

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-*LEPTOSPIRA* SPP,
TOXOPLASMA GONDII E *NEOSPORA CANINUM* EM CÃES
RECOLHIDOS DAS RUAS E ALBERGADOS EM CANIL
PRIVADO DE AVARÉ-SP**

CLAUDIA CRISTINA GONÇALEZ

BOTUCATU - SP

Janeiro 2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

**PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-*LEPTOSPIRA* SPP,
TOXOPLASMA GONDII E *NEOSPORA CANINUM* EM CÃES
RECOLHIDOS DAS RUAS E ALBERGADOS EM CANIL
PRIVADO DE AVARÉ-SP**

CLAUDIA CRISTINA GONÇALEZ

Dissertação apresentada junto ao
Programa de Pós-Graduação em
Medicina Veterinária para obtenção do
título de Mestre.

Orientador: Prof.Ass. Dr. Antonio Carlos Paes

BOTUCATU - SP

Janeiro 2008

Banca Examinadora:

Prof. Ass. Dr. Antonio Carlos Paes

Profa. Dra. Simone Baldini Lucheis

Prof. Dr. Luíz Florêncio Franco Margatho

Dedico este trabalho a Deus; às minhas fontes de inspiração e esteio – Antonio Gonzalez (pai-herói, amigo, mestre-instrutor, abraço terno) e Nair (mãe-doçura, meu olhar terno e alegria); aos meus cúmplices eternos – Antonio Carlos (irmão-amigo, meu exemplo de sabedoria), Flávio (irmão-amigo, fonte de força e garra), Marlene (cunhada-irmã, amiga para tudo), Leonardo (meu sobrinho, nosso pequeno gênio). Giovana (amiga da boa hora), Franciane (amiga que fez fluir este trabalho) e a todos os amigos que me impulsionaram a concluir este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Pai Eterno, pela presença constante, dons e graças.

Ao meu orientador Prof. Dr. Antonio Carlos Paes, pelo constante olhar terno e amigo mesmo pela minha dificuldade em estar na Universidade, soube compreender e esteve sempre disposto a me ajudar.

À minha família, pelo apoio, incentivo, amor incondicional e compreensão.

Ao Prof. Dr. Hélio Langoni por ter cedido seus laboratórios para que eu pudesse executar meus experimentos, bem como, aos pós graduandos Rodrigo, Leila e Haroldo que me acompanharam em tais.

A Rosana Mercadante, proprietária do “Abrigo Picolina” canil privado onde colhi as amostras, seus funcionários que me ajudaram na contenção dos cães.

Aos meus amigos de longa data, com os quais partilho conselhos, incentivos na busca de sonhos e discussões sobre todos os assuntos, pela amizade eterna.

Aos amigos de curso e professores que contribuíram no desenvolvimento deste trabalho.

À Universidade Estadual Paulista, pela oportunidade de formação por meio do curso de Mestrado em Medicina Veterinária e todos seus profissionais dos diversos setores, biblioteca, laboratórios... .

AGRADEÇO.

RESUMO

O objetivo deste estudo foi investigar o perfil sorológico de 300 cães sem raças definidas, de diferentes faixas etárias e sexo para *Leptospira* spp, *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum*, expostos aos antígenos na cidade de Avaré (SP). Os cães estavam vivendo nas ruas e posteriormente foram levados a um canil privado com alimentação, vermifugação e assistência veterinária desde 2003, onde as amostras de soro foram obtidas.

Pela proximidade com o homem, esses cães foram testados para três importantes doenças: leptospirose, toxoplasmose e neosporose caninas. O método diagnóstico utilizado para leptospirose foi a Prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM). Os resultados indicaram a prevalência de 9,33% e o sorovar reagente de maior frequência foi o *bratislava* 35,7%, *cynopteri* 17,9%, *autumnalis* 14,3%, *copenhageni* 10,7%, com igual proporção de 7,1% para os sorovares: *icterohaemorrhagiae*, *canicola*, *hardjo* e não reação para os sorovares : *australis*, *djasiman*, *gryppotyphosa*, *pomona* e *pyrogenes*. Foi utilizado o Método de Aglutinação Direta (MAD-AF) para o diagnóstico da toxoplasmose com 26% dos animais reagentes a toxoplasmose com títulos variando entre 16 e 256, os respectivos números são: 16 (3,33%), 64 (13,66%) e 256 (9%). Para o diagnóstico da neosporose canina utilizado Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), somente 2 dos 300 cães testados mostraram anticorpos para *Neospora caninum* (0,66%) com diluições de 1:25 e 1:100.

Palavras-chave: Zoonoses, cães, prevalência.

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the serological profile of 300 mongrel dogs various ages and sex, from the city of Avaré (SP), to the antigens of *Leptospira* spp, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*. The dogs were living on the streets, and afterwards directed to a private kennel with food, since 2003, receiving vaccine, vermifuge and veterinarian assistance, and the serum samples were obtained in this place. Because of the man proximity, these dogs were tested to three important diseases: leptospirosis, toxoplasmosis and neosporosis. The diagnostic method run for leptospirosis was the Microscopic Agglutination Test (MAT). The results indicated a prevalence of 9,33%, and most frequent reactant serovars were *bratislava* (35,7%), *cynopteri* (17,9%), *autumnalis* (14,3%), *copenhageni* (10,7%), and 7,1% to all the following serovars: *icterohaemorrhagiae*, *canicola* e *hardjo*. It was no response to the serovars *australis*, *djasiman*, *grippotyphosa*, *pomona* and *pyrogenes*. It was used the Modified Agglutination test (MAT) for diagnosis of toxoplasmosis and 26% of animals were positive, with titers varying between 16 and 256, with the following results: 16 (3,33%), 64 (13,66%) and 256 (9%). Neosporosis was diagnosed by the Immunofluorescence antibody test (IFAT). Only two of the 300 tested dogs demonstrated *Neospora caninum* antibodies (0,66%), with positivity at 1:25 and 1:100 dilution.

Key – words: Zoonosis, dogs, prevalence

LISTA DE QUADROS

Tabela 1 - Resposta Sorológica à leptospirose em 300 cães errantes do município de Avaré (SP) pela prova de soroaglutinação Microscópica (SAM). Botucatu, SP (2008)_____ 39

Tabela 2 - Sorovares reagentes, Título de Reação e Nº de animais reagentes à prova de Soroaglutinação Microscópica para Leptospirose em 300 cães errantes do município de Avaré (SP). Botucatu (SP) 2008. _____ 41

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Porcentagem de cães reagentes e não reagentes à Leptospirose pela prova de Soroaglutinação Microscópica em 300 cães errantes do município de Avaré (SP). Botucatu (SP) 2008. _____ 40

Gráfico 2 – Resposta sorológica aos sorovares em 28 cães reagentes à Leptospirose pela prova de Soroaglutinação Microscópica, segundo os sorovares utilizados no teste em 300 cães errantes do município de Avaré (SP). Botucatu (SP), 2008. _____ 40

Gráfico 3 – Titulações apresentadas no teste de Aglutinação Direta para Toxoplasmose, em soros de 300 cães errantes do município de Avaré (SP). Botucatu (SP) 2008 _____ 42

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS	08
LISTA DE GRÁFICOS	09
SUMÁRIO	10
1. INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA	11
1.1. LEPTOSPIROSE	11
1.2. TOXOPLASMOSE	17
1.3. NEOSPOROSE	22
2. OBJETIVO	30
3. MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1. CARACTERIZAÇÃO DO MUNICÍPIO DE AVARÉ	31
3.2. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRAGEM	31
3.2.1. ALOCAÇÃO DOS ANIMAIS	31
3.3. PROCEDIMENTOS	32
3.3.1. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL PARA LEPTOSPIROSE	32
3.3.1.1. PROVA DE SORO AGLUTINAÇÃO MICROSCÓPICA (SAM)	33
3.3.2. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL PARA TOXOPLASMOSE	33
3.3.2.1. MÉTODO DE AGLUTINAÇÃO DIRETA (PROTOCOLO MAD-AF)	33
3.3.2.2. PREPARAÇÃO DO ANTIGENO FIXADO PELA FORMALINA (AF)	34
3.3.2.3. TÉCNICA SOROLÓGICA	34
3.3.3. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL PARA NEOSPOROSE	35
3.3.3.1. REPIQUE DE CÉLULAS	35
3.3.3.2. INOCULAÇÃO	36
3.3.3.3. PREPARAÇÃO DAS LÂMINAS	36
3.3.3.4. REAÇÃO DE IMUNOFLORESCÊNCIA DIRETA (RIFI)	37
4. RESULTADOS	39
4.1. LEPTOSPIROSE	39
4.2. TOXOPLASMOSE	42
4.3. NEOSPOROSE	42
5. DISCUSSÃO	43
6. CONCLUSÕES	49
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
8. ANEXOS	59
9. TRABALHO CIENTÍFICO	60

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

Este trabalho é sobre uma pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp, anti-*Toxoplasma gondii*, e anti-*Neospora caninum*, agentes causadores da leptospirose, toxoplasmose e neosporose respectivamente. Três importantes doenças onde se destaca a leptospirose pelo grande número de agentes transmissores, os ratos, presentes em grande número em nossas cidades, assim como cães que perambulam pelas ruas e que podem eliminar leptospirosas pela urina contaminada, contagiando pessoas, outros animais e contaminando o ambiente.

1.1. LEPTOSPIROSE

A leptospirose é uma doença infecto-contagiosa aguda, zoonótica, cosmopolita, que acomete várias espécies de animais domésticos, silvestres e roedores. Entre os domésticos, em áreas urbanas, os cães assumem o papel de importantes fontes de infecção para os seres humanos (CORRÊA & CORRÊA 1992, GREENE et al. 1998, FAINE et al. 1999, MICHEL et al. 2002, SARKAR et al. 2002, BHARTI et al. 2003, SILVA et al. 2004, ASLANTAS et al. 2005, LILENBAUM et al. 2005, LOPES et al. 2005).

