

Avaliação da resposta imune humoral em cães jovens imunizados contra a cinomose com vacina de vírus atenuado

Evaluation of humoral immune response in puppies immunized to canine distemper with attenuated virus vaccine

Luciane BIAZZONO¹; Mitika Kuribayashi HAGIWARA²; Antonio Roberto CORRÊA³

CORRESPONDÊNCIA PARA:
Mitika Kuribayashi Hagiwara
Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP
Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87
Cidade Universitária Armando de Salles Oliveira
05508-000 – São Paulo – SP
e-mail: mkhagiwa@usp.br

1- Disciplina de Clínica Veterinária do Curso de Medicina Veterinária da UNESP, Araçatuba – SP
2- Disciplina de Patologia Clínica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP – SP
3- Médico Veterinário, diretor do laboratório BIO-VET S.A.

RESUMO

Este estudo foi realizado com o objetivo de se investigar a cinética da resposta imune em cães jovens vacinados contra cinomose, com vírus atenuado, por meio do teste de soroneutralização. Onze cães saudáveis da raça Beagle, observados do nascimento até 30 meses de idade, isolados de outros cães, receberam vacina monovalente viva atenuada de cinomose canina aos 75, 105 e 135 dias de idade e doze meses após a terceira dose vacinal. O desenvolvimento de anticorpos foi mensurado pela reação de soroneutralização imediatamente antes da vacinação, trinta dias após a administração da primeira e terceira doses, noventa dias após a administração da terceira dose, nove e doze meses após a administração da terceira dose, trinta dias, seis e doze meses após a dose anual. Não havia títulos detectáveis de anticorpos contra cinomose canina antes da primovacinação. O título de anticorpos variou de 4,047 a 4,880 (em logaritmos na base 10), trinta dias após a administração da primeira dose e 6 meses após a dose anual, respectivamente. Todos os cães apresentaram uma resposta similar, embora com variações, com a produção de anticorpos com títulos maiores do que 2, considerado o título mínimo protetor. Doze meses após a dose anual, a maioria dos cães apresentou alto título de anticorpos, sugerindo que a revacinação anual poderia ser desnecessária.

UNITERMOS: Vacinação; Cães; Cinomose; Anticorpos neutralizantes.

INTRODUÇÃO

A infecção dos cães pelo vírus da cinomose canina (VCC) produz severa doença e grande mortalidade em filhotes, especialmente naqueles com menos de 3 meses de idade. Neste período de vida, considerado um estágio crítico, grande número de cães é exposto à infecção^{6,5,13,18}, adoecendo e sucumbindo a ela ou se recuperando e se tornando imune. A imunidade adquirida após a exposição ao vírus da cinomose é de longa duração^{1,14,18,20,28} em contraposição à imunidade transferida pela mãe, através do colostro, e em mínima proporção, através da placenta^{11,12,23}.

A proteção contra infecção natural durante as primeiras semanas de vida, quando o sistema imune do animal ainda não está perfeitamente capacitado para suportar uma infecção por um vírus altamente virulento e patogênico, é dada pela transferência passiva de imunoglobulinas^{12,23}. Há uma variação individual no nível de proteção, dependendo da imunidade materna (título de anticorpos) e da quantidade de colostro ingerido pelo filhote^{5,6,12}. Os anticorpos transferidos passivamente são catabolizados no organismo do filhote, ocorrendo declínio e a meia-vida desses é de cerca de 8,4 dias¹². A duração da imunidade adquirida passivamente é de cerca de nove a doze semanas, havendo baixa significância da sexta à sétima semana de vida^{6,26}, ou duração maior, com níveis de anticorpos detectáveis até a 12ª ou 14ª semana de idade¹¹. Quando o nível de anticorpos atinge o limiar mínimo,

com título de anticorpos neutralizantes da ordem de 20, os cães se tornam susceptíveis à infecção natural¹². Após a exposição ao agente infeccioso, desenvolve-se uma imunidade relativamente longa, com os anticorpos neutralizantes persistindo durante muitos anos^{1,3,11,14,16,18,20,21,24,28}.

Vacinas produzidas com as amostras do vírus da cinomose, isoladas de cães naturalmente infectados, como as amostras Snyder Hill, Rockborn, Onderstepoort^{11,29}, adequadamente atenuadas em culturas de células¹¹, são eficientes em induzir o estado de imunidade nos animais vacinados, protegendo-os contra a infecção natural^{8,11,13,15,25,30}. Níveis mais altos de anticorpos são observados quando os títulos vacinais são maiores^{7,8}.

