

---

# Avaliação de suscetibilidade à cinomose em cães institucionalizados no município de Taubaté-SP

*Susceptibility of shelter dogs to distemper in the municipality of Taubaté-SP*

Kladine Monique Fernandes<sup>1</sup>, José Domingues Ramos Filho<sup>2</sup>, Claudia Filoni<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Curso de Medicina Veterinária da Universidade Paulista, São José dos Campos-SP, Brasil; <sup>2</sup>Laboratório de Controle de Qualidade, Laboratório Bio-Vet S/A, Vargem Grande Paulista-SP, Brasil; <sup>3</sup>Instituto Brasileiro para Medicina da Conservação - Triade, São Paulo-SP, Brasil.

---

## Resumo

**Objetivo** – Mensurar títulos de anticorpos neutralizantes contra o vírus da cinomose (*canine distemper virus*-CDV) em soro de cães mantidos no abrigo da Associação Protetora de Animais de Taubaté (APATA), Taubaté-SP, e avaliar o grau desta população contra cinomose. A cinomose é uma doença infectocontagiosa canina causada pelo CDV. Os testes de soroneutralização viral (SN) mensuram os títulos séricos de anticorpos neutralizantes e são considerados padrão ouro (*gold standard*) para avaliar proteção contra a cinomose em cães..

**Métodos** – Foram analisadas 52 amostras de soro pela técnica de SN microscópica adaptada utilizando CDV da linhagem Lederle Bio-Vet com passagem em fibroblastos de embriões de galinha (FEG), associando tais parâmetros aos dados de histórico clínico e achados durante o exame físico. **Resultados** – Anticorpos foram detectados em 71,2% (37/52) das amostras. Uma única apresentou título 32 (1,9%, 1/52), 15,4% (8/52) apresentaram títulos  $\geq 16$  e a maioria (51,9%, 27/52) apresentou títulos entre 4 e 8. **Conclusão** – Considerando-se títulos  $\geq 32$  como protetores, pode-se inferir que com exceção de um único animal, a população do abrigo encontrava-se desprotegida contra cinomose. Ao final do presente estudo elucidou-se a necessidade de um programa de revacinações anuais e melhorias nas práticas de manejo.

**Descritores:** Cinomose; Doenças do cão; Anticorpos neutralizantes; Testes de neutralização

## Abstract

**Objective** – To measure neutralizing antibody titers against canine distemper virus (CDV) in serum of shelter dogs from Associação Protetora de Animais de Taubaté (APATA), Taubaté-SP, Brazil, and to evaluate the protective level of this population against distemper. Distemper is an infectious diseases caused by CDV. Seroneutralization tests (SN) can be used to determine serum antibody titers and are considered the gold standard method for evaluation of protection against distemper in dogs. **Methods** – We analyzed 52 serum samples by SN using CDV Lederle Bio-Vet CDV strain adapted to fibroblasts of chicken embryos. In addition to sampling, clinical and physical examinations were performed. **Results** – Distemper was reported as a common disease in the shelter despite regular vaccination. Antibodies were detected in 71.2% (37/52) of samples. A unique sample presented titer 32 (1.9%, 1/52), 15.4% (8/52) of them presented antibody titers  $\geq 16$ , and the majority (51.9%, 27/52) presented titers between 4 and 8. **Conclusions** – Considering titers  $\geq 32$  as protective, we can conclude that with the exception of a unique animal, the shelter dog population was unprotected against distemper. Even considering titers  $\geq 16$  as protective, only 15.4% (8/52) of the animals shelter could be considered protected. In order to increase the immune protection status of the shelter dogs against distemper, we suggest an annual revaccination program, revaccination intervals as specified by the manufacturer in addition to reducing the environmental stress by improving unspecific conditions in the institution.