Em 460 a.C. Hipócrates descreveu a icterícia infecciosa. Em 1800 foi determinada e diferenciada por Larrey, médico militar francês, que observou no exército napoleônico no Cairo, Egito, dois casos em humanos. Hofer, no ano de 1850, foi quem primeiro relatou casos de cães com essa doença. Weil em 1886, na Alemanha, descreveu humanos com sinais clínicos característicos de leptospirose. Em 1898, Klett constatou uma epizootia canina e a determinou como doença de Stuttgart. Stimson nos EUA, em 1907, estudando cortes de rins de pacientes, verificou a presença do agente e o determinou *Spirochaeta interrogans*. Em 1918, Uhlenhuth e Fromm na Alemanha, descobriram que o agente da icterícia infecciosa

canina era um espiroqueta. No Brasil, os primeiros a estudarem esta doença em cães foram Darcoso Filho em 1940 e Azevedo & Santos em 1945 (CORRÊA & CORRÊA 1992, HORSCH 1999, ENRIETTI 2001).

A leptospira, agente etiológico da leptospirose, pertence à ordem *Spirochaetales*, família *Leptospiraceae*, gênero *Leptospira* e divide-se em 12 genomespécies distintas, *L. alexanderi*, *L. biflexa*, *L. borgpetersenii*, *L. fainei*, *L. inadai*, *L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. noguchii*, *L. santarosai*, *L. weilii*, *L. meyeri* e *L. wolbachii*, com mais de 250 sorovares (LETOCART et al. 1997, PEROLAT et al. 1998, BRENNER ET AL. 1999, QUINN et al. 2005, MERIEN et al. 2005). São microrganismos aeróbios obrigatórios, helicoidais, flexíveis e móveis, medindo usualmente de 6 a 20 µm de comprimento e de 0,1 a 0,2 µm de diâmetro. Apresentam as extremidades dobradas ou em forma de gancho e são constituídos por um corpo citoplasmático e um axóstilo ou filamento axial enrolados em espiral, sendo ambos envolvidos por uma membrana denominada envelope ou membrana envolvente. O citoplasma, por sua vez, é envolvido por uma membrana citoplasmática e uma camada de peptidoglicano, formando um complexo (complexo membrana citoplasmática-peptidoglicano). Na verdade, o axóstilo é constituído por dois flagelos periplasmáticos localizados entre a membrana envolvente e o corpo citoplasmático, cabendo àquela organela a motilidade da leptospira.

As leptospiros são cultiváveis em meios artificiais, sendo os mais empregados os meios de Fletcher, Stuart ou o de EMJH (Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris). Crescem bem a um pH de 7,2 – 7,8, numa temperatura ótima de 28 – 30°C, necessitando de um tempo variável de incubação de alguns dias a algumas semanas, geralmente quatro semanas (CORRÊA & CORRÊA 1992, GREENE et al. 1998, HORSCH 1999, LOMAR et al. 2002, QUINN et al. 2005). Também podem ser isoladas por inoculação de material asséptico em hamsters e cobaias (LOMAR et al. 2002). A sobrevivência do microrganismo no ambiente

depende muito das variações das condições do solo e da água da região contaminada. A bactéria é sensível ao ressecamento, sendo inibida em pH inferior a seis ou superior a oito. Temperaturas ambientais inferiores (7°C a 10°C) ou superiores (34°C a 36°C) prejudicam a sobrevivência do microrganismo e estes são facilmente inativados por desinfetantes.

A umidade e a água presentes no solo são os fatores mais importantes para a permanência do agente. Há registros de sobrevivência por até 183 dias em solo saturado com água, mas sobrevive apenas 30 minutos quando o solo está seco ao ar. A sobrevivência é maior em água parada que em água corrente. Entretanto, mesmo assim, existem relatos de sobrevivência do agente em água corrente por 15 dias (RADOSTITS et al. 2002). Eles têm curta sobrevivência em água salgada e no leite não-diluído, mesmo quando proveniente de animais doentes (LOMAR et al. 2002)

O grande número de sorovares existentes dificulta os estudos, uma vez que podem ocorrer variações regionais, bem como variações nas espécies estudadas. Constata-se, ainda, uma predileção dos diferentes sorovares por determinadas espécies, podendo um hospedeiro ser infectado simultaneamente por mais de um sorovar (ACHA & SZYFRES 2003).

Em cães com leptospirose, os sorovares mais comumente encontrados nos exames sorológicos são *icterohaemorrhagiae* e *canicola*, no entanto, outros são relatados com menor frequência como: *pomona*, *grippotyphosa*, *castellonis*, *pyrogenes*, *australis*, *andamana*, *shermani*, *cynopteri*, *celledoni*, *autumnalis*, *australis*, *ballum*, *javanica*, *bratislava*, *hardjo*, *hardjobovis*, *hebdomadis*, *butembo*, *illini*, *sejroe*, *djasman*, *tarassovi*, *patoc*, *panamá*, *wolffi*, *brasiliensis*, *bataviae* e *copenhageni* (RYU 1976, FARRINGTON & SULZER 1982, VAN DEN BROEK et al. 1991, GREENE et al. 1998, SCANZIANI et al. 1994, ALVES et al. 2000, PRESCOTT et al. 2002, PRESCOTT et al. 2002, SILVA et al. 2003, BATISTA et al. 2004, RODRIGUES ET AL. 2004, BROD et al. 2005).

As leptospirosas podem ser transmitidas pelo contato direto, transmissão venérea e placentária, feridas ou ingestão de carne infectada. Já transmissão indireta ocorre por meio da exposição de animais susceptíveis à vegetação, solo, alimentos, água contaminada e fômites (GREENE et al. 1998).

As leptospirosas são eliminadas do organismo animal pela urina, contaminando o meio ambiente. Os verdadeiros reservatórios das bactérias são os próprios animais, que têm uma leptospiúria prolongada e geralmente não apresentam sinais clínicos da doença. As condições do meio ambiente são importantes para a sobrevivência do agente causal, visto que requerem um ambiente úmido, com pH neutro ou ligeiramente alcalino e uma temperatura favorável (ACHA & SZYFRES 2003), como os encontrados especialmente nas regiões tropicais, onde a leptospirose apresenta-se de forma endêmica (GONSALEZ et al. 1998).

Os fatores de risco associados à infecção dependem também de características da organização espacial, dos ecossistemas e das condições de vida e trabalho da população (MURHEKAR et al. 1998.). A análise espacial tem sido aplicada em epidemiologia para auxiliar a compreensão da dinâmica das doenças infecciosas, crônicas e não-infecciosas ou decorrentes de fatores ambientais transitórios (MARSHALL 1991). O cão dentre os animais domésticos urbanos, é uma das principais fontes de infecção da leptospirose humana, pois vive em contato direto com o homem (ALVES et al. 2000).

A incidência da leptospirose é mais elevada em regiões tropicais que nas temperadas e sua casuística é mais significativa em estações chuvosas durante as enchentes; é considerada um sério problema de saúde pública em países em desenvolvimento (TREVEJO et al. 1998, DAHER & NOGUEIRA 2000, PLANK & DEAN 2000, BRASIL 2004, LEVETT 2004). Em países desenvolvidos tem sido identificada como uma zoonose reemergente (KATZ et al. 2002). Também o componente sócio-econômico-cultural, que corresponde a interferências do homem sobre o ecossistema, favorece o aumento da doença. Da mesma forma, inclui-se nessa

categoria fatores variados como os hábitos sociais e alimentares, as crenças religiosas e as condições tecnológicas (estruturas sanitárias, natureza do trabalho.) (CÔRTEZ 1993).

Desta forma, a leptospirose é considerada uma zoonose ocupacional que pode acometer indivíduos com profissões de baixo nível financeiro, educacional e que habitam e/ou trabalham em locais sem saneamento básico. Os profissionais com maior risco de contaminação são médicos veterinários, trabalhadores de esgotos, agricultores, pecuaristas, laboratoristas, açougueiros e os trabalhadores da limpeza pública (VASCONCELOS et al. 1992, LANGONI 1999, BRASIL 2002, JOHNSON et al. 2004, NÁJERA et al. 2005).

O cão tem grande importância na transmissão da leptospirose por viver domiciliado na maioria das casas e pode por isso ser uma importante fonte para a origem da enfermidade (LEVETT, 2001). Animais que vivem em áreas urbanas, com condições higiênico sanitárias ruins, junto à lixões e esgotos à céu aberto, apresentam maior chance de adquirir leptospirose (GENOVEZ, 1996). Os cães, mesmo tendo sido imunizados, podem excretar leptospiras pela urina por longo período de tempo. O contato indireto com água ou solo contaminado com urina contaminada com leptospiras é via comum de infecção para o homem (BHARADWAJ 2004).

A infecção nos cães pode variar de assintomática a quadros clínicos graves. A leptospirose aguda tem início súbito com emese, diarreia, anorexia, hipertermia e depressão. A forma mais grave é a hemorrágica, que se instala repentinamente e a temperatura permanece geralmente acima de 41°C por dois a quatro dias, seguida por rigidez e mialgias nos membros posteriores, hemorragias na cavidade bucal com tendência a necrose e faringites. Em uma etapa posterior, haverá gastroenterite hemorrágica, hepatite, nefrite aguda, causando intensa dor abdominal, o que leva o animal a andar pouco e com o dorso arqueado. As mucosas estarão congestas, principalmente a conjuntiva, apresentando icterícia, que poderá ser visualizada ao se observar a esclerótica ou ser tão intensa que se tornará visível na

mucosa bucal e pele. A urina apresenta-se de cor amarelo âmbar e surgem úlceras bucais com odor urêmico. Pode apresentar também, sinais encefálicos e abortamento. Tanto na infecção pelo sorovar *canicola* como pelo *icterohaemorrhagiae* pode haver icterícia, predominando esse sintoma, sobretudo na infecção por este último sorovar (CORRÊA & CORREA 1992a, GREENE et al. 1998, ACHA & SZYFRES 2003). Esses dois sorovares citados estão classicamente ligados ao ciclo urbano da leptospirose, uma vez que apresentam como reservatórios principais o roedor e o próprio cão. Sua ocorrência está diretamente ligada a fatores ambientais tais como saneamento básico, índices pluviométricos e coleta regular de lixo. Estas condições estão diretamente ligadas ao crescimento da população de roedores e na ocorrência de contato direto ou indireto do homem ou do cão com a água contaminada pela urina desses reservatórios sinantrópicos.