Resquícios da imunidade passiva interferem na vacinação dos animais, por ser o antígeno vacinal neutralizado pelos anticorpos circulantes. De acordo com Gillespie et al.¹², apenas quando o título para o VCC cai dentro do intervalo de 20 e 100 é que o filhote se torna susceptível ao vírus virulento e apto a responder ao vírus vacinal¹². Títulos maiores que 20 a 30 bloqueiam a replicação do vírus vacinal no organismo hospedeiro, condição considerada essencial para a adequada resposta imune. Níveis ainda suficientemente altos de anticorpos para bloquear a resposta à vacinação podem falhar na proteção da infecção pelo agente virulento^{5,9,10,11}. Idealmente, o cão deve ser vacinado quando se tornar soronegativo, assegurando-se a máxima resposta sorológica pós-vacinal, associada com a proteção de mais longa duração^{6,10,11,13}.

Gillespie et al.¹² observaram que o título de anticorpos de um filhote é proporcional ao título do soro de sua mãe. Com base no título do soro da mãe, é possível construir um nomograma e assim prever a idade na qual os filhotes tornam-se suscetíveis à infecção, podendo portanto ser imunizados⁶. Como na prática é impossível determinar quando isto ocorre, recomendam-se múltiplas doses de vacinas, administradas a intervalos de três a quatro semanas^{5,14,28}, sendo a primoinoculação recomendada entre seis e oito semanas de idade, a segunda entre dez e doze semanas e a terceira após doze semanas de idade, entre quatorze e dezesseis semanas^{4,5,11,12,13}.

Os cães apresentam altas concentrações de anticorpos para o VCC após a infecção natural ou vacinação bem-sucedida. A concentração de anticorpos pode ser mensurada através do método de soroneutralização^{2,30}, imunofluorescência indireta^{20,30} ou ELISA^{19,30,31}.

Em face da diversidade de informações, constituiu-se objetivo deste trabalho avaliar a resposta imune humoral, através da reação de soroneutralização, de cães jovens vacinados com três doses de imunógeno contra a cinomose canina na primoinoculação e revacinados doze meses após.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 11 cães da raça Beagle, 8 machos e 3 fêmeas, oriundos de cadelas imunizadas. Após o desmame e vermifugação, os cães foram mantidos isolados em canil, longe do contato com outros animais, e alimentados com ração comercial para cães em crescimento. Aos 2 meses e meio de idade, foram submetidos a exame físico geral, tendo sido considerados hígidos e aptos para serem submetidos ao protocolo de vacinação. Procedeu-se à punção da veia jugular externa para colheita de 10 ml de sangue de cada um dos cães, destinados à obtenção de soro e posterior titulação de anticorpos contra o vírus da cinomose. A seguir, todos os animais receberam, por via subcutânea, volume de vacina monovalente de vírus vivo modificado contra a cinomose canina*, que continha um título correspondente em logaritmos decimais de 3,2 doses infectantes por cultura de tecido 50% ($10^{3,2}$ DICT_{50%}/ml), liofilizada e reconstituída com água destilada. Decorrido 1 mês, aos 3 meses e meio de idade, os animais foram novamente submetidos a exame físico geral e colheita de amostra de sangue para, em seguida, receberem a segunda dose da mesma vacina. Este procedimento foi repetido um mês mais tarde, aos 4 meses e meio de idade, quando os cães receberam a terceira dose da vacina. Passados 12 meses da última dose, aos 16 meses e meio de idade, os cães receberam o reforço anual.

Amostras de sangue foram colhidas dos cães antes e um mês após a aplicação da primeira dose da vacina e 1, 3, 9 e 12 meses após a terceira dose, e 1, 6 e 12 meses após o reforço anual, correspondendo respectivamente a 2,5 (T0); 3,5 (T1); 5,5 (T2); 7,5 (T3); 13,5 (T4); 16,5 (T5); 17,5 (T6); 22,5 (T7) e 28,5 (T8) meses de idade. O soro foi alíquotado e conservado a 20°C negativos até o momento da realização do teste de soroneutralização.