**Descriptors:** Distemper; Dog diseases; Antibodies, neutralizing; Neutralization tests

---

## Introdução

A cinomose é uma doença infectocontagiosa causada pelo vírus da cinomose (*canine distemper virus* - CDV), o qual se dissemina facilmente em populações caninas e de outros carnívoros e se caracteriza por elevadas morbidade e mortalidade<sup>1</sup>. O CDV pertence ao gênero *Morbilivirus*, família *Paramyxoviridae* e sua principal forma de transmissão é horizontal, através de contato direto ou aerossolização de exsudato respiratório e de outras excreções<sup>2</sup>. Os estratos das populações caninas mais suscetíveis à cinomose são animais jovens e não vacinados<sup>3</sup>.

A infecção com o CDV pode ser inaparente ou se caracterizar por sinais clínicos discretos a severos, culminando em morte<sup>3</sup>. Os sinais clínicos da cinomose incluem anorexia, depressão, conjuntivite, hiperqueratose de coxins plantares, inflamação catarral de brônquios e laringe, vômitos e diarreia. Muitas vezes, também ocorrem manifestações neurológicas, incluindo apatia, ata-

xia, mioclonia, tremores e cegueira. Além destes sinais, a cinomose se caracteriza por severa leucopenia e perda da capacidade proliferativa dos linfócitos, resultando em imunossupressão e aumento da suscetibilidade a infecções oportunistas<sup>4,6</sup>. Embora as linhagens virais sejam relevantes na manifestação dos diferentes sinais clínicos da cinomose, a eficiência da resposta imune do animal também determina o curso clínico da doença. Animais que atingem títulos de anticorpos e citotoxicidade mediada por células em níveis adequados são capazes de eliminar os vírus da maioria dos tecidos com remissão dos sinais clínicos. Animais que apresentam fraca resposta imune manifestam sinais clínicos mais severos e os vírus persistem nos tecidos até a morte<sup>2</sup>.

As vacinas contra cinomose podem induzir imunidade prolongada em elevada porcentagem dos animais, capazes de determinar pelo menos três anos de imunidade em animais saudáveis sob condições experimentais<sup>7-9</sup>.

De fato, tem havido controvérsia a respeito da revacinação anual tradicionalmente utilizada na clínica veterinária de carnívoros em favor da adoção de intervalos maiores para as revacinações. Entretanto, as vacinas não fornecem uma proteção absoluta contra a doença ou protegem todos os animais igualmente. O grau e duração da proteção vacinal variam com o tipo de vacina e com o animal, assim como a dose infectante, virulência e prevalência do patógeno. Sendo assim, os veterinários devem avaliar os riscos e benefícios da vacinação e determinar os protocolos vacinais mais apropriados baseando-se nas necessidades individuais dos animais<sup>8,10</sup>. Em contraposição com animais domiciliados, animais mantidos em abrigos e cães podem ser expostos a uma quantidade maior de patógenos. Além disso, estresse, imunossupressão e má nutrição podem diminuir a disponibilidade de nutrientes e proteínas para a divisão celular, suprimindo a resposta imune e contribuindo para a formação ineficiente de anticorpos vacinais<sup>11</sup>.

A presença de anticorpos séricos contra CDV indica a exposição do animal a antígenos virais e pode servir como parâmetro para sinalizar a circulação do vírus no ambiente em que vivem os animais soropositivos caso não sejam vacinados. Os testes de soroneutralização viral (SN) mensuram os títulos séricos de anticorpos neutralizantes que interferem na adesão e penetração viral nas células alvo e são considerados como padrão ouro (*gold standard*) para avaliar a proteção contra infecções pelo CDV em cães. Anticorpos neutralizantes podem persistir por toda a vida do animal<sup>12-13</sup>. Sendo assim, a detecção de anticorpos neutralizantes contra CDV em indivíduos não vacinados indica exposição natural ao vírus e a mensuração dos títulos de anticorpos pode avaliar o nível de proteção após infecção natural ou vacinação<sup>2,13</sup>. Os objetivos do presente estudo consistiram em mensurar os títulos de anticorpos séricos neutralizantes contra CDV em cães mantidos no abrigo da Associação Protetora de Animais de Taubaté (APATA) no município de Taubaté-SP e avaliar o grau de proteção imune destes animais contra a cinomose.