Considerando as dificuldades circunstanciais encontradas para o isolamento do agente etiológico de casos de leptospirose, emprega-se a sorologia como a principal prova e a mais freqüente usada para um diagnóstico aproximado de leptospirose. O teste de soroaglutinação microscópica (SAM) é o teste padrão de referência para o diagnóstico sorológico devido a sua alta sensibilidade e especificidade (COLE et al. 1973, CUMBERLAND et al. 1999) e é adotado no Brasil como teste de referência para o sorodiagnóstico da leptospirose humana e animal (BRASIL 1995).

A leptospirose animal representa um ponto de preocupação para os profissionais envolvidos com a saúde animal e saúde pública veterinária (BRASIL 1995). É uma doença presente em países emergentes, sendo justificáveis trabalhos epidemiológicos em busca da sua dinâmica, para que sejam utilizadas medidas profiláticas e de controle.

1.2. TOXOPLASMOSE

O *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) foi descrito pela primeira vez, em 1908, por Nicolle e Manceaux, no Instituto Pasteur da Tunísia, ao norte da África, sendo encontrado no cérebro do roedor selvagem *Ctenodactylus gondii*. Neste mesmo ano, foi descrito em um coelho de laboratório por Splendore, em São Paulo, Brasil (SPLENDORE 1908, NICOLLE & MANCEAUX 1908). O nome do gênero é derivado de *toxon*, palavra grega que significa arco e se refere à forma que os taquizoítos apresentam *in vitro*, já o nome da espécie deriva do roedor *Ctenodactylus gondii*, onde o agente foi isolado pela primeira vez. As primeiras implicações da doença humana datam de 1923, quando Janku observou cistos de *T. gondii* na retina de uma criança de 11 meses com hidrocefalia e microftalmia (JANKU 1923). Dez anos mais tarde, foi descrita a doença congênita causada pelo *T. gondii* e, na década de 40, a infecção adquirida foi descrita em um paciente adulto, que faleceu de toxoplasmose generalizada. Entretanto, a frequência da infecção humana só foi conhecida a partir de 1948, com a introdução do clássico teste do corante de Sabin & Feldman (SABIN & FELDMAN 1948). O *T. gondii* possui uma estrutura populacional altamente clonal apesar da capacidade de recombinação gênica no hospedeiro definitivo (HOWE & SIBLEY 1995), que consiste predominantemente de três linhagens, designadas I, II e III, indicando que sua propagação na natureza ocorra principalmente pela replicação assexuada ou por cruzamentos uniparenterais. As cepas de *T. gondii* tipo I ocorrem predominantemente em casos de toxoplasmose humana congênita, enquanto que as cepas do tipo II são prevalentes em pacientes com síndrome da imunodeficiência adquirida – AIDS (HOWE & SIBLEY 1995, FUENTES et al 2001). O homem e os animais podem infectar-se pelas três formas do ciclo de vida: (1) via oral pela ingestão de oocistos eliminados nas fezes de felídeos e infectantes após esporulação em um a cinco dias, (2) pela ingestão de cistos em tecidos de hospedeiros intermediários, e (3) via

uterina pela transmissão transplacentária de taquizoítos. O *T. gondii* também pode ser transmitido em produtos sanguíneos, transplantes de órgãos, ou pela ingestão de taquizoítos, em leite caprino não pasteurizado (TENTER 1999). O taquizoíto (*takhys* = rápido), células em formato de arco com dimensões que variam de 4 a 8µm de comprimento por 2 a 4µm de diâmetro, é a forma encontrada durante a fase aguda da infecção, de multiplicação rápida, dentro de vacúolos citoplasmáticos (vacúolos parasitóforos) de várias células, como nas células do sistema fagocítico mononuclear, células hepáticas, pulmonares, nervosas, submucosas e musculares. O bradizoíto (*bradys* = lento), forma de multiplicação lenta do parasita, é encontrado dentro do vacúolo parasitóforo de uma célula, cuja membrana forma a cápsula do cisto tecidual. Os cistos teciduais medem cerca de 50 a 200 µm, contendo centenas de bradizoítos, e estão localizados predominantemente no sistema nervoso central, globo ocular, bem como nos músculos esquelético e cardíaco (JACOBS 1967, DUBEY et al. 1998, KAWAZOE 2000). Estes cistos são inativados após o congelamento a -20°C, ou aquecimento a +65°C, e sob radiação ionizante com doses de 50 Gy de ¹³⁷Cs (DUBEY et al. 1986, KOTULA et al. 1991) constituindo assim, o congelamento e o cozimento completo da carne, algumas das formas de profilaxia da transmissão da toxoplasmose humana. Os oocistos são as formas de resistência que possuem uma parede dupla bastante resistente às condições ambientais (TENTER et al. 2000). São produzidos nas células intestinais de felídeos não imunes, e eliminados imaturos junto com as fezes (DUBEY et al. 1998, KAWAZOE 2000). Podem permanecer por meses e até anos viáveis no meio ambiente em uma temperatura entre -20°C e +37°C (DUBEY & FRENKEL 1972), desde que não exposto à luz solar direta e sob condições razoáveis de umidade relativa (AZEVEDO et al. 1983). Os felídeos excretam oocistos de *T. gondii* nas fezes 3 a 10 dias após ingestão dos bradizoítos, ao redor de 18 dias após a ingestão dos oocistos esporulados, e de 13 dias após ingestão de taquizoítos. Menos de 30% dos felídeos que ingerem oocistos ou taquizoítos eliminam oocistos (DUBEY 1998b).

As principais formas infectantes do *T. gondii*, envolvidas na transmissão do parasita, são o cisto tecidual contendo bradizoítos e o oocisto contendo esporozoítos. Após a ingestão, a parede externa do cisto ou oocisto é rompida por degradação de enzimas proteolíticas no trato gastrointestinal, e os estágios infectantes (bradizoítos ou esporozoítos) são liberados no lúmen intestinal e se convertem em taquizoítos. A disseminação dos taquizoítos ocorre pelo rompimento de células infectadas, invasão de células adjacentes e pelo sangue. Estes podem infectar qualquer célula nucleada do organismo por penetração ativa, caracterizando a fase aguda da doença, e se estendendo por todo o corpo do hospedeiro. (WONG & REMINGTON 1994). A variação da prevalência parece ser devida a fatores climáticos, geográficos, hábitos alimentares, tipo de trabalho, etc., indicando que os mecanismos de transmissão devem ocorrer de várias formas do parasita. Oocistos em fezes de gato jovem infectado, cistos presentes em carnes cruas ou mal cozidas, taquizoítos encontrados no leite, saliva, esperma, lambadura ou perdigotos ou, ainda, congenitamente (WARNEKULASURYIA et al. 1998, KAWAZOE 2000). Os gatos têm importância fundamental na toxoplasmose. Quando a doença ocorre em gatos jovens não imunes (primoinfecção), há produção de milhares de oocistos, eliminados nas fezes, caracterizando o estágio enteroepitelial. Tanto os gatos domésticos como os selvagens (ocelote, jaguar, jaguatirica, etc.) são os únicos animais nos quais o parasita pode realizar o ciclo sexuado, eliminando após a primoinfecção milhares de oocistos imaturos pelas fezes. Além disso, o carnivorismo e a disseminação de oocistos por insetos, minhocas, etc., interferem na ampla distribuição desse protozoário (DUBEY et al. 1998, KAWAZOE 2000). A toxoplasmose humana é, na maioria das vezes benigna e assintomática em 60% dos casos (SAWADOGO et al. 2005). Entre 15 a 85% da população humana adulta é cronicamente infectada com *T. gondii*, dependendo da localização geográfica (DUBEY & BEATTIE 1988). Nos Estados Unidos da América, estimam-se 1.500.000 infecções anuais, sendo cerca de 15% sintomáticas. Neste país, entre 1992 e 1996, a

toxoplasmose foi a responsável por cerca de 5.000 hospitalizações, com pelo menos 2.500 casos de origem alimentar, representando 4,1% das internações causadas por infecções alimentares. Foram registrados 750 óbitos por toxoplasmose, com cerca de 50% de infecções adquiridas pelo consumo de alimentos contaminados, o que representa 20,7% das mortes associadas às infecções de origem alimentar, ficando abaixo somente da *Salmonella* (30,6%) e da *Listeria monocytogenes* (27,6%). Além disso, o desenvolvimento de casos crônicos de toxoplasmose, como naqueles indivíduos infectados pela via congênita, nos que desenvolvem coriorretinite e em pacientes infectados pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV), é estimado em 4.700 a 12.100 casos anuais (MEAD et al. 1999). Produtos alimentícios das aves provavelmente não são importantes na transmissão devido à quantidade de *T. gondii*, em frangos, ser baixa e a carne usualmente resfriada e/ou cozida antes do consumo. Por outro lado, a carne de animais selvagens pode ser uma fonte de infecção para *T. gondii*, tendo sido encontrados nos músculos de cervos, alces e ursos infectados naturalmente (ECKERT 1996). Estimativas indicam que 0,02% da população norte-americana sofre de algum grau de imunodeficiência, o que pode contribuir para uma maior susceptibilidade a doenças oportunistas. Nesta população incluem-se mulheres grávidas, pessoas com mais de 65 anos de idade, pacientes sob tratamento para câncer, transplantados e portadores do HIV (SMITH 1997). Modelos experimentais de toxoplasmose têm sido desenvolvidos em animais de laboratório para estudar variados aspectos desta enfermidade. Como observado em outras doenças parasitárias, a patologia da infecção pelo *T. gondii* resulta da interação entre fatores parasitários e do hospedeiro. Isto reforça as dificuldades em comparar os dados, algumas vezes discordantes, obtidos por diferentes laboratórios, uma vez que geralmente os modelos experimentais variam em muitos aspectos: a linhagem do animal, a via de infecção, a cepa de *T. gondii* utilizada, as condições de manutenção e o número de passagens do parasita (ZENNER et al. 1998).

