Tabela 3: Contagens de leucócitos ($10^3/mm^3$) em cães vacinados com Vanguard®7 seguida por desafio com CPV-2c.

Etapa do estudo	Dia do estudo	Grupo / Número do animal						
		Controle		Vacinado				
		101	151	201	202	251	252	253
4 dias antes do desafio	38	18,1	14,5	17,7	13,1	11,7	12,1	20,6
2 dias antes do desafio	40	19,1	18,5	19,4	13,5	12,2	12,9	23,1
Dia do desafio	42	17,0	15,6	16,7	13,2	10,8	9,9	19,2
	Média aritmética (Dias 38 a 42)	18,7	16,20	17,93	13,27	11,57	11,63	20,97
3 dias após desafio	45	27,8	25,1	17,2	13,0	11,5	11,0	19,4
5 dias após desafio	47	11,7	8,4	17,5	11,6	12,5	10,8	18,1
7 dias após desafio	49	NE	3,6	17,6	11,1	10,6	9,9	15,9
10 dias após desafio	52	NE	NE	17,4	10,9	11,4	9,8	17,7
2 semanas após desafio	56	NE	NE	18,5	10,3	10,2	9,4	17,6

NE = não efetuado devido à retirada de animais do estudo antes do Dia 56.

CONCLUSÃO

Com base neste estudo, pode-se concluir que a vacinação com Vanguard®7, que contém uma cepa de CPV, ajuda a proteger os cães contra a infecção virulenta por CPV-2c. Todos os cães vacinados desenvolveram títulos anti-CPV-2 bem acima do nível protetor de 80 após a vacinação.

Os pesos corporais mais que dobraram nos animais vacinados durante o estudo, apesar do desafio virulento com CPV-2c. Os animais vacinados não apresentaram nenhum sinal clínico anormal ou pirexia, seja após a vacinação ou após o desafio com CPV-2c. As contagens de leucócitos dos animais vacinados não baixaram de modo significativo após o desafio. A excreção viral nas fezes foi reduzida com a vacinação. Portanto, ficou demonstrado que Vanguard®7 pode ser usada para ajudar a proteger os cães contra a infecção por CPV-2c.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Uwe Truyen, do Instituto de Higiene Animal e Saúde Pública Veterinária, Universidade de Leipzig, a consultoria, o fornecimento de cepas do desafio e a realização de todos os ensaios virológicos.

Referências Bibliográficas:

Appel MJG, Scott FW, Carmichael LE. Isolation and immunization studies of canine parvo-like virus from dogs with hemorrhagic enteritis. Vet Rec 1979;105:156-159.

Battilani M, Ciulli S, Tisato E, Prosperi S. Genetic analysis of canine parvovirus isolates (CPV-2) from dogs in Italy. Virus Res 2002;83:149-157.

Hueffer K, Parish CR. Parvovirus host range, celltropism and evolution. Curr Opin Microbiol 2003;6:392-398.

Tizard I. Use of serological testing to assess immune status of companion animals. J Am Vet Med Assoc 1998;213:54-60.

Truyen U. Evolution of canine parvovirus – A need for new vaccines? Vet Microbiol 2006;117:9-13.

Data on file, Study Report No. 9161R-10-06-209, Pfizer Inc. Data on file, Study Report No. V7E6, Pfizer Inc.

Vanguard® é marca registrada da Pfizer Inc. ©2008 Pfizer Inc. Todos os direitos reservados. SAB0308007

SAC: 0800 011 19 19 | www.zoetis.com.br
Para informações sobre a titularidade do produto consulte o site www.zoetis.com.br.

zoetis

Copyright Zoetis Indústria de Produtos Veterinários Ltda. Todos os direitos reservados. Material Produzido Agosto/2013. Cód. PFZMBU028

- ● Cães
- ○ Gatos

- ○ Diagnóstico
- ● Prevenção
- ○ Tratamento

Zoetis
São Paulo, SP
Brasil

Número 03
Ano 2013

Zoetis

Boletim Técnico

Vanguard®7 ajuda a proteger contra desafio com Parvovírus Canino Tipo 2c (CPV-2c) Virulento