A avaliação quantitativa de anticorpos contra o vírus da cinomose foi realizada através do método de soroneutralização em garrafas, de acordo com a técnica de Appel e Robson². Para tanto, utilizou-se cultura de fibroblastos de embriões de galinha (FEG), na qual foram utilizadas diferentes concentrações de vírus da cinomose a um título conhecido ($10^{2,5}$ DICT_{50%}/ml a $10^{3,5}$ DICT_{50%}/ml), misturadas a uma concentração fixa (diluição de 1:1.000) de igual volume de soro a ser testado.

As amostras de soro previamente colhidas foram descongeladas, inativadas pelo calor a 56°C em banho-maria por 30 minutos e diluídas com o meio de cultura 209 acrescido de antimicrobiano (penicilina-estreptomicina), obtendo-se a diluição do soro de 1:1.000. Ao vírus previamente liofilizado foi acrescido o meio de cultura, obtendo-se assim a diluição 10^0 , 10^{-1} , 10^{-2} e 10^{-3} . Frascos contendo 1 ml de soro previamente diluído e 1 ml do vírus foram agitados cuidadosamente para homogeneização da mistura vírus-soro, e mantidos por 30 minutos no fluxo laminar à temperatura ambiente, para promover a adsorção e acrescentando-se a seguir 1 ml da mistura vírus-soro às garrafas previamente formadas no dia anterior com células FEG e mantidas em estufa de CO₂. Foram preparadas quatro garrafas para cada uma das diluições da mistura soro-vírus. Foram também preparadas garrafas para cada uma das três diluições de controle do vírus, 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , respectivamente. Seis garrafas permaneceram como controle das células. Todas as garrafas foram incubadas a 37°C em sala climatizada durante 5 dias, período após o qual procedeu-se à leitura em microscópio invertido para verificar a presença ou ausência de efeitos citopáticos, que, quando presentes, indicavam a ausência de anticorpos em títulos suficientes para bloquear a ação do vírus sobre o tapete celular. A atividade neutralizante do soro foi expressa em logaritmo decimal do inverso da diluição da mais elevada inibição do desenvolvimento de 50% das lesões celulares (dose neutralizante 50%). Após a leitura, os títulos foram calculados pelo método de Reed e Muench²⁷, e os resultados foram expressos em logaritmos decimais recíprocos às doses neutralizantes.

RESULTADOS, DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Nenhum dos 11 cães utilizados neste estudo, que haviam recebido colostro e descendiam de mães adequadamente imunizadas, apresentava níveis de anticorpos contra a cinomose canina, detectados pelo teste de soroneutralização conduzido em cultura de FEG, no momento imediatamente anterior à vacinação. Isto significa que, realmente, os filhotes haviam eliminado aos 2 meses e meio de idade, quase que na totalidade, os anticorpos transferidos pelas respectivas mães e já haviam se tornado suscetíveis à infecção, natural ou vacinal. Estes achados são condizentes com aqueles comumente ressaltados na literatura^{6,11,31}, que afirmam que, na maioria dos cães, existe uma baixa significante de anticorpos da sexta à sétima semanas de idade.

A ausência de anticorpos maternos em títulos detectáveis possibilitou a imunização desses animais, que responderam com elevada síntese de anticorpos logo após a primeira dose de vaci-

* (Cinomose BIO-VET-cepa Lederle-passagem em cultura de fibroblastos de embriões de galinha, 1971).

na, ressaltando-se a importância da vacinação no momento adequado. A resposta ao estímulo antigênico dado pela primovacinação (às 10 semanas de idade) contra o vírus da cinomose canina, foi verificada através da reação de soroneutralização. Anticorpos neutralizantes estavam presentes em títulos elevados em todos os participantes do experimento, trinta dias após a aplicação da primeira dose da vacina, demonstrando a eficiência do imunógeno e da resposta do hospedeiro à sua aplicação. De uma maneira ideal, de acordo com Carmichael⁹, um cão deve ser vacinado quando se tornar soronegativo, para assegurar a máxima resposta sorológica pós-vacinal associada com proteção de longa duração.