A toxoplasmose pode ser dividida em duas fases: a aguda, onde o parasita se dissemina pelos tecidos do hospedeiro, e a fase crônica que se caracteriza pela presença de cistos em cérebro e musculatura de animais infectados.

O desenvolvimento da imunidade está associado com a interrupção da replicação de taquizoítos e a formação de cistos teciduais latentes contendo bradizoítos, o que caracteriza a fase crônica da infecção (JACOBS 1967). O diagnóstico sorológico da toxoplasmose é fácil, sendo realizado por provas sorológicas com a pesquisa de anticorpos IgM e IgG, mas a definição do momento da infecção é difícil, devido a prevalência de altos títulos de anticorpos IgG e a persistência de anticorpos IgM específicos entre indivíduos normais (BERTOZZI et al. 1999).

Para triagem em ampla quantidade de amostras, o teste do corante ou reação de Sabin-Feldman (SF) e a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) não são aconselháveis por várias razões. A Técnica de Aglutinação Direta Modificada (MAT), utilizando taquizoítos inativados pela formalina, para a detecção de IgG tem sido amplamente utilizada em muitas espécies de animais domésticos, silvestres e também na espécie humana, sendo muito sensível, específica, não espécie-específica e de fácil realização. A MAT detecta apenas IgG, porque o 2-mercaptoetanol (2ME), utilizado no teste, inativa as IgM específicas e não específicas. No entanto, o teste pode ser realizado com a utilização de acetona ou formalina como inativadores dos taquizoítos, permitindo assim diferenciar as IgGs de fase aguda e crônica da infecção (WILSON et al. 1990).

A grande maioria dos animais infectados por *T. gondii* resiste à infecção, tornando-se portadores, de modo que a toxoplasmose-infecção é muito difundida (CORRÊA & CORRÊA 1992b) e uma das mais comuns no homem, em todo o mundo (DUBEY et al. 1998, SÁFADI 2000, TENTER et al. 2000). A toxoplasmose-doença é mais rara, apesar de sua distribuição mundial. A infecção pelo *T. gondii* constitui uma das zoonoses mais difundidas no mundo.

Em todos os países, grande parte da população humana e animal (mais de 300 espécies de animais entre mamíferos e aves – domésticos ou silvestres) apresentam parasitismo pelo *T. gondii*. Nos mais variados climas e condições sociais chega a apresentar uma percentagem de indivíduos positivos que varia de 20 a 83% (1 a 2 bilhões de pessoas) da população. Em algumas regiões, 40 a 70% de humanos adultos, aparentemente sãos, apresentam-se sorologicamente positivos para toxoplasmose. É do conhecimento dos especialistas que o número de pessoas com sorologia positiva para *T. gondii* é enorme sendo, talvez, o protozoário mais difundido entre a população humana e animal, incluindo as aves e excetuando-se os animais de sangue frio, como os répteis (DUBEY et al. 1998, KAWAZOE 2000). Nos Estados Unidos da América, pela análise dos dados de nove sistemas nacionais de notificação em saúde e dados publicados em periódicos especializados, estimam-se 1.500.000 infecções anuais, sendo cerca de 15% sintomáticas (MEAD et al. 1999).

1.3. NEOSPOROSE

Doença recentemente diagnosticada causadora principalmente de abortamentos endêmicos e epidêmicos, perdas neonatais em bovinos, tem o cão como hospedeiro definitivo do agente causador, o protozoário *Neospora caninum*.(MCALLISTER et al. 1998)

A observação de um parasita com estrutura semelhante ao *Toxoplasma gondii* foi realizada por Bjerkas et al em 1984, quando estudaram cães portadores de miosite e encefalite.

Foi constatado também em cães na Noruega, relacionado a um quadro de paralisia com a presença de cistos no cérebro e tecido muscular. Esses animais, no entanto, não tinham anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, que podem causar lesões similares (BJERKAS et al. 1984).

Dubey et al em 1988, identificaram e verificaram que esse agente causava uma forma clínica mais severa do que o *Toxoplasma gondii* e constataram diferenças estruturais e histopatológicas entre ambos, denominando-o *Neospora caninum*, protozoário até então confundido com *Toxoplasma gondii*, também pertencente à família *Sarcocystidae*. O exame de amostras tissulares armazenadas revelou que o agente já acometia cães com sinais neurológicos desde a década de 50 não se tratando, pois, de um agente patológico novo, mas sim, recentemente diagnosticado (possivelmente tenha sido diagnosticado, até o final da década de 80, como *Toxoplasma gondii*) (DUBEY 1999, LOPES 1999).

Estudos seqüenciais de genes de uma pequena subunidade do RNA ribossomal de *Neospora* sp. isolados de bovinos e de cães, não revelou diferenças entre ambos, indicando serem da mesma espécie, ou seja, *Neospora caninum* é a espécie que provoca aborto em bovinos (MARSH et al. 1995) . O cão é o hospedeiro definitivo, capaz de eliminar oocistos nas fezes, o que pode ser constatado após inoculação por via oral, de cistos teciduais de camundongos infectados (MCALLISTER et al. 1996).

Foi reconhecido como o principal causador de aborto em bovinos leiteiros da Califórnia em 1991 (ANDERSON et al. 1991).

Outro passo importante no conhecimento da biologia desse agente foi dado por McAllister et al, em 1998, quando descobriram ser o cão o hospedeiro definitivo.

Gondim et al em 1999, fizeram o primeiro isolamento do protozoário no Brasil; porém esta enfermidade já fora descrita em 1989 nos Estados Unidos, onde pela primeira vez foi relacionada à causa de abortamentos em bovinos, cinco anos após ter sido diferenciada da toxoplasmose em cães, seu hospedeiro definitivo. Mas a primeira descrição foi divulgada em 1988, pois até então era freqüentemente confundido com *Toxoplasma gondii*. Tem ampla distribuição nos países de Primeiro Mundo, onde a doença é considerada a principal causa de abortamentos em bovinos de corte e de leite.

É um protozoário parasita intracelular obrigatório, formador de cisto e classifica-se como pertencente ao filo *Apicomplexa* classe Sporozoasida; sub classe *Coccidiasina*; ordem *Eucoccidiorida*; família *Sarcocistidae*; sub família *Toxoplasmatinae*; gênero *Neospora*. Há duas espécies conhecidas: o *Neospora caninum* e o *Neospora hughesi* (isolado do sistema nervoso central de eqüinos com sinais neurológicos e com diferenças do *Neospora caninum* quanto a ultraestrutura, antígenos e estrutura molecular). Esta classificação foi feita através de estudos morfológicos realizados com microscopia eletrônica e resultados da análise da seqüência de DNA, confirmando sua classificação e demonstrando ser este um protozoário intracelular obrigatório (COX 1991, ELLIS et al. 1994).

Todos os protozoários da família *Sarcocistidae* têm os carnívoros como hospedeiros definitivos e uma ou mais espécies de possíveis presas como hospedeiros intemediários. O cão é o hospedeiro definitivo do *Neospora caninum*, eliminando oocistos do protozoário em suas fezes. Possivelmente outros canídeos também possam fechar o ciclo do protozoário, como o *Pseudalopex gymnocercus* e *Cerdocyon thous* (graxaim-do-campo e cachorro do mato ou raposa). Além disso, o cão também serve como hospedeiro intermediário formando cistos em seus tecidos, à semelhança de eqüinos, bovinos, ovinos, caprinos e veados (DUBEY 1999).

Não há relatos no mundo de casos da doença em humanos, embora já tenham sido detectados anticorpos anti-*Neospora caninum*.

Os cães eliminam oocistos não esporulados nas fezes. São esféricos, com 10 a 11 µm de diâmetro, muito similares aos de *Hammondia heydorni* do cão e *Hammondia hammondi* e *Toxoplasma gondii* do gato. Os oocistos esporulam em 24-72 horas, ficando cada oocisto esporulado com dois esporocistos, cada um com quatro esporozoítos. Ainda é desconhecida a sobrevivência desses oocistos no ambiente(DUBEY 1999).

O hospedeiro intermediário ingere o oocisto esporulado, ocorre a liberação dos esporozoítos na luz intestinal, penetram nas células da parede e passam a se chamar taquizoítos. São ovóides, lunares ou globulares, dependendo do estágio de divisão, e medem de 6 x 2 µm. Os taquizoítos se dividem rapidamente, e podem penetrar em diversas células do hospedeiro (macrófagos, polimorfonucleares, neurônios, fibroblastos, endotélio vascular, miócitos, células tubulares renais e hepatócitos) causando severas lesões em diferentes órgãos. Alguns se transformam em bradizoítos, dentro de cistos de parede espessa, permanecendo latentes, em lenta divisão (LINDSAY, DUBEY, DUNCAN 1999). Os cistos são ovais ou circulares, com mais de 107 µm de diâmetro, encontrados, sobretudo no SNC, inclusive na retina. A parede é lisa, com 1 a 4 µm de espessura e o cisto não é septado. Os bradizoítos são resistentes a soluções pépticas e ácidas indicando que seu ciclo pode envolver a ingestão por carnívoros (DUBEY, LINDSAY, SPEER 1998).

Os cistos podem sobreviver mais de 14 dias a 4°C (refrigeração), mas o congelamento a -20°C torna-os não infectantes em 24 horas.

