados em clínicas veterinárias, seguindo o protocolo indicado (Grupo A), e respectivas características avaliadas por meio de questionário

Cão	Raça	Idade Meses	Sexo	Contato	Dose Nº	Ultima Dose Meses	Título
A1	G. Retriever	11	M	Nunca	3	8	256
A2	Labrador	13	M	Eventual	3	9	512
A3	Rottweiler	10	M	Nunca	3	5	512
A4	Lhasa Apso	14	F	Eventual	3	11	1024
A5	Bernese	13	M	Raro	3	9	1024
A6	Pitbull	8	M	Raro	3	5	512
A7	Basset Hound	22	F	Eventual	4	6	1024
A8	Poodle	18	M	Nunca	4	2	256
A9	Dog Alemão	8	F	Frequente	3	4	512
A10	SRD	13	F	Frequente	3	9	512
A11	Rottweiler	39	F	Frequente	6	11	64
A12	Schnauzer	32	F	Eventual	5	3	256
A13	Rottweiler	22	F	Eventual	4	6	512
A14	Labrador	10	F	Eventual	3	6	512
A15	Bernese	9	F	Frequente	3	5	16
A16	Boxer	42	M	Raro	6	2	512
A17	Bernese	12	F	Eventual	3	8	16
A18	Bernese	12	F	Eventual	3	8	128
A19	Bernese	60	F	Eventual	7	6	256
A20	Bernese	72	M	Eventual	8	9	1024
A21	Bernese	48	F	Eventual	6	9	512
A22	Labrador	12	F	Eventual	3	8	512
A23	Dobermann	17	M	Eventual	6	4	256
A24	SRD	6	M	Raro	3	2	128
A25	Labrador	15	F	Eventual	3	10	256
A26	Boxer	30	M	Eventual	6	3	1024
A27	Pitbull	13	M	Raro	3	8	512
A28	Boxer	10	M	Eventual	3	7	256
A29	SRD	72	F	Nunca	9	3	128
A30	Schnauser	18	F	Eventual	4	2	256

Tabela 18 – Título de anticorpos, utilizando-se o vírus de campo no teste de HI, contra a parvovirose no soro de cães vacinados em clínicas veterinárias, não seguindo o protocolo indicado (Grupo B), e respectivas características avaliadas por meio de questionário

Cão	Raça	Idade Meses	Sexo	Contato	Dose Nº	Ultima Dose Meses	Título
B1	Cocker Spaniel	21	M	Nunca	3	17	256
B2	SRD	24	F	Nunca	3	19	64
B3	Labrador	24	M	Eventual	3	20	256
B4	Dog Alemão	40	M	Eventual	4	24	64
B5	Schnauzer	43	F	Nunca	5	18	512
B6	São Bernardo	62	F	Raro	6	18	8
B7	Labrador	59	M	Eventual	6	18	512
B8	Cocker Spaniel	24	F	Raro	2	24	128
B9	Labrador	19	F	Eventual	3	14	512
B10	SRD	53	M	Raro	3	47	512
B11	Mastiff Inglês	26	M	Frequente	3	22	256
B12	Poodle	42	M	Frequente	3	38	32
B13	Boxer	20	M	Eventual	3	15	64
B14	Teckel	26	M	Eventual	3	22	512
B15	SRD	26	F	Raro	5	15	2048
B16	SRD	26	F	Raro	5	15	1024
B17	SRD	18	M	Eventual	3	15	512
B18	SRD	24	M	Eventual	3	21	128
B19	SRD	24	F	Eventual	3	22	1024
B20	SRD	24	F	Raro	3	21	32
B21	SRD	16	M	Frequente	1	13	1024
B22	SRD	10	F	Frequente	1	6	128
B23	Teckel	29	M	Nunca	3	24	1024
B24	Schnauzer	60	F	Eventual	8	14	1024
B25	SRD	72	F	Eventual	4	14	128
B26	SRD	34	M	Nunca	2	28	128
B27	SRD	12	F	Frequente	1	4	512
B28	Pitbull	14	M	Raro	2	11	128
B29	SRD	60	F	Frequente	1	8	1024
B30	SRD	24	F	Frequente	1	8	512

Tabela 19 – Título de anticorpos, utilizando-se o vírus de campo no teste de HI, contra a parvovirose no soro de cães vacinados em lojas de produtos agropecuários, seguindo o protocolo indicado (Grupo C), e respectivas características avaliadas por meio de questionário

Cão	Raça	Idade Meses	Sexo	Contato	Dose Nº	Ultima Dose Meses	Título
C1	Poodle	36	F	Frequente	5	4	256
C2	SRD	15	M	Nunca	3	8	256
C3	Pastor Alemão	12	M	Frequente	2	8	2048
C4	SRD	48	F	Nunca	7	2	256
C5	SRD	12	F	Nunca	3	6	256
C6	Poodle	6	F	Raro	2	2	64
C7	Pitbull	12	M	Nunca	3	9	512
C8	SRD	16	M	Nunca	3	11	64
C9	Pitbull	12	M	Frequente	3	7	1024
C10	SRD	24	F	Nunca	4	7	1
C11	Pinsher	7	F	Frequente	3	4	1024
C12	Poodle	11	F	Nunca	3	8	512
C13	Akita	9	F	Eventual	3	5	2048
C14	Pitbull	11	M	Eventual	3	7	512
C15	SRD	10	M	Frequente	3	7	512
C16	SRD	8	F	Nunca	3	4	4
C17	Pitbull	8	F	Raro	3	4	32
C18	Pitbull	7	M	Raro	3	3	512
C19	SRD	12	M	Eventual	3	8	64
C20	SRD	6	M	Raro	3	2	1
C21	Pitbull	9	F	Nunca	3	5	1
C22	Poodle	8	M	Raro	3	4	2
C23	Boxer	32	M	Raro	5	4	512
C24	Poodle	11	F	Nunca	3	8	1
C25	Pitbull	10	F	Nunca	3	4	128
C26	SRD	7	M	Raro	3	3	8
C27	SRD	12	M	Frequente	3	8	512
C28	Teckel	7	F	Raro	3	3	512
C29	Teckel	16	F	Raro	4	3	8
C30	Poodle	14	F	Eventual	2	10	128