E.M. Siedek, DVM, PhD, MRCVS
P. Munyira, DVM
R. Raue, DVM, PhD, Veterinário especialista em virologia Pfizer Animal Health, Pesquisa e Desenvolvimento em Medicina Veterinária, Ramsgate Road, Sandwich, CT13 9NJ, Reino Unido
H. Schmidt, DVM, PhD
Harlan Bioservice for Science GmbH, Suedkampen 31, 29664 Walsrode, Alemanha

Observação

- *As vacinas Vanguard® Plus e HTLP contêm a mesma cepa de CPV viva atenuada NL-35-D presente na Vanguard 7.*

HISTÓRICO

O parvovírus canino tipo 2 (CPV-2) é um importante patógeno para os cães domésticos. Causa gastroenterite aguda grave e, mais raramente, miocardite fatal em cães jovens. O CPV-2 foi isolado pela primeira vez em 1978 e constatou-se sua rápida disseminação por todo o mundo (Appel et al, 1979). Desde o início dos anos 1980, diversas mutações ocorreram no CPV-2, resultando nos tipos antigênicos mais recentes CPV-2a, CPV-2b e CPV-2c (Truyen, 2006). Acredita-se que uma melhor ligação ao receptor levou à seleção desses mutantes (Hueffer e Parish, 2003). A vacina polivalente para cães Vanguard®7 (Zoetis) que é vendida na UE contém, entre outros antígenos, o CPV vivo atenuado. A vacina mostrou-se capaz de ajudar a evitar sinais clínicos e a reduzir a excreção fecal devida à infecção por CPV-2 (estudo interno número V7E6, 1980). O objetivo deste estudo foi demonstrar que a cepa viva atenuada de CPV NL-35-D na Vanguard®7 é capaz de ajudar a proteger cães jovens contra um desafio com uma cepa de campo mais recente de CPV-2c virulenta (estudo Zoetis número 9161R-10-06-209).

MÉTODO

De acordo com a monografia da Farmacopeia Europeia, foram usados sete cães da raça beagle, puros, com 8 a 9 semanas de idade, *Specific Pathogen Free* (SPF). O estudo foi delineado como estudo laboratorial controlado, randomizado, com dois grupos de dois ou cinco cães machos ou fêmeas. O grupo 1, composto por dois cães, (um macho e uma fêmea), foi vacinado 2 vezes com água estéril (controle) com intervalo de 3 semanas, nos Dias 0 e 21. O Grupo 2, contendo cinco cães (dois machos e três fêmeas), foi vacinado duas vezes com Vanguard®7, com intervalo de três semanas, nos Dias 0 e 21. Três semanas após a segunda vacinação, no Dia 42, ambos os grupos foram desafiados por via oral com a cepa de

campo de CPV-2c alemã virulenta CPV-7/97 (10^5 $TCID_{50}$ por dose). Foram coletadas amostras de sangue para sorologia por testes de inibição de hemaglutinação (HI) oito dias antes da primeira vacinação (Dia -8), no dia da segunda vacinação (Dia 21), no dia do desafio (Dia 42) e ao término do estudo (Dia 56). As amostras do Dia 42 também foram analisadas por soroneutralização para determinação de anticorpos neutralizantes contra CPV-2c. Os pesos corporais foram determinados oito dias antes da primeira vacinação (Dia 8), no dia da primeira vacinação (Dia 0) e ao término do estudo (Dia 56). As observações clínicas, incluindo temperaturas retais, foram registradas, diariamente, desde o dia da primeira vacinação (Dia 0) até o fim do estudo, 14 dias após o desafio (Dia 56). As avaliações do local da injeção foram realizadas em todos os animais vacinados, desde o dia da primeira vacinação (Dia 0) até o desafio (Dia 42). A vermelhidão foi classificada numa escala de 1 a 4; inchaço, numa escala de 1 a 5; ardor, numa escala de 1 a 3; e dor, numa escala de 1 a 2. As contagens de leucócitos foram realizadas três vezes antes do desafio, nos Dias 38, 40 e 42, e diversas vezes após o desafio, nos Dias 45, 47, 49, 52 e 56. Amostras fecais individuais foram coletadas diariamente, desde o dia do desafio até o fim do estudo, e analisadas pelo teste de hemaglutinação. Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos em conformidade com a legislação alemã relevante e eticamente revisados.