Embora o ciclo intestinal, que compreende a fase sexuada da evolução de *Neospora caninum*, não esteja descrito, os cães após ingerirem cistos teciduais, eliminam oocistos não esporulados nas fezes. Nas demais espécies pertencentes à subfamília Toxoplasmatinae, esse ciclo intestinal inicia-se com uma fase assexuada de multiplicação dos bradizoítos nas células epiteliais do intestino do hospedeiro definitivo. Ocorre uma multiplicação por endopoligenia e, logo, ocorre o ciclo sexuado, com a formação de micro e macrogametas. Após a fecundação dos macrogametas, formam-se os oocistos. Ciclo semelhante deve ocorrer com *Neospora caninum*.

A transmissão pode ser vertical (transplacentária) que é a principal forma de disseminação de *Neospora caninum* em rebanhos bovinos leiteiros, mantendo a infecção por várias gerações. Esse tipo de transmissão foi experimentalmente comprovado em bovinos,

ovinos, caprinos, felinos e macacos. Vacas soropositivas têm 95,2% de probabilidade de transmissão vertical de *Neospora caninum*. Por isso, em propriedades endêmicas, as taxas de soropositivas geralmente são idênticas entre terneiras e adultas.

A infecção horizontal (pós-natal), pela ingestão de água ou alimentos contaminados com oocistos liberados pelos cães também pode ocorrer, sobretudo em casos de surtos de abortos. Farias et al. (2003), constataram associação entre soroprevalência (e abortos) dos bovinos e presença de cães na propriedade, comprovando que o convívio cães/bovinos aumenta a prevalência de soropositivos para *Neospora caninum* em ambas as espécies. Da mesma forma, os cães de propriedades rurais apresentaram maior prevalência de infecção do que os de área urbana. Isto sugere que os cães de área rural podem adquirir a infecção pela ingestão de alimento contaminado de origem bovina, como fetos, membranas fetais e fluidos.

Os estudos epidemiológicos realizados até o momento indicam que a infecção pós-natal tem menor importância, ocorrendo em níveis inferiores aos verificados para a transplacentária. Essa hipótese é confirmada pela semelhança entre as prevalências de positivos nas diferentes faixas etárias.

A ingestão de taquizoítos de *Neospora caninum* com o colostro levou à resposta sorológica dos bezerros em experimentos, sendo um indicativo de que as fases assexuadas do parasita também podem causar infecção.

Sabe-se que, quanto à transmissão, *Neospora caninum* em bovinos difere de *Toxoplasma gondii* em ovinos, sobretudo por dois fatores: a infecção não necessita ocorrer durante a prenhez para atingir o feto, e, vacas que abortam um feto infectado podem causar nova infecção fetal nas próximas gestações.

Cadelas prenhas podem estar infectadas subclínicamente e transmitir *Neospora caninum* pela placenta a seus fetos, e ninhadas sucessivas podem nascer infectadas.

A maioria dos casos clínicos ocorre em filhotes, infectados congenitamente. Caracteriza-se por uma paralisia ascendente, com os membros posteriores geralmente mais afetados, podendo ter hiperextensão rígida ou flácida, provavelmente decorrente da poliradiculoneurite e miosite causadas pela infecção. Podem ainda apresentar dificuldade de deglutição, paralisia da mandíbula, cegueira, convulsões, incontinência urinária e fecal, flacidez e atrofia muscular e falha cardíaca.

Em cães adultos a apresentação é mais variada, e além do quadro neuromuscular, podem ocorrer dermatite piogranulomatosa, miocardite fatal e pneumonia.

Os cães podem sobreviver durante meses com paralisia progressiva, meningoencefalite, insuficiência cardíaca, complicações pulmonares e na maioria das vezes os animais precisam ser eutanasiados.

Na necropsia, podem ser constatadas lesões inespecíficas, como áreas de necrose do SNC, granulomas em vísceras, estrias esbranquiçadas nos músculos e megaeosôfago (BARBER 1988). Pode haver hepatomegalia e lesões musculares (atrofia e fibrose).

No exame microscópico, são identificados taquizoítos ou cistos em biópsias de tecidos (músculo) ou em aspirados citológicos (pulmonar, líquido, exudado de pústula dérmica). No SNC são detectados cistos, meningoencefalomielite multifocal não supurativa, infiltrado perivascular mononuclear ou polimorfonuclear, neovascularização, gliose e meningite (UGGLA et al. 1989).

Pode ocorrer necrose multifocal do miocárdio, com grupos de taquizoítos nos miócitos cardíacos. O fígado apresenta áreas multifocais de necrose e lipidose dos hepatócitos e nos pulmões verifica-se pneumonia intersticial difusa com necrose total de células epiteliais alveolares, hemorragia, edema, macrófagos no espaço alveolar, podendo ainda aparecer taquizoítos (JARDINE e DUBEY 1992).

Desde sua descrição, o *Neospora caninum* vem sendo implicado como um dos principais causadores de aborto em bovinos de praticamente todo o mundo, residindo aí sua importância econômica (DUBEY 1999a) Em algumas regiões, mais de 42,5% dos abortos são atribuídos a neosporose (ANDERSON et al. 1991).

O impacto econômico depende, além do valor dos fetos abortados, dos custos indiretos como: auxílio profissional, custo de técnicas de diagnóstico, aumento do tempo de lactação, possíveis quedas na produção de leite e redução da vida produtiva da vaca (THURMOND e HIETALA 1996). Essas perdas não estão devidamente quantificadas no mundo. Na Califórnia, foi estimado que esse protozoário pode causar prejuízos de 35 milhões de dólares por ano aos produtores de leite (LINDSAY 1998). Na Austrália, estima-se que a neosporose leve a perdas anuais de 85 milhões de dólares na bovinocultura de leite e de 25 milhões de dólares na produção de carne.

O diagnóstico clínico no cão é difícil, pois a sintomatologia nervosa pode confundir com traumatismos, patologias do disco intervertebral, cinomose e raiva, entre outros.

Exames hematológicos de bioquímica podem auxiliar o diagnóstico (níveis elevados de creatinina, de enzimas hepáticas e proteínas totais do líquido onde podem ser detectados bradizoítos).

Nas fezes, podem ser encontrados oocistos que precisam ser diferenciados de outros gêneros após sua esporulação, principalmente de *Hammondia* sp. cujo oocisto também é dispórico e tetrazóico (2 esporocistos, com 4 esporozoítos cada), além de ter tamanho similar. Para isso é feita inoculação experimental em animais de laboratório (preferencialmente gerbis).

As provas sorológicas mais utilizadas são RIFI e ELISA. A imunofluorescência com título maior ou igual a 50 indica exposição do cão ao agente. Um título maior ou igual a 800 em cão com sinais clínicos, é forte indício de neosporose.

No diagnóstico pós-morte, é necessário o uso de imunohistoquímica para detectar taquizoítos e cistos nos tecidos fixados (GIRALDI, BRACARENSE e VIDOTTO 2001).

2. OBJETIVO

Considerando-se a importância da leptospirose e da toxoplasmose caninas à saúde pública, tendo em vista o risco de infecção representado pelo estreito contato entre a espécie humana e os cães e levando-se em conta que a neosporose acarreta graves prejuízos econômicos a pecuária bovina, ainda que sem risco conhecido para a saúde humana, o presente estudo objetivou realizar um levantamento sorológico em relação a tais enfermidades em cães errantes procedentes de Avaré (SP).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. CARACTERIZAÇÃO DO MUNICÍPIO DE AVARÉ

Elevada a categoria de estância turística, Avaré localiza-se na região Sudoeste do estado de São Paulo, distante 260 Km da capital São Paulo. Está às margens do Rio Paranapanema, um grande volume de águas limpas. A cidade possui hoje 80 mil habitantes e uma área territorial de 1.217 Km².

Seu clima é o subtropical úmido com invernos secos e verões quentes com temperatura média de 20,6°C, e precipitação pluviométrica anual de 1.388,1 mm. A vegetação é o cerrado, floresta estacional semidecidual (IBGE, 2005; FUNDAÇÃO SEADE, 2005).

3.2. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRAGEM

3.2.1. Alocação dos Animais

ABRIGO PICCOLINA

Entidade criada e mantida pela iniciativa privada, desde Outubro de 2003, que cuida, recupera e disponibiliza para adoção cães que estavam abandonados pelas ruas de Avaré. Estes animais recebem atendimento veterinário voluntário, com medicação necessária e vacinação anual com:

Rai – Vac® I *Fort Dodge*, Vacina Inativada contra a Raiva e

Duramune® Max 5–CvK/4L *Fort Dodge*, vacina contra Cinomose, Hepatite, Adenovírus Tipo 2, Parainfluenza, Parvovirose, Coronavirose e Leptospirose.

As frações *Leptospira* das vacinas são preparadas a partir de componentes de membrana externa através da tecnologia O.M.C. (Outer Membrane Complex), usada para

extrair os antígenos altamente imunogênicos das células da *Leptospira icterohaemorrhagiae*, *Leptospira canicola*, *Leptospira grippotyphosa* e *Leptospira pomona*. (www.fortdodge.com.br; 2007)

A alimentação é ração, que é fornecida duas vezes ao dia sempre depois da higienização dos canis.

Todos os cães que totalizaram os 300 animais no aguardo de adoção, foram cedidos para que se procedesse o presente trabalho.

Procedeu-se a colheita de sangue dos 300 cães sendo 180 fêmeas e 120 machos, todos castrados e mantidos em canis, com capacidade para 5 animais cada, divididos em estado geral e idade compatíveis. Foram colhidos 5 mL de sangue, pela punção das veias cefálica ou jugular e encaminhados a um laboratório veterinário da cidade de Avaré, onde procedeu-se a centrifugação a 1.613g durante 10 minutos. O soro foi acondicionado em microtubos de plástico (ependorf) de 1,5 ml e mantido em freezer a -20°C , até o momento da realização das técnicas diagnósticas nos laboratórios das disciplinas de Zoonoses e de Planejamento de Saúde Animal e Saúde Pública da FMVZ – UNESP / Campus de Botucatu – SP.