Tabela 20 – Título de anticorpos, utilizando-se o vírus de campo no teste de HI, contra a parvovirose no soro de cães vacinados em lojas de produtos agropecuários, não seguindo o protocolo indicado (Grupo D), e respectivas características avaliadas por meio de questionário

Cão	Raça	Idade Meses	Sexo	Contato	Dose Nº	Ultima Dose Meses	Título
D1	SRD	29	F	Eventual	3	24	64
D2	SRD	17	M	Frequente	3	14	512
D3	SRD	10	M	Frequente	1	4	256
D4	SRD	11	M	Nunca	1	9	512
D5	Boxer	42	F	Raro	3	36	64
D6	SRD	48	M	Frequente	3	43	32
D7	SRD	19	M	Frequente	3	15	32
D8	SRD	12	M	Frequente	1	10	512
D9	SRD	67	F	Nunca	5	36	1024
D10	SRD	12	F	Eventual	1	9	128
D11	SRD	27	M	Frequente	2	24	128
D12	Boxer	7	M	Frequente	1	3	1
D13	SRD	21	F	Nunca	3	16	1024
D14	SRD	28	F	Frequente	2	24	512
D15	SRD	60	F	Nunca	3	54	32
D16	Pinsher	41	M	Nunca	3	36	2
D17	SRD	42	F	Frequente	3	36	64
D18	Rottweiler	10	M	Raros	2	7	2048
D19	Pitbull	30	F	Eventual	3	24	128
D20	SRD	48	F	Frequente	3	42	128
D21	Pitbull	6	M	Frequente	1	4	1
D22	Pitbull	24	M	Frequente	2	27	512
D23	SRD	36	F	Raro	2	34	512
D24	SRD	30	F	Eventual	2	28	1
D25	SRD	26	M	Eventual	3	18	1024
D26	SRD	24	M	Frequente	3	18	2048
D27	Labrador	48	M	Frequente	3	42	1024
D28	Boxer	18	F	Eventual	3	12	64
D29	SRD	60	F	Nunca	5	36	128
D30	Pitbull	21	M	Frequente	2	18	512

Tabela 21 – Título de anticorpos, utilizando-se o vírus de campo no teste de HI, contra a parvovirose no soro de cães não vacinados (Grupo E), e respectivas características avaliadas por meio de questionário

Cão	Raça	Idade Meses	Sexo	Contato	Título
E1	Pinsher	24	F	Freqüente	1024
E2	SRD	36	M	Nunca	1024
E3	SRD	18	F	Freqüente	64
E4	SRD	60	F	Nunca	256
E5	SRD	12	F	Freqüente	64
E6	SRD	24	M	Raro	16
E7	SRD	45	F	Freqüente	64
E8	SRD	60	F	Nunca	256
E9	SRD	12	M	Nunca	1024
E10	SRD	48	F	Raro	512
E11	SRD	13	F	Freqüente	256
E12	SRD	12	F	Freqüente	32
E13	SRD	9	F	Eventual	16
E14	SRD	6	F	Freqüente	128
E15	SRD	24	M	Nunca	1
E16	SRD	8	M	Freqüente	512
E17	SRD	6	F	Nunca	1
E18	Dobermann	6	F	Nunca	128
E19	SRD	60	M	Freqüente	512
E20	SRD	24	F	Freqüente	128
E21	SRD	36	M	Eventual	32
E22	SRD	60	F	Eventual	32
E23	SRD	60	M	Freqüente	64
E24	SRD	48	F	Freqüente	128
E25	SRD	12	M	Eventual	1024
E26	SRD	11	F	Freqüente	1
E27	SRD	12	M	Freqüente	256
E28	SRD	72	M	Raro	16
E29	SRD	48	M	Freqüente	256
E30	SRD	8	F	Freqüente	1

Questionário

Nº da Ficha:

Data:

Proprietário:

Endereço:

Bairro:

Telefone:

Dados sobre o animal:

1) Nome:

2) Sexo: ☐ M ☐ F

3) Idade: anos meses

4) Raça:

Hábitos do animal:

1) Tem contato com cães de fora do ambiente onde vive?

☐ Frequentemente ☐ Eventualmente ☐ Raramente ☐ Nunca

Saúde do animal:

1) O cão já apresentou algum destes sintomas:

1.a) Diarréia ☐ Sim ☐ Não 1.d) Secreção ocular ☐ Sim ☐ Não

1.b) Vômito ☐ Sim ☐ Não 1.e) Tosse ☐ Sim ☐ Não

1.c) Convulsões ☐ Sim ☐ Não 1.f) Secreção nasal ☐ Sim ☐ Não

Outros _____

Vacinação:

1) Quando filhote:

1.a) O animal recebeu a vacina sêxtupla?

☐ sim ☐ Não

1.b) Quantas doses? ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3

1.c) Qual o esquema de vacinação _____

2) Quando adulto:

2.a) O animal recebe a vacina sêxtupla anualmente? ☐ Sim ☐ Não

Última dose há quantos meses/anos? _____

3) Onde o animal foi ou costuma ser vacinado?

☐ Clínica Veterinária ☐ Casa Agropecuária

Outros _____