Tabela 1: *Respostas sorológicas ao CPV, detectadas por teste de inibição de hemaglutinação, em cães jovens após vacinação com Vanguard® 7, e subsequente desafio com uma cepa de campo de CPV–2c.*

Etapa do estudo	Dia do estudo	Grupo / Número do animal						
		Controle		Vacinado				
		101	151	201	202	251	252	253
Pré-vacinação	- 8	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
3 semanas após primeira vacinação	21	20	40	640	1280	5120	640	640
3 semanas após segunda vacinação	42	20	40	640	320	640	1280	640
2 semanas após desafio	56	NE	NE	640	640	640	1280	640
Títulos de anticorpos neutralizantes para CPV-2c (Dia 42)		<10	<10	320	320	320	640	640

NE = não efetuado devido à retirada de animais do estudo antes do Dia 56.

Tabela 2: *Pesos corporais (kg) de cães jovens pré-vacinação, no dia da primeira vacinação com Vanguard® 7 e ao término do estudo.*

Etapa do estudo	Dia do estudo	Grupo / Número do animal						
		Controle		Vacinado				
		101	151	201	202	251	252	253
Pré-vacinação	- 8	3,0	1,8	1,9	3,0	2,2	3,5	2,6
Primeira vacinação	0	3,5	2,1	2,2	3,6	2,7	4,3	3,1
Término do estudo	56	NE	NE	5,8	7,8	6,5	9,6	6,8

NE = não efetuado devido à retirada de animais do estudo antes do Dia 56.

RESULTADOS

SOROLOGIA

Todos os sete animais do estudo eram soronegativos (título<10) para CPV antes da vacinação, verificando-se seu status SPF (Tabela 1). No momento da segunda vacinação, todos os cinco animais do grupo vacinado apresentavam títulos de HI>640,
bem acima do título protetor de 80 (Tizard, 1998).
Após a segunda vacinação e desafio, os títulos de HI nos animais vacinados permaneceram altos, em níveis acima de 320. Os animais do grupo controle apresentaram títulos de 20 a 40 até o Dia 42, confirmando a ausência de exposição ao CPV antes do desafio. Os títulos de anticorpos neutralizantes, para o grupo vacinado, variaram entre 320 a 640 contra o CPV-2c.

PESOS CORPORAIS

O peso corporal de todos os animais aumentou durante a semana anterior à vacinação, o que é coerente com o crescimento normal nessa idade (Tabela 2). Ao fim do estudo, 56 dias após a primeira vacinação, os animais vacinados tinham mais que dobrado seu peso corporal, sugerindo que seu desenvolvimento não foi afetado pelo desafio com CPV-2c virulento.

OBSERVAÇÕES CLÍNICAS E TEMPERATURA RETAL

Após a vacinação, nenhum dos animais vacinados apresentou reação no local da injeção (vermelhidão, ardor, dor e/ou inchaço). Os animais controle e os vacinados também não apresentaram nenhuma anormalidade na saúde após a administração de água para injeção ou Vanguard®7, respectivamente.
Depois do desafio, no Dia 42, os animais do grupo controle apresentaram sinais clínicos classicamente associados com o parvovírus. Os sinais tiveram início quatro dias após o desafio.
Devido a esses sinais clínicos, os animais controle foram retirados do estudo sete e nove dias após o desafio (Dias 49 e 51), respectivamente. Em contraste, os animais vacinados não apresentaram nenhum sinal clínico anormal após o desafio. No pré-estudo e após a administração de água para injeção ou Vanguard®7, as temperaturas retais de todos os animais oscilaram dentro dos limites normais, variando entre 100,22°F e 102,74°F (37,90°C e 39,30°C) (Gráficos 1 e 2). Após o desafio, as temperaturas retais de todos os animais permaneceram normais por três dias (Gráficos 1 e 2). Quatro dias após o desafio (Dia 46), foi observada pirexia nos animais controle, com temperaturas >103,1°F (39,50°C) por um dia. As temperaturas retais dos animais controle tornaram a cair em seguida abaixo de 102,92°F (39,40°C). Um animal controle apresentou u m segundo aumento da temperatura retal oito dias após o desafio (Dia 50). Já as temperaturas retais de todos os animais vacinados permaneceram entre 100,94°F (38,30°C) e 102,56°F (39,20°C) até a conclusão do estudo, 14 dias após o desafio.