3.3. PROCEDIMENTOS

3.3.1. Diagnóstico Laboratorial para Leptospirose

O diagnóstico é realizado principalmente através de métodos indiretos, baseando-se na demonstração de anticorpos. A principal prova utilizada é a de Soroaglutinação Microscópica (SAM), realizada rotineiramente somente em laboratórios especializados.

3.3.1.1. Prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM):

A técnica de Soroaglutinação Microscópica seguiu os critérios recomendados pelo Ministério da Saúde (Brasil, 1995). Foram utilizadas como antígenos culturas de cepas-padrão de *Leptospira* spp, mantidas por repiques semanais em meio líquido de EMJH. Para a realização do teste em caninos, foram utilizados doze sorovares: *australis*, *autumnalis*, *Bratislava*, *canicola*, *cynopteri*, *copenhageni*, *icterohaemorrhagiae*, *hardjo*, *djasman*, *grippityphosa*, *pomona*, *pyrogenes*. O grau de aglutinação foi observado em microscópio de campo escuro no aumento 10X, sendo considerado positivo os sorovares que possuam 50% ou mais de aglutinação à triagem, e como ponto final da reação a mais alta diluição do soro capaz de aglutinar 50% ou mais das leptospiros em relação ao controle.

3.3.2. Diagnóstico Laboratorial para Toxoplasmose

O diagnóstico foi realizado pelo Método de Aglutinação Direta (Protocolo MAD). Método diagnóstico realizado em laboratórios especializados, é um método específico, sensível e de fácil realização.

3.3.2.1. Método de Aglutinação Direta (Protocolo MAD-AF): Produção de antígeno para diagnóstico da Toxoplasmose

Foram inoculados cinco camundongos, via intraperitoneal, com 1mL de suspensão da cepa RH, previamente selecionada. Realizou-se lavado peritoneal, três dias após, com 10 mL de solução fisiológica 0,9% estéril, por animal. Observou-se ao microscópio se os parasitas estavam livres de contaminação bacteriana, hemácias e leucócitos. Os mesmos foram homogeneizados, volume a volume, com líquido ascítico tumoral (células de sarcoma murino TG180), previamente diluído a 1/8 em solução fisiológica 0,9% estéril, para obter um volume final de 60ml de suspensão. Com esta suspensão de taquizoítos e células tumorais, foram inoculados 30 camundongos Swiss, com 40 dias de idade (2mL para cada). Dois dias após, o exudato foi coletado com 10mL de solução fisiológica 0,9% estéril (DESMONTS e REMINGTON, 1980).

3.3.2.2. Preparação do Antígeno Fixado pela Formalina (AF)

Foi adicionado volume a volume solução de formalina-12% (formaldeído-6%), diluída em solução fisiológica 0,9%, à suspensão com parasitas, mantendo-se *overnight* a 4°C. No dia seguinte, centrifugou-se a 600g por 10 minutos e, ressuspendeu-se o sedimento, em 50ml de solução fisiológica 0,9%. A operação foi repetida mais três vezes, para remover o formaldeído, e finalmente, ressuspendida em solução tampão borato pH 8,7. A suspensão final, contendo 2×10^4 parasitas por μl , foi conservada a 4°C (DESMONTS e REMINGTON, 1980).

3.3.2.3. Técnica sorológica

O método de aglutinação direta foi deve ser realizado segundo o proposto por DESMONTS e REMINGTON (1980). As amostras de soro foram diluídas em microplacas de fundo chato, onde foi adicionado 150 μl de SST 0,01M pH 7,2 em todas as cavidades a serem

utilizadas. Na primeira cavidade, foi adicionado 10µl de soro (diluição 1:16) e, após homogeneização com o auxílio de micropipeta, transferiu-se 50µl para outra cavidade, equivalendo a diluição 1:64, procedendo-se assim até a diluição 1:8192. A seguir, 25µl de cada diluição do soro foi transferido para as respectivas cavidades de microplacas com fundo em “V”, e 25µl de 2-mercaptoetanol 0,2M, diluído em SST 0,01M pH 7,2 (MAD-AF) e, 50 µl do antígeno, diluído em solução tampão borato pH 8,7 (MAD-AF) foram adicionados às cavidades. As placas foram seladas com filme plástico, homogeneizadas por um minuto e incubadas a temperatura de 37°C, por seis horas ou *overnight*, procedendo-se a leitura com interpretação dos resultados. O teste foi considerado positivo, quando houvesse a formação de uma malha cobrindo pelo menos metade do fundo da cavidade, e negativo se houvesse a formação de botão, ou anel, no fundo da mesma.

3.3.3. Diagnóstico Laboratorial para Neosporose

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) foi empregada para a pesquisa de anticorpos anti *N. caninum*. Esta prova foi utilizada, pois é considerada a metodologia de referência para a pesquisa de anticorpos de *N. caninum*.

3.3.3.1. Repique de Células:

As células foram repicadas em garrafa de 25cm²: desprezou-se o meio (descarte em frasco de vidro autoclavado com gaze na abertura). Acrescentou-se 2 mL de tripsina,

aguardou-se 2 minutos a fim de que as células fossem sensibilizadas, desprezou-se o conteúdo, adicionou-se novamente a mesma quantidade de tripsina e descolou-se o tapete agitando a garrafa. Colocou-se 4 mL de meio RPMI1640 sem soro fetal bovino para neutralização da ação da tripsina. Passou-se de 0.1-1.0 mL (dependendo da quantidade de células que estavam soltas) para uma nova garrafa, contendo 6-8 mL de meio RPMI1640 com soro fetal bovino a 10%. Identificou-se a garrafa com tipo de célula, número da passagem e data (ex.: VERO R 3P 12/04).

Submetidas posteriormente ao congelamento a -80°C e descongeladas do nitrogênio líquido para um banho-maria a 37°C para descongelamento rápido.

3.3.3.2. Inoculação de *Neospora caninum*:

Utilizou-se uma garrafa já inoculada com *N. caninum* e com monocamada já destruída, homogeneizar com uma pipeta de 1 ml o conteúdo da garrafa. Deste meio retirou-se 0,5 mL e inoculou-se uma garrafa contendo uma monocamada de células mais 6-8 mL de meio RPMI1640 sem soro fetal bovino. Para a preparação de lâminas inoculou-se 1 mL.

3.3.3.3. Preparação das lâminas:

Homogeneizou-se o conteúdo da garrafa, transferiu-se para um tubo de centrifugação (15/50 ml), centrifugou-se a 1.500 rpm (350G) por 10 minutos a 4°C (2 vezes), removeu-se o sobrenadante, ressuspendeu-se os taquizoítos em PBS 7.2 (3 mL), avaliou-se ao microscópio para verificar a presença de 30-40 taquizoítos por campo, sensibilizou-se as lâminas, as quais foram mantidas a temperatura ambiente por 1 hora e posteriormente fixadas em metanol e acondicionadas em freezer a -20°C .

3.4. Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

O princípio da RIFI é a detecção de anticorpos direcionados aos antígenos de superfície celular dos taquizoítos de *N. caninum*. Como esses antígenos são considerados mais específicos do que os componentes intracelulares, os taquizoítos inteiros de *N. caninum* serão fixados nos orifícios de lâminas adequadas para este fim. Os anticorpos contra *N. caninum* presentes no soro, ligam-se aos taquizoítos do parasita. A seguir, utiliza-se anti-soro específico, conjugado ao isotiocianato de fluoresceína, para a formação de um complexo imune estável. Esta reação é detectada pela fluorescência dos taquizoítos.

As lâminas, utilizadas como antígenos, foram produzidas no laboratório do Serviço de Diagnóstico de Zoonoses, com a cepa NC-1 de *N. caninum*, mantida *in vitro*, cedida gentilmente pela Professora Dra. Solange Maria Gennari e pela médica veterinária Dra. Hilda Fátima de Jesus Pena, da Universidade de São Paulo – USP – São Paulo. Para a manutenção da cepa NC-1 de *N. caninum in vitro* foi utilizada se utilizando a cultura em células Vero, que são cultivadas em meio RPMI 1640, suplementado com soro fetal bovino a 10%.

As amostras de soros foram inicialmente triadas, considerando-se como ponto de corte o título 25. Em microplacas, seguindo-se protocolo, foram diluídos 10µl de cada amostra de soro em 240µl da solução de diluição contendo albumina sérica bovina (BSA), pH 7,4; incluindo-se os soros controles positivo e negativo. Após diluição, foram pipetados 10µl de cada amostra de soro nos poços das lâminas e incubados em câmara úmida a 37°C durante 30 minutos. A seguir foram lavados, com solução salina tamponada (PBS) pH 9,0 em dois banhos de 10 minutos cada. Após secagem, foram adicionados 10 microlitros de conjugado anti-IgG bovino preparado em solução de azul de Evans, previamente diluídos a 1:5 em PBS pH 9,0, em cada poço da lâmina.

Para a titulação, das amostras positivas, foram testadas diluições ao dobro, ou seja, 1:25, 1:50, 1:100, 1:200, 1:400 até 1:800. Nos casos de ocorrência de reação na última diluição testada, foram avaliadas novas diluições, para obtenção do título final.

4. RESULTADOS

4.1. LEPTOSPIROSE

Os cães foram testados para Leptospirose canina através da Prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM).

Os sorovares testados para leptospirose canina foram : AUS= *australis*; BRAT= *bratislava*; AUT=*autumnalis*; CAN= *canicola*; CYN= *cynopteri*; DJA= *djasman*; GRY= *gryppotyphosa*; COP= *copenhageni*; ICT = *icterohaemorrhagiae*; POM= *pomona*; PYR= *pyrogenes*; HAR= *hardjo*.