Os cães permaneceram saudáveis por todo o período de observação, e nenhum deles apresentou qualquer alteração clínica que pudesse ser imputada como reação à vacina. Nosso estudo demonstrou que todos os filhotes apresentaram resposta à vacinação, e esta foi similar em todos os animais, com a produção de altas taxas de anticorpos neutralizantes, como se verifica na Tab. 1, em que são apresentados os títulos de anticorpos pré e pós-vacinais, em logaritmos decimais. Comparado ao título pré-vacinal (T0) <1log₁₀, houve ascensão do título pós-vacinal (T1), variando entre 3,339 e 4,499 e sendo a média de 4,016, maior do que o título considerado protetor por Gillespie et al.¹² de 30 doses neutralizantes, ou de 100 (equivalente a 2 log₁₀) considerado por Appel³ e Povey²⁶. Títulos menores que 100 indicam uma resposta de qualidade inferior, sendo o animal susceptível à infecção natural¹². Em animais suscetíveis, o título de anticorpos se eleva rapidamente após a aplicação do imunógeno, alcançando o máximo em trinta dias^{12,23}. Sendo a imunidade humoral indicativa de proteção¹², todos os animais se tornaram protegidos contra a infecção natural.

Na Fig. 1, estão apresentados os valores mínimo, máximo e mediana dos títulos de anticorpos neutralizantes (log₁₀). Pela observação do gráfico "Box & Whiskers plot", verifica-se que a menor mediana foi observada aos 3,5; 5,5 e 16,5 meses de idade, isto

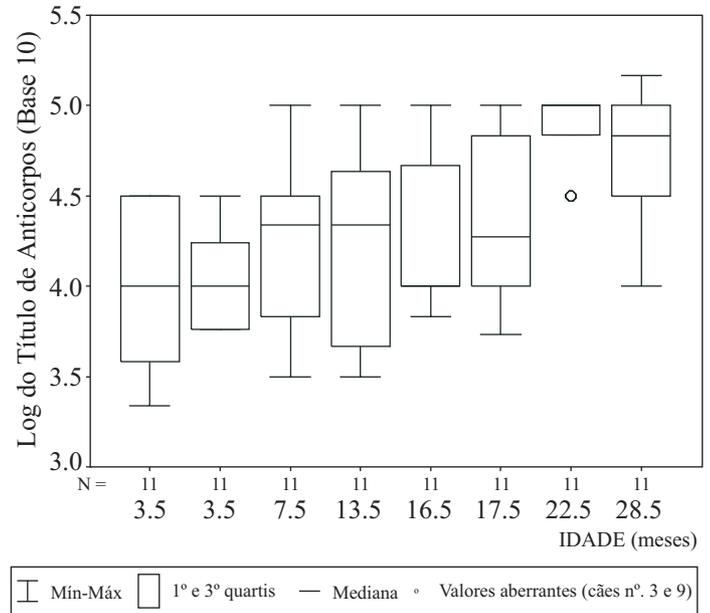


Figura 1

é, decorridos 30 dias da aplicação da primeira dose, 30 dias da terceira dose e 12 meses da terceira dose do imunógeno, e que a maior mediana foi observada 6 meses após a aplicação da dose de reforço, aos 22,5 meses de idade. Observou-se diferença significativa (p < 0,05) após avaliação dos títulos de anticorpos neutralizantes, através dos dois testes não-paramétricos de Friedman e Wilcoxon, entre os momentos T1-T6, T1-T7, T1-T8, T2-T6, T2-T7, T2-T8, T3-

Tabela 1

Títulos de anticorpos neutralizantes (log₁₀) anti-vírus da cinomose em cães (n=11), antes e após a vacinação com vírus atenuado, amostra Lederle. São Paulo, 1999.

Cão n°	Tempo								
	T0	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
1	<1	4,499	4,000	3,499	4,339	4,169	4,000	5,000	4,833
2	<1	4,499	3,759	4,500	5,000	5,000	4,833	5,000	5,166
3	<1	3,666	3,759	4,000	4,339	4,000	4,169	4,499	4,166
4	<1	4,000	4,000	3,666	3,666	4,000	4,272	5,000	5,000
5	<1	3,339	4,000	4,339	3,499	4,000	4,000	4,839	4,499
6	<1	4,339	4,499	4,666	5,000	4,833	5,000	5,000	5,000
7	<1	4,000	4,499	5,000	4,772	4,833	5,000	5,000	5,166
8	<1	4,499	4,239	4,339	3,499	3,833	4,272	4,839	4,499
9	<1	3,339	3,759	4,000	3,666	3,833	3,732	4,499	4,000
10	<1	3,499	4,239	4,500	3,833	4,000	4,000	5,000	4,833
11	<1	4,499	3,759	3,666	4,500	4,499	4,833	5,000	5,000
Média	<1	4,016	4,047	4,198	4,192	4,272	4,374	4,880	4,742
D.P.	0	0,484	0,286	0,471	0,585	0,436	0,458	0,199	0,397

T0: previamente à vacinação; T1: 1 mês após a primeira dose; T2: 1 mês após a terceira dose; T3: 3 meses após a terceira dose; T4: 9 meses após a terceira dose; T5: 12 meses após a terceira dose; T6: 1 mês após reforço; T7: 6 meses após reforço; T8: 12 meses após reforço.