## Métodos

### *Animais e amostras*

Foram obtidas amostras de soro de todos os cães (n=52) mantidos no abrigo da APATA, Taubaté-SP em 2010. Exames físicos foram efetuados no momento de colheita das amostras, com registro de alterações observáveis à inspeção e determinação do estado geral. Foram extraídos dos históricos dos animais dados individuais sobre: procedência (se nascidos na instituição, resgatados da rua/animais errantes, retirados de seus proprietários por motivos de maus tratos ou doados), sexo, raça, faixa etária ou data de nascimento, doenças manifestadas durante a permanência no abrigo e vacinações recebidas. A colheita das amostras ocorreu 11 meses após a última vacinação no caso de todos os animais adultos. Volumes de sangue entre 2mL e 10mL foram colhidos de todos os cães assepticamente em tu-

bos secos (BD Vacutainer® Tubes, BD Diagnostics) por venopunção das veias cefálicas ou jugulares mediante contenção física. Após a colheita, as amostras foram deixadas à temperatura ambiente por 15 minutos e transportadas refrigeradas até o Laboratório Multidisciplinar da Universidade Paulista (UNIP) em São José dos Campos-SP, onde chegaram após 12 horas. As amostras foram centrifugadas por 5 minutos e o soro obtido transferido para tubos cônicos de polipropileno, posteriormente identificados e armazenados a -18°C até o momento de sua utilização. Todos os procedimentos descritos foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNIP (Certificado 025/10 CEP/ICS/UNIP).

### *Soroneutralização microscópica (SN)*

Para a detecção e mensuração de anticorpos neutralizantes contra CDV no soro dos animais foi realizada a técnica de SN microscópica adaptada utilizando CDV linhagem Lederle Bio-Vet com passagem em fibroblastos de embriões de galinha (FEG) com oito dias de vida no Laboratório de Controle de Qualidade da empresa Bio-Vet S/A<sup>12,14</sup>. As amostras de soro foram descongeladas no momento de utilização em temperatura ambiente, inativadas a 56°C por 30 minutos, mantidas por 12 horas entre 2 a 8°C e diluídas serialmente 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 e 1/256. As amostras diluídas foram incubadas em microplacas de 96 orifícios de fundo chato com 100 doses infectantes de CDV capazes de causar efeito citopático em 50% das células em cultura (100 TCID<sub>50%</sub>) por 60 minutos a 37°C em estufa com 3% a 5% de CO<sub>2</sub>. A seguir, foram adicionados 100 µL da suspensão celular de FEG a uma concentração de 5 x 10<sup>5</sup> células/mL em todas as cavidades, as quais foram incubadas por cinco dias a 37°C em estufa com 3% a 5% de CO<sub>2</sub>. Depois deste período, foram realizadas as leituras das placas em microscópio invertido para verificar a presença ou ausência de efeito citopático. O título para CDV de cada amostra foi determinado como o inverso da maior diluição de soro capaz de determinar a proteção completa do tapete celular (100%)<sup>15</sup>.

## Resultados

A cinomose foi reportada como uma doença de ocorrência comum no abrigo. A maioria dos cães mantidos no abrigo era composta por animais jovens com até 24 meses, embora também houvesse filhotes e cães senis com mais de 12 anos de idade. Dos 52 animais avaliados, 24 eram fêmeas e 28 machos. Oitenta e cinco por cento (44/52) dos animais eram provenientes das ruas (errantes), provavelmente vítimas de abandono e 15% (8/52) haviam sido removidos de seus lares de origem devido a denúncias de maus-tratos. Nenhum animal tinha raça definida e todos estavam castrados, com exceção dos filhotes. A dieta era composta por ração canina comercial de boa qualidade e água *ad libitum*. De acordo com o exame físico, os animais foram classificados em estado clínico bom ou regular, com exceção de um animal classificado como doente, o qual apresentava sinais clínicos compatíveis com cinomose