Tabela 1 - Resposta Sorológica à leptospirose em 300 cães errantes do município de Avaré (SP) pela prova de soroaglutinação Microscópica (SAM). Botucatu, SP (2008)

SOROVARES REAGENTES	SOROVARES NÃO REAGENTES
<i>bratislava</i> 35,7%	<i>australis</i>
<i>cynopteri</i> 17,9%	<i>djasman</i>
<i>autumnalis</i> 14,3%	<i>gryppotyphosa</i>
<i>copenhageni</i> 10,7%	<i>pomona</i>
<i>icterohaemorrhagiae</i> 7,1%	<i>pyrogenes</i>
<i>canicola</i> 7,1%	
<i>hardjo</i> 7,1%	

A resposta sorológica de aglutininas anti-leptospira em 300 cães errantes e posteriormente domiciliados em canil privado, advindos das ruas de Avaré-SP, foi de 9,33% (28/300) apresentando maior importância os sorovares *bratislava* com 35,7% (10/28) de incidência, seguido pelo sorovar *cynopteri* com 17,9% (5/28), *autumnalis* 14,3% (4/28), *copenhageni* 10,7% (3/28), *icterohaemorrhagiae*, *canicola* e *hardjo* com 7,1% (2/28) para cada sorovar. O número de cães não reagentes foi 272 (90,67%), como podemos observar nos gráficos 1 e 2.

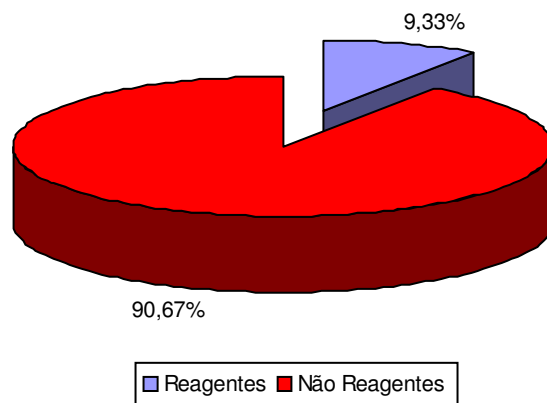


Gráfico 1 – Porcentagem de cães reagentes e não reagentes à Leptospirese pela prova de Soroaglutinação Microscópica em 300 cães errantes do município de Avaré (SP). Botucatu (SP) Botucatu (SP) 2008.

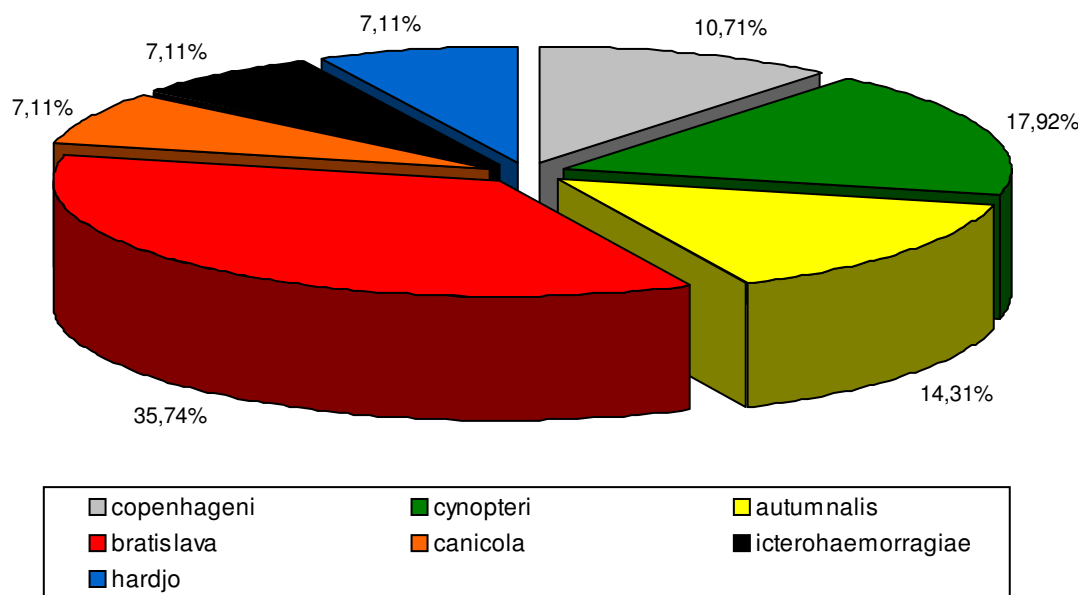


Gráfico 2 – Resposta sorológica aos sorovares em 28 cães reagentes à Leptospirese pela prova de Soroaglutinação Microscópica, segundo os sorovares utilizados no teste em 300 cães errantes do município de Avaré (SP). Botucatu (SP), 2008.

Sorovares	Título de Reação	Nº Incidência
Copenhageni	100	2
	200	1
Bratislava	200	3
	400	4
	800	2
	1600	1
	400	2
Icterohaemorrhagie	200	1
	400	3
	800	1
Canicola	100	1
	800	1
Hardjo	100	1
	200	1
Autumnalis	200	2
	800	2
Total de Reagentes		28

Tabela 2 -Sorovares reagentes, Título de Reação e Nº de animais reagentes à prova de Soroaglutinação Microscópica para Leptospirose em 300 cães errantes do município de Avaré (SP). Botucatu (SP) 2008.

4.2. TOXOPLASMOSE

Foi utilizado a técnica do Método de Aglutinação Direta (MAD) em soro de 300 cães errantes de Avaré (SP), 78 cães reagentes (26%), sendo que 10 cães (3,33%) obtiveram título de reação 16, 41 cães (13,66%) título 64, 27 cães (9%) título 256 e 222 cães (74%) foram Não Reagentes.

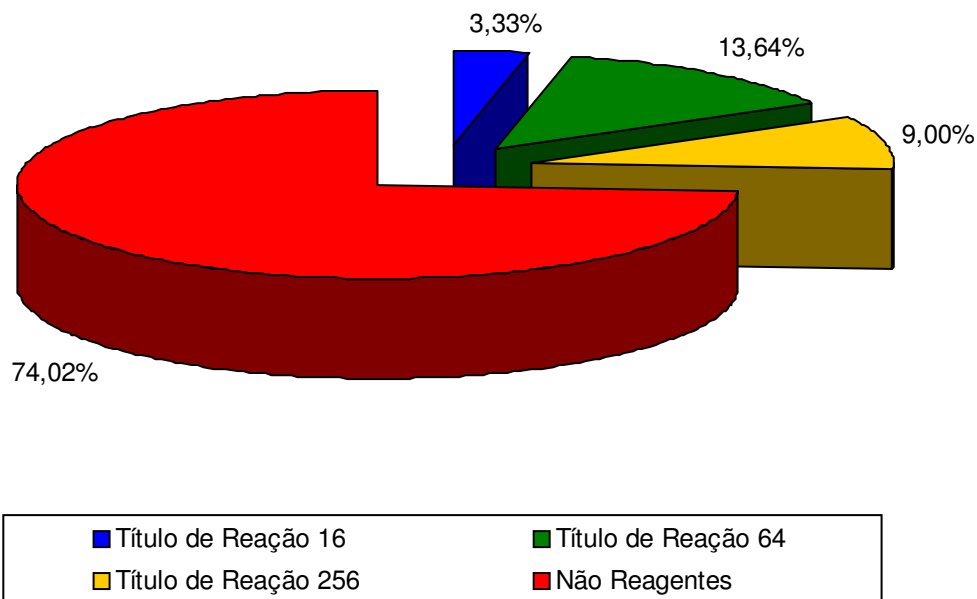


Gráfico 3 – Titulações apresentadas no teste de Aglutinação Direta para Toxoplasmose, em soros de 300 cães errantes do município de Avaré (SP). Botucatu (SP) 2008

4.3. NEOSPOROSE

Os soros dos 300 cães errantes do município de Avaré (SP), foram testados para neosporose apresentando-se apenas dois cães (0,66%) reagentes, um reagente com título 25 e outro com título 100.

5. DISCUSSÃO

LEPTOSPIROSE

A comparação com outros estudos realizados torna-se relativamente difícil, devido às variáveis geográficas, como clima, solo, estação do ano, sorovares utilizados, título utilizado como reativo e também ao tipo de dados epidemiológicos coletados envolvidos.

Santa Rosa et al. (1980) em um trabalho com 1428 cães da cidade de São Paulo colhidos com intervalo de 12 meses até 1977 obtiveram o sorovar *canicola* (50,7%) como o de maior importância, seguido do *icterohaemorrhagiae* (25,5%), *grippotyphosa* (6,7%) e *ballum* (4,4%).

Modolo et al. (2000) , utilizaram-se desses mesmos sorovares testados em 775 amostras de cães da cidade de Botucatu e obteve 119 soros reagentes sendo os sorovares *canicola* (40,3%) e *pyrogenes* (34,5%) os de maior importância.

Da Silva et al. (2003) também em uma campanha de vacinação anual da cidade de Botucatu testaram 1000 cães no ano de 2001, utilizando 24 sorovares, obtendo maior importância os sorovares *castellonis* (28,68%), *autumnalis* (19,12%), *pyrogenes* (17,65%), *icterohaemorrhagiae* (11,03%) e *canicola* (9,56%).

Em mais um estudo onde prevaleceu o sorovar *canicola* (37,33%) como de maior importância foi em Pelotas – RS, em que Furtado et al. (1997) pesquisaram 260 cães de residências, obtendo 75 amostras reagentes assim descritas *icterohaemorrhagiae* (24%), *andamana* (9,33%), *pyrogenes* (4%), *autumnalis* (1,33%) e coaglutinações (24%)

Em todos os estudos descritos acima foi utilizada a Prova diagnóstica de Soroaglutinação Microscópica e a titulação escolhida foi de 1:100 para cães reagentes.

Diante destas variações nas porcentagens dos sorovares conclui-se que há uma grande dificuldade na interpretação dos resultados sorológicos para leptospirose pois fatores

como o não estabelecimento de um título padrão de anticorpo indicativo da infecção, reações cruzadas de anticorpos, cães vacinados desenvolvem baixos títulos de anticorpos aglutinantes e estes persistem de um a três meses após a vacinação. O sorovar *icterohaemorrhagiae* muito importante em regiões de clima como o de Avaré, mostrou-se de menor importância no presente trabalho, com apenas 7% de reagentes (Gráfico 2), pela cidade apresentar-se plana desfavorecendo as enchentes e alagamentos bem como o menor acúmulo de ratos responsável pela manutenção desse sorovar diminuindo a probabilidade de infecções por esse sorovar.