T7, T3-T8, T4-T7, T4-T8, T5-T7, T5-T8, T6-T8 e T7-T8, onde T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7 e T8 correspondem respectivamente a 1 mês após a aplicação da primeira dose da vacina, 1, 3, 9 e 12 meses após aplicação da terceira dose da vacina, e 1, 6 e 12 meses após a aplicação do reforço anual.

Durante todo o período de observação, os títulos médios de anticorpos mensurados após a vacinação, variaram de 4,047 a 4,880 e o menor título médio verificado ocorreu entre um mês após a primeira dose (T1) e um mês após a terceira dose da vacina (T2), quando estava entre 4,016 e 4,047, sendo sempre mais alto do que o título mínimo protetor. Por terem respondido bastante bem à primeira dose de vacina, com síntese de altas concentrações de anticorpos, não houve, em vários cães, aumento dos valores médios de anticorpos séricos, 30 dias após a administração da terceira dose, com alguns cães apresentando um aumento muito discreto. O título máximo de anticorpos foi verificado entre 3 e 9 meses após a administração da terceira dose da vacina, quando a média dos 11 animais foi de 4,198 e 4,192. Após este tempo, houve declínio gradual do título médio até os 12 meses após a aplicação da terceira dose (T5), quando o título foi de 4,272, ocasião em que os cães receberam a dose anual de reforço. Aos 16,5 meses de idade (T5), 12 meses após a administração da terceira dose de vacina, o nível médio de anticorpos foi semelhante aos observados 1 mês após a primeira dose e 1 mês após a terceira dose, não tendo havido diferença significativa entre estes títulos. Entretanto, aparentemente houve uma resposta ao novo estímulo antigênico representado pela dose de reforço aplicada naquele momento, pois 30 dias após (T6) o nível de anticorpos foi significativamente maior. Conforme McCaw et al.¹⁸, se o cão já tiver nível bom de anticorpos, o título não aumentará mais em resposta à revacinação. No presente trabalho, no entanto, mesmo tendo havido uma boa resposta de anticorpos já na primovacinação, alguns dos cães responderam ao estímulo antigênico representado pela terceira dose da vacina, havendo incremento do título. Estes achados corroboram com as observações de Cornwell e Thompson¹¹, para quem a cinomose é uma infecção viral na qual, mesmo naqueles cães desprovidos de anticorpos colostrais, muitos não respondem adequadamente ao antígeno representado pelo vírus vacinal, havendo necessidade de uma dose de reforço.

Nove meses após a terceira dose da vacina (T4), os cães de número 4, 5, 8, 9 e 10 apresentaram títulos de anticorpos mais baixos, de 3,666, 3,499, 3,499, 3,666 e 3,833, respectivamente, enquanto a média dos títulos dos 11 animais foi de 4,192. O padrão da resposta de anticorpos à vacinação contra o vírus da cinomose foi semelhante para todos os cães, contudo, os cães de número 3 e 9 apresentaram pior resposta ao antígeno do que os outros, 6 meses após a revacinação anual (T7), com 4,499 cada um, enquanto a média dos títulos dos 11 animais naquele momento foi de 4,880. O cão de número 7 apresentou melhor resposta comparado aos outros animais, 3 meses após a terceira dose (T3), com um título de 5,000, enquanto a média dos títulos dos 11 animais foi, na ocasião, de 4,198. Outros, como os animais de números 1, 2, 8 e 11, apresentaram queda no nível de anticorpos neutralizantes, que permaneceram, no entanto, acima do nível considerado protetor, de 2 log. Assim, as variações apresentadas para mais ou para menos podem refletir variações individuais na

resposta ao imunógeno, ou ainda as variações inerentes à técnica utilizada para avaliação dos níveis de anticorpos. De acordo com Carmichael⁹, a diferença na resposta entre indivíduos se deve a características genéticas de cada animal.