**Tabela 1. Títulos de anticorpos neutralizantes contra o vírus da cinomose (CDV) obtidos mediante soroneutralização viral (SN) microscópica em amostras séricas de cães mantidos no abrigo APATA distribuídos em função da faixa etária. Taubaté-SP, 2010/2011**

Títulos*	Características dos animais (n)					Total	
	Filhotes		Adultos jovens		Adultos		Senis
	0-6 meses	7-12 meses	13-24 meses	25 meses – 5 anos	> 5 anos		
0	10	0	1	2	2	15	
2	0	0	2	0	0	2	
4	3	2	4	3	0	12	
8	1	3	2	6	3	15	
16	0	3	2	0	2	7	
32	0	0	0	0	1	1	
Total	14	8	11	11	8	52	

\* Os títulos de anticorpos contra CDV foram determinados como o inverso da maior diluição de soro capaz de determinar a proteção completa do tapete celular (100%)

no momento do exame e colheita das amostras. O estado clínico bom foi determinado por verificação de comportamento ativo, pelagem em bom estado e condição corporal adequada. O estado clínico regular foi determinado pelo comportamento ativo e condição corporal inadequada (baixo peso) ou presença de escoriações e/ou dermatites localizadas discretas. Resultados de exames hematológicos não estavam disponíveis para complementar a avaliação do estado clínico de cada animal. Os animais mantidos no abrigo eram imunizados anualmente contra raiva com vacina monovalente e com vacina polivalente contra cinomose, hepatite infecciosa viral, doenças respiratórias virais, parvovirose, coronavirose e leptospirose. Quase metade da população considerada (46,1%, 24/52) era residente no abrigo há pelo menos três anos e havia recebido duas revacinações anuais além das doses iniciais. Foi relatado que os animais ingressantes não são segregados dos animais residentes e que os primeiros são vacinados em até duas semanas após a admissão. O protocolo vacinal para animais ingressantes consistia em dose única de vacina contra raiva e duas doses de vacina polivalente com 15 dias de intervalo no caso de adultos e em três doses com 15 dias de intervalo no caso de filhotes e jovens com até 12 meses de idade.

Apresentaram anticorpos contra CDV 71,2% dos animais (37/52). Entre estes animais soropositivos, a frequência de ocorrência de indivíduos apresentando títulos de anticorpos neutralizantes contra CDV  $\geq 16$  foi de 15,4% (8/52), sendo que um único indivíduo apresentou título 32 (1,9%, 1/52). Foram identificados 15 animais soronegativos para CDV na população, incluindo o animal doente, perfazendo um total de 28,8% (15/52) de soronegativos na população do abrigo. A maioria dos cães (51,9%, 27/52) apresentou títulos entre 4 e 8. Catorze filhotes (26,9%, 14/52) não estavam vacinados no momento de colheita das amostras, mas mantinham contato com os demais residentes. Embora nenhum destes filhotes tenha manifestado sinais compatíveis com cinomose, três deles apresentaram título 4 de anticorpos contra CDV e um deles apresentou título 8; nos demais 10 filhotes não foram detectados anticorpos. Os títulos de anticorpos neutralizantes obtidos para os cães mantidos no abrigo APATA distribuídos em função da faixa etária estão apresentados na Tabela 1.

## Discussão

De acordo com alguns autores<sup>16-17</sup>, título  $\geq 16$  são considerados protetores contra a cinomose, de modo que títulos inferiores poderiam significar suscetibilidade à doença. Por outro lado, outros autores<sup>18-19</sup> consideram títulos 16 apenas parcialmente protetores, enquanto títulos  $\geq 32$  seriam protetores. Se apenas títulos  $\geq 32$  forem considerados protetores, é possível considerar que a população de cães analisada não se encontrava protegida contra a cinomose, pois apenas um animal do abrigo apresentou título 32. Ainda que títulos  $\geq 16$  sejam considerados protetores, apenas 15,4% (8/52) dos animais do abrigo poderiam ser considerados protegidos. A maioria dos animais apresentou títulos  $\leq 8$ , o que é sugestivo de ausência de proteção imune contra a doença, embora seja possível que tais animais possuíssem imunidade celular, imunidade de mucosas ou ainda células B de memória<sup>10</sup>.