CONTAGENS DE LEUCÓCITOS

As contagens individuais de leucócitos após o desafio, dos cães do grupo vacinado, variaram de 75% a 110%, em comparação às contagens médias individuais pré-desafio, calculadas com base nos valores dos Dias 38, 40 e 42 (Tabela 3). Em contraste, ambos os cães do grupo controle mostraram um aumento nas contagens de leucócitos para >154% três dias após o desafio (Dia 45), seguido por um declínio para ≤65% no Dia 47 e 22% no Dia 49.

EXCREÇÃO DO CPV NAS FEZES

Após o desafio, os títulos de hemaglutinação para CPV detectados nas amostras fecais individuais de cães do grupo vacinado foram sempre iguais ou menores que 160 (Gráfico 3). Os dois cães do grupo controle, porém, apresentaram pico de excreção viral quatro dias após o desafio (Dia 46), com títulos de hemaglutinação de 16.2240 e 81.120, respectivamente.

Gráfico 1: *Grupo Controle: Temperaturas retais (ºF) em cães vacinados com solução de água estéril seguida por desafio com CPV-2c.*

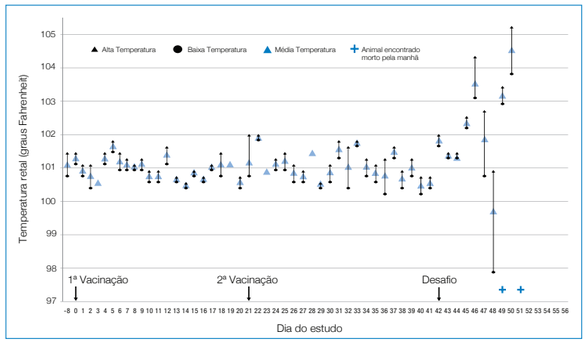

Gráfico 2: *Grupo Controle: Temperaturas retais (ºF) em cães vacinados com Vanguard®7 seguida por desafio com CPV-2c.*

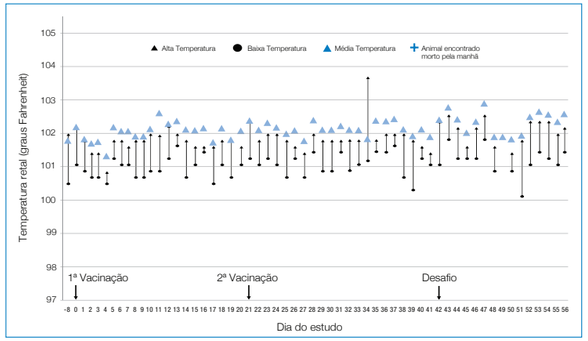
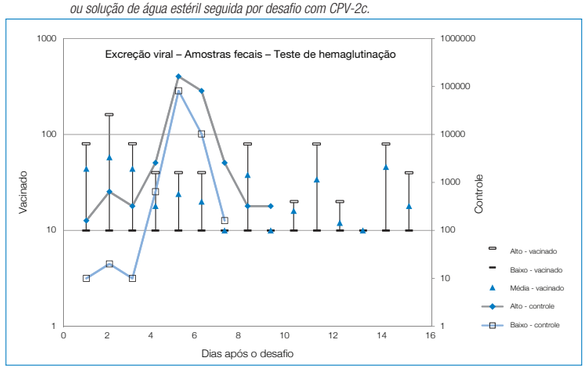
Gráfico 3: *Títulos para CPV por teste de hemaglutinação em amostras fecais em cães vacinados com Vanguard®7 ou solução de água estéril seguida por desafio com CPV-2c.*