Com relação à cinomose canina, a resposta ao vírus vacinal mostrou-se lenta e progressiva, com um aumento significativo nos níveis de anticorpos observados somente seis meses após a aplicação do imunógeno (T7). O mesmo padrão de resposta, embora não significativo, foi verificado por ocasião da primoimunização, quando a resposta humoral foi maior três meses após a terceira dose (T3), quando comparada à do mês imediatamente posterior (T2). Esse tipo de resposta não é a usual, pois, de um modo geral, os títulos de anticorpos aumentam rapidamente, alcançando níveis máximos em 30 dias, e se mantêm nesses níveis, com pequeno declínio por um período de 2 anos^{12,23}.

O alto nível de anticorpos produzido após a aplicação do imunógeno em animais suscetíveis demonstra a adequabilidade do título vacinal, de 1.584 DICT_{50%}/ml (3,2 log₁₀), maior do que as doses mínimas citadas por Burgher et al.⁷ de 64 a 250 e por Piercy e Sellers²⁵, de 1.000 DICT_{50%}/ml. O título vacinal, ou a dose mínima imunizante, está na dependência da amostra vacinal e da sua atenuação em cultura de células. Quanto maior a atenuação, maior o título mínimo necessário para a adequada imunização²⁵. Ainda, a boa resposta vacinal observada após uma única aplicação do imunógeno se deve ao fato de ter sido utilizada uma vacina de vírus vivo modificado, cuja massa antigênica era adequada para induzir o desenvolvimento de uma imunidade adequada, como haviam citado Burgher et al.⁷ e Cabasso et al.⁸, bem como ao fato de se tratar de uma vacina de vírus vivo modificado em cultura celular. De acordo com Appel³ e Tizard e NI³⁰, há a necessidade de replicação viral significativa para haver uma resposta imune substancial e protetora, o que não ocorre com as vacinas inativadas. A amostra Lederle também se mostrou adequada para a estimulação antigênica dos cães susceptíveis. A imunidade induzida por esta amostra, bem como por outras amostras vacinais como Onderstepoort, Rockborn, protege contra infecções naturais por amostras virulentas como a Snyder Hill^{13,30}.

Pouca informação pode ser encontrada na literatura sobre a duração ou proteção após vacinação. Títulos de anticorpos inferiores a 20 são observados dois anos após a vacinação inicial, porém esses títulos são observados mais precocemente, em cerca de dez meses, se apenas uma única dose da vacina for administrada²¹. Para outros, a duração da imunidade é maior, de pelo menos três anos²⁴, ou maior ainda, de sete anos^{1,21}. Vários fatores interferem na qualidade e duração da resposta imune, como a amostra viral utilizada²⁵, a massa antigênica ou o título vacinal^{10,25}, o grau de atenuação do antígeno viral¹⁰, a interferência de anticorpos transferidos através do colostro, ou pela utilização de soros hiperimunes que contêm anticorpos contra cinomose^{4,6,10,11,12,26}. Existem também os fatores relacionados ao próprio hospedeiro, como a variação individual na capacidade de resposta a uma mesma vacina^{9,22}, o estado nutricional^{13,26}, parasitismo^{17,26}, os estados de imunodeficiência de causa genética ou não^{26,29}, ou fatores relacionados às condições ambientais, interferindo na aclimação do animal em condições externas adversas³². Neste experimento não houve declínio significativo dos títulos de anticorpos até o final do período de observação. Embora a imunidade humoral, avalia-

da quantitativamente através da reação de soroneutralização pelo título de anticorpos seja de máxima importância na proteção dos cães suscetíveis contra a cinomose, a imunidade celular também desempenha um papel fundamental no mecanismo imunológico de defesa^{13,30}.

Considerando-se o alto título de anticorpos observado aos 28,5 meses de idade (1 ano após a última dose de vacina), não haveria necessidade da aplicação de outra dose vacinal, como se recomenda usualmente¹³. A necessidade de revacinação anual é controversa, como pode se verificar nos trabalhos de Schultz²⁸ e McCaw et al.¹⁸. Entretanto, embora todos os animais tenham apresentado uma adequada formação de anticorpos, não se pode deixar de lado o fato de que houve uma considerável variação na intensidade da resposta. Numa amostragem maior de cães, é perfeitamente possível encontrar-se um animal cuja resposta seja

menor, necessitando, portanto, de estímulos antigênicos mais frequentes, como cita McCaw et al.¹⁸. Em função da variação individual na resposta ao antígeno vacinal da cinomose, mesmo naqueles animais em que não há mais interferência dos anticorpos derivados do colostro e considerando-se aqueles que, por diversos motivos, não são capazes de produzir uma imunidade mais duradoura, recomenda-se a revacinação anual dos animais para a adequada proteção de grande parte da população^{4,5,13}.