Os resultados sorológicos obtidos na SN estão em conformidade com o fato da cinomose ter sido reportada como doença de ocorrência comum no abrigo APATA. Neste sentido, um aspecto que merece destaque se refere à presença de animais agindo como potenciais fontes de infecção. O animal doente, provavelmente apresentando cinomose, poderia estar excretando vírus, assim como os filhotes soropositivos que não haviam sido vacinados e que mantinham contato direto com o restante da população suscetível do abrigo. Não foi possível determinar se filhotes que apresentaram títulos soroconverteram por infecção natural dentro do abrigo ou se já foram introduzidos albergando o vírus adquirido externamente, uma vez que não foram mantidos segregados. Com base nestas informações, seria conveniente manter animais ingressantes e filhotes segregados da população residente adulta até que estejam finalizados os respectivos protocolos vacinais e que não haja sinais de doenças infecção-contagiosas.

A presença de indivíduos com condição clínica regular corrobora a possibilidade de subnutrição e imunossupressão discretas<sup>11</sup>. Apesar do oferecimento de dieta adequada, é possível que animais de comportamento dominante prejudiquem a ingestão ótima de alimento por parte dos animais mais submissos, de forma que os últimos se tornem subnutridos, ainda que isso não seja claramente perceptível por parte dos mante-

nedores do abrigo. Sendo assim, embora as causas da suposta falha vacinal no abrigo não sejam claras, é possível que o estresse ambiental esteja implicado.

Considerando a situação epidemiológico-sanitária do abrigo APATA e visando elevar a proteção imune da população residente contra cinomose, sugere-se manter a revacinação polivalente anual que inclui vacinação contra cinomose. Em função dos resultados obtidos e da responsabilidade dos veterinários em estabelecer protocolos vacinais conforme as necessidades individuais dos animais<sup>8</sup>, considera-se que as orientações para revacinações trianuais ou com intervalos maiores contra cinomose<sup>9</sup> não seriam adequadas para a população avaliada no presente estudo.

## Conclusão

Com o presente estudo pode-se concluir que a população canina mantida no abrigo APATA é suscetível à cinomose, que neste aspecto se comporta como uma população com grande adensamento e sem adequada proteção imune. As causas podem estar associadas a erros de manejo, estresse ambiental e falhas nas medidas de prevenção específicas associadas à forma de administração da vacinação. Visando elevar a proteção imune são sugeridas manutenção da revacinação anual contra cinomose, segregação de animais ingressantes e filhotes para realização da primovacinação e melhorias nas condições gerais do abrigo, reduzindo-se ao mínimo os estressores ambientais como a superlotação e dividindo-se os animais em grupos menores de acordo com as faixas etárias.

## Agradecimentos

Agradecemos o apoio recebido do Programa Santander Universidades através de concessão de bolsa de Iniciação Científica para Kládine M. Fernandes, Vice Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa da Universidade Paulista (UNIP), Prof. João Paulo Boccia e Sílvia C. de Oliveira da Coordenação do Curso de Medicina Veterinária, Hospital Veterinário, Renata R. Leonardi do Laboratório Multidisciplinar, Campus Dutra, UNIP, mantenedores do abrigo APATA e Sandra Fernandes, Claudio J. Coelho, Joaquim G. da Cruz e Liliam A. Kotama da empresa Bio-Vet S/A.