Conclui-se que a vacina utilizada foi eficiente na indução da imunidade em filhotes cujos anticorpos maternos já haviam sido catabolizados. Após a administração da primeira dose de vacina, os cães já apresentaram títulos de anticorpos em níveis protetores e, após a revacinação anual, os títulos de anticorpos perduram por mais de 12 meses, não indicando a necessidade de reforço imediatamente após 1 ano.

SUMMARY

This study was carried out in order to investigate the kinetics of the immune response in puppies vaccinated to canine distemper, with attenuated distemper virus vaccine, by serum-neutralization test. Eleven healthy Beagle dogs, observed from birth to 30 months old, isolated far from other dogs, received monovalent living attenuated canine distemper vaccine at 75, 105 and 135 days old, and twelve months after the third dose of vaccine. Antibodies development were measured by serum-neutralization immediately before vaccination, at the 30th day after the first and the third dose administration, at the 90th day after the third dose administration, nine and twelve months after the annual dose. There was no canine distemper antibody detectable titer before primevaccination. The antibodies titer ranged from 4,047 to 4,880 neutralizing doses at the 30th day after the first dose administration and six months after annual dose, respectively. All dogs showed a similar response, although with variation, with antibody production of higher antibody titers than 2, which is considered the minimum protection titer. Twelve months after annual revaccination, the majority of the dogs showed high antibody titers, suggesting that annual revaccination could be unnecessary.

UNITERMS: Vaccination; Dogs; Distemper; Neutralizing antibodies.

REFERÊNCIAS

- 1- APPEL, M. J. G.; GILLESPIE, J. H. Canine distemper virus. In: GARD, S.; HALLAUER, C.; MEYER, K. F. (Eds). **Virology monographs, II**. New York: Springer-Verlag, 1972. p. 1-96.
- 2- APPEL, M. J. G.; ROBSON, D. S. A micronutralization test for canine distemper virus. **American Journal of Veterinary Research**, v. 34, n. 11, p. 1459-1463, 1973.
- 3- APPEL, M. J. G. Canine distemper: emerging new problems. **Infectious Diseases Bulletin**, p. 1-6, 1996.
- 4- AVMA-AKC BRUECKNER, A. H.; GILLESPIE, J.; HEJL, J.; JACKSON, R.; MCCLELLAND, R. B.; OTT, R. L. Conclusions and recommendations of the panel of the symposium on canine distemper immunization. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 149, n. 5, p. 714-718, 1966.
- 5- AVMA Council report. Canine and feline immunization guidelines. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 195, n. 3, p. 314-317, 1989.
- 6- 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. **The Cornell Veterinarian**, v. 49, p. 158-167, 1959.
- 7- BURGHER, J. A.; BAKER, J. A.; SARKAR, S.; MARSHALL, V.; GILLESPIE, J. H. Evaluation of a combined vaccine consisting of modified canine distemper virus and modified infectious canine hepatitis virus for simultaneous immunization of dogs. **The Cornell Veterinarian**, v. 48, n. 2, p. 214-223, 1958.
- 8- CABASSO, V. J.; STEBBINS, M. R.; AVAMPATO, J. M. **Proceedings of the Soc. Expt. Biol. Med.**, v. 99, p. 46, 1958.
- 9- CARMICHAEL, L. E. Canine parvovirus immunization myths and realities. **Gazette**, December, p. 94-102, 1989.
- 10- CARMICHAEL, L. E.; OLIN, J. M. Immunization strategies in puppies - why failures? **Compendium of Continuing Education in Veterinary Practice**, v. 5, n. 12, p. 1043-1051, 1983.
- 11- CORNWELL, H. J. C.; THOMPSON, H. Vaccination in the dog. **In Practice**, v. 5, p. 151-158, 1982.
- 12- GILLESPIE, J. H.; BAKER, J. A.; BURGHER, D. R.; GILMAN, B. The immune response of dogs to distemper virus. **The Cornell Veterinarian**, v. 48, p. 102-126, 1958.
- 13- GREENE, C. E. Immunoprophylaxis and immunotherapy. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1990. p. 21-54.
- 14- GREENE, C. E.; APPEL, M. J. Canine Distemper. In: GREENE, C. E. **Infectious diseases of the dog and cat**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1990. p. 226-241.
- 15- HO, C. K.; BABIUK, L. A. Immune mechanisms against canine distemper II. Role of antibody in antigen modulation and prevention of intercellular and extracellular spread of canine distemper virus. **Immunology**, v. 38, p. 765-772, 1979.
- 16- KRAKOWKA, S. R.; OLSEN, A.; CONFER, A. Serologic response to canine distemper viral antigens in gnotobiotic dogs infected with canine distemper virus. **Journal of the Infectious Diseases**, v. 132, p. 384-392, 1985.
- 17- KRAVIEK, D. R.; GAAFAR, S. M. Studies on the immunology of canine demodicosis. **Journal of the Veterinary Medical Association**, v. 16, p. 669-676, 1986.
- 18- MCCAW, D. L.; THOMPSON, M.; TATE, D.; BONDERER, A.; CHEN, Y. J. Serum distemper virus and parvovirus antibody titers among dogs brought to a veterinary hospital for revaccination. **Journal of the Veterinary Medical Association**, v. 213, n. 1, p. 72-75, 1998.

- 19- NOON, K. F.; ROGUL, M.; BINN, L. N.; KEEFE, T. J.; MARCHWICKI, R. H.; APPEL, M. J. Enzyme-linked immunosorbent assay for evaluation of antibody to canine distemper virus. **American Journal of Veterinary Research**, v. 41, n. 4, p. 605-609, 1980.
- 20- OLSON, P.; KLINGEBORN, B.; HEDHAMMAR, A. Serum antibody response to canine parvovirus, canine adenovirus-1, and canine distemper virus in dogs with known status of immunization: study of dogs in Sweden. **American Journal of Veterinary Research**, v. 49, n. 9, p. 1460-1466, 1988.
- 21- OLSON, P.; FINNSDÓTTIR, H.; KLINGEBORN, B. Duration of antibodies elicited by canine distemper virus vaccinations in dogs. **Veterinary Record**, v. 141, p. 654-655, 1997.
- 22- OSBURN, B. I.; STOTT, J. L. Immune response to vaccination. In: **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**, v. 33, p. 93-108, 1989.
- 23- OTT, R. L. Some concepts of canine distemper immunization. **Veterinary Medicine**, v. 51, p. 427, 1956.
- 24- PHILLIPS, T. R.; SCHULTZ, R. D. Canine and feline vaccines. In: KIRK, R. W.; BONAGURA, J. D. (Ed.) **Current veterinary therapy XI**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1992. p. 202-206.
- 25- PIERCY; SELLERS. Antibody response to a combined living attenuated distemper/hepatitis vaccine. **Research Veterinary Science**, v. 1, n. 84, p. 84-93, 1960.
- 26- POVEY, R. C. Distemper vaccination of dogs: factors which could cause vaccine failure. **Canadian Veterinary Journal**, v. 27, p. 321-323, 1986.
- 27- REED, L. J.; MUENCH, H. A simple method of estimating fifty percent endpoints. **American Journal of Hygiene**, v. 27, p. 493-497, 1938.
- 28- SCHULTZ, R. D. Current and future canine and feline vaccination programs. **Veterinary Medicine**, v. 93, n. 3, p. 233-254, 1998.
- 29- TIZARD, I. Risks associated with use of live vaccines. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 196, n. 11, p. 1851-1858, 1990.
- 30- TIZARD, I.; NI, Y. Use of serologic testing to assess immune status of companion animals. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 213, n. 1, p. 54-60, 1998.
- 31- WANER, T.; NAVEH, A.; SCHWARZ BEM MEIR, N.; BABICHEV, Z.; CARMICHAEL, L. E. Assessment of immunization response to canine distemper virus vaccination in puppies using a clinic-based enzyme-linked immunosorbent assay. **The Veterinary Journal**, v. 155, p. 171-175, 1998.
- 32- WEBSTER, A. C. The adverse effect of environment on the response to distemper vaccination. **Australian Veterinary Journal**, v. 51, p. 488-491, 1975.

Recebido para publicação: 12/09/2001
Aprovado para publicação: 31/01/2002