## Referências

1. Deem SL, Spelman LH, Yates RA, Montali RJ. Canine distemper in terrestrial carnivores: a review. *J Zoo Wildl Med.* 2000;31(4):441-51.
2. Greene CE, Appel MJ. Canine distemper. In: Greene CE, editor. *Infectious diseases of the dog and cat.* 3<sup>rd</sup> ed. Philadelphia: Saunders; 2006.
3. Kennedy-Stoskopf S. Emerging viral infections in large cats. In: Fowler ME, Miller RE, editors. *Zoo and wild animal medicine: current therapy.* 4<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Saunders; 1999.
4. Carvalho OV, Botelho CV, Ferreira CGT, Scherer PO, Soares Martins JA, Almeida MR *et al.* Immunopathogenic and neurological mechanisms of canine distemper virus. *Adv Virol.* 2012; Article ID 163860 doi:10.1155/2012/163860: 10 pages.

5. Beineke A, Puff C, Seehusen F, Baumgartner W. Pathogenesis and immunopathology of systemic and nervous canine distemper. *Vet Immunol Immunopathol.* 2009;127(1-2):1-18.
6. Martella V, Elia G, Buonavoglia C. Canine distemper virus. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2008;38(4):787-97.
7. Horzinek MC. Vaccine use and disease prevalence in dogs and cats. *Vet Microbiol.* 2006;117:2-8.
8. Gore TC, Lakshmanan N, Duncan KL, Coyne MJ, Lum MA, Sterner FJ. Three-year duration of immunity in dogs following vaccination against canine adenovirus type-1, canine parvovirus, and canine distemper virus. *Vet Ther.* 2005;6(1):5-14.
9. Schultz RD. Duration of immunity for canine and feline vaccines: a review. *Vet Microbiol.* 2006;117(1):75-9.
10. Roth JA, Spickler AR. Duration of immunity induced by companion animal vaccines. *Anim Health Res Rev.* 2010;11(2):165-90.
11. HogenEsch H, Thompson S, Dunham A, Ceddia M, Hayek M. Effect of age on immune parameters and the immune response of dogs to vaccines: a cross-sectional study. *Vet Immunol Immunopathol.* 2004; 97(1-2):77-85.
12. Appel MJG, Robson DA. A microneutralization test for canine distemper virus. *Am J Vet Res.* 1973;34(11):1459-63.
13. Perrone D, Bender S, Niewiesk S. A comparison of the immune responses of dogs exposed to canine distemper virus (CDV): differences between vaccinated and wild-type virus exposed dogs. *Can J Vet Res.* 2010;74(3):214-7.
14. Biazzone L, Hagiwara MK, Corrêa AR. Avaliação da resposta imune humoral em cães jovens imunizados contra a cinomose com vacina de vírus atenuado. *Braz J Vet Res Anim Sci.* 2001; 38(5):245-50.
15. Hoover JP, Baldwin CA, Rupprecht CE. Serologic response of domestic ferrets (*Mustela putorius furo*) to canine distemper virus and rabies virus vaccines. *J Am Vet Med Assoc.* 1989;194(2):234-8.
16. 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. *Am J Vet Res.* 1988;49(9):1460-6.
17. Scott FW, Geissinger CM. Long-term immunity in cats vaccinated with an inactivated trivalent vaccine. *Am J Vet Res.* 1999; 60(5):652-8.
18. Bohm M, Thompson H, Weir A, Hasted AM, Maxwell NS, Herbage ME. Serum antibody titres to canine parvovirus, adenovirus and distemper virus in dogs in the UK which had not been vaccinated for at least three years. *Vet Rec.* 2004;154(15):457-63.
19. Twark L, Dodds WJ. Clinical use of serum parvovirus and distemper virus antibody titers for determining revaccination strategies in healthy dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2000;217(7):1021-4.

## Endereço para correspondência:

Claudia Filoni  
Curso de Medicina Veterinária  
Universidade Paulista  
Rodovia Presidente Dutra Km 157,5 – Pista Sul  
São José dos Campos-SP, CEP 12240-420  
Brasil

E-mail: claudiafiloni@gmail.com

Recebido em 16 de outubro de 2012  
Aceito em 5 de março de 2013