Modolo et al. (2000) citaram a importância dos sorovares *copenhageni*, *autumnalis* e *bratislava* considerados emergentes ou reemergentes em outros países e neste trabalho também pudemos mostrar a importância de tais sorovares, apresentando, neste estudo, 11%, 14% e 36% de animais reagentes a Soroaglutinação Microscópica, respectivamente, conclui-se aqui que a presença de aglutininas anti-leptospíricas em soros de cães errantes de Avaré (SP) não demonstrou alta porcentagem, ficando em (9,33%), em relação aos trabalhos estudados, indicando que os animais tiveram contato com o agente e que podem exercer papel de portadores inaparentes, pois sabemos que todos estão aparentemente saudáveis, e que podem eliminar leptospiras pela urina, contaminando o ambiente e proporcionando risco a saúde do homem.

TOXOPLASMOSE

A porcentagem de animais com titulação para Toxoplasmose dos 300 cães advindos das ruas de Avaré e agora domiciliados em canil privado foi de 26%. Sendo que 10 animais apresentaram título 16 (3,33%); 27 animais título 256 (9%) e outros 41 animais título 64 (13,66%).

Garcia et al. (1999), estudando a prevalência do *Toxoplasma gondii* em 189 cães de 40 diferentes propriedades rurais em Jaguapitã no estado do Paraná encontraram 159 (84,1%)

animais com soros reagentes, sendo o título 64 (38,4%) o mais freqüente com 61 animais, seguidos pelos títulos 16 (31,4%) 50 animais, título 256 (22%) 35 animais, título 1024 (6,3%) 10 animais e título 4096 (1,9%) 3 animais. A soropositividade foi menor nos animais com menos de 8 meses de idade e o *Toxoplasma gondii* estava amplamente distribuído na população canina da região.

Varandas et al. (2001), testaram 295 amostras de soro anti-*Toxoplasma gondii* e também anti-*Neospora caninum*. Amostras essas coletadas de julho de 1999 a setembro de 2000 na zona rural e urbana no nordeste do estado de São Paulo. O título igual ou maior que 16 foi considerado positivo, 151 (51,19%) animais foram reagentes para *Toxoplasma gondii* e 17 (5,76%) animais apresentaram títulos para ambos os coccídios mostrando que *Toxoplasma gondii* assim como o *Neospora caninum* estão disseminados na população canina da região nordeste do estado de São Paulo, inclusive com ocorrência simultânea.

Costa et al. (2004), durante a campanha de vacinação municipal anti-rábica na cidade de Botucatu, testaram 670 amostras de sangue de cães escolhidos aleatoriamente e obtiveram 116 (17,31%) amostras positivas com títulos variando entre 16 (69,82%); 64 (13,8%); 256 (15,52%) e título 1024 (0,86%). Com este estudo concluiu-se que a infecção por *Toxoplasma gondii* é endêmica na cidade de Botucatu.

Langoni et al. (2004), também em pesquisa anti-*Toxoplasma gondii* com cães de campanha de vacinação anual colheram 780 amostras de sangue encontrando 258 (33,1%) amostras positivas sendo 134 amostras o título 16 (52,6%) de maior freqüência, seguidos pelos títulos 64 (42,4%) em 110 amostras e o título 256 (50,5%) em 14 amostras. Não houve diferença significativa em machos e fêmeas testados e a infecção foi considerada maior com o aumento da idade dos animais.

Nos trabalhos citados acima a prova diagnóstica adotada foi o Método de Aglutinação Direta MAD.

O presente trabalho mostrou que de 300 cães testados, 78 (26%) apresentaram título de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, o que indicou a ocorrência do agente na população canina de rua em Avaré (SP) mesmo em níveis inferiores aos observados por Langoni et al. (1999) em Botucatu e de Garcia (1999), no estado do Paraná.

NEOSPOROSE

O presente estudo mostrou um insignificante resultado de diluição apresentando em apenas dois cães a diluição de 1/25 e 1/100 dos 300 animais testados. Embora não se conheça a procedência desses animais antes de serem acolhidos no abrigo, pode-se pensar que não tenham vindo da zona rural onde a prevalência do *Neospora caninum* é maior por poderem os cães se alimentarem de restos de abortos infectados, bem como ingerirem oocistos presentes em fezes.

Varandas et al. (2001), correlacionando 295 soros de cães anti-*Neospora caninum* e anti-*Toxoplasma gondii* encontrou para a diluição 50, 25 (8,48%) cães com anticorpos anti-*Neospora caninum*. E neste mesmo estudo, do total de 58 (19,66%) cães que apresentavam sintomatologia nervosa, foram detectados anticorpos anti-*Neospora caninum* em 4 (1,36%) cães. Apesar da literatura atribuir a ambos coccídios a etiologia de distúrbios neurológicos em cães, os resultados obtidos não revelaram correlação significativa entre sorologia positiva e a presença de neuropatias nos animais examinados.

Fernandes et al. (2004), ao testarem 450 cães em Uberlândia –MG, sendo 300 animais da área urbana, 58 animais peri urbana e 92 animais da área rural, obtiveram 94 (20,89%) animais com níveis de anticorpos para Neosporose canina sendo 63 (14%) animais da área urbana, 11(10,7%) animais da área peri urbana e 20(21,7%) animais da área rural. Os títulos encontrados em 20 cães foi 50, em 41 cães variação de 100 a 800 e dois cães tiveram

título de 3200. Observou-se também que o nível dos anticorpos aumentou com o aumento da idade mas o mais importante foi a maior prevalência de anticorpos em cães da área rural. Souza et al (2002), encontraram 21,6% de cães da área rural no norte do estado do Paraná com títulos positivos para *neospora caninum*. Barber et al. (1997) que observaram no Uruguai resultado similar com 20% dos cães também em área rural. A ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em 10,7% dos cães de áreas urbanas foi maior que resultados obtidos em estudos similares nos Estados Unidos por Lindsay; et al (1990) e no Japão Sawada; et al (1998), com valores de 2% e 7% respectivamente. Por outro lado, em cães da cidade de São Paulo, Gennari; et al (2002) observou a ocorrência de anti corpos anti-*Neospora caninum* em 10% de cães domiciliados e 25% em cães de rua, usando o teste de aglutinação como método diagnóstico. Cânon-Franco; (2002) descreveu a ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em 13 (8,3%) cães de 157 animais testados em Monte Negro – Rondônia. Resultado menor do que os observados e descritos nestes estudos.

Jesus et al. (2006), estudando 165 cães domiciliados e 250 cães errantes de Salvador e Lauro de Freitas na Bahia nos anos de 1994 a 2001 pela técnica RIFI com diluição de escolha de 50, detectaram dos cães domiciliados 22 (13,3%) animais com anticorpos anti-*Neospora caninum* e dos cães errantes 28 (11,2%) animais com anticorpos anti-*Neospora caninum*. Neste trabalho houve similaridade na prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* nos cães domiciliados e nos cães errantes. A possibilidade de transmissão horizontal entre cães errantes e rurais pode ser maior devido à facilidade de ingestão de roedores, pássaros e outros animais que podem servir como reservatórios do *Neospora caninum* e desta forma, funcionar como fonte de infecção para os cães. Outro possível fator seria que cães errantes ou rurais seriam expostos mais freqüentemente à ambientes contaminados com oocistos eliminados por cães infectados. Por outro lado, a transmissão vertical e a conseqüente criação de animais assintomáticos podem ser responsáveis pela manutenção do nível de

infecção por este coccídio nas populações caninas, o que poderia justificar a paridade entre os dados de soroprevalência encontrado nos cães domiciliados e errantes, nos trabalhos consultados. No presente estudo com apenas dois cães apresentando-se reagentes (0,66%) numa população estudada de 300 animais, mostra que na população canina urbana errante da cidade de Avaré (SP) a infecção pelo *Neospora caninum* praticamente é rara.

6. Conclusões

1. Embora o percentual de reagentes seja inferior a maioria dos trabalhos de referência, a infecção leptospírica está presente na população canina errante de Avaré e a disseminação seria maior se não fosse a retirada dos cães das ruas, albergando-os e vacinando-os
2. Os reagentes para *Toxoplasma gondii* compuseram 26% dos animais estudados e mesmo considerando-se que os títulos não foram tão elevados, superam em muito os 9,3% encontrados como reagentes para leptospirose.
3. Apenas dois animais (0,66%) apresentaram-se reagentes para Neosporose canina sendo um animal na diluição 25 e o segundo animal na diluição 100, o que indica, que a neosporose não é uma enfermidade presente na população canina urbana de Avaré.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3.ed. Washington: Organización Panamericana de la Salud, 2003. v.1, p.175-186.

ALVES, C.J.; ANDRADE, J.S.L.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; AZEVEDO, S.S.; SANTOS, F.A. Avaliação dos níveis de aglutininas anti-leptospira em cães no município de Patos-PB, Brasil. **Rev. Bras. Cienc. Vet.**, v.7, p.17-21, 2000.

ANDERSON, M.L.; BLANCHARD, P.C.; BARR, B.C.; DUBEY, J.P.; HOFFMAN, R.L.; CONRAD, P.A. *Neospora*-like protozoan infection as a major cause of abortion in California dairy cattle. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.198, p.241-244, 1991.

ASLANTAS, O.; OZDEMIR, V.; KILIÇ, S.; BABUR, C. Seroepidemiology of leptospirosis, toxoplasmosis and leishmaniosis among dogs in Ankara, Turkey. **Vet. Parasitol.**, v.129, p.187-191, 2005.

AZEVEDO, D.S.; JAMRA, L.M.; RIBEIRO, M.F. Isolation of *Toxoplasma gondii* oocysts in 2 districts of Recife (PE). **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.25, n.1, p.31-36, 1983.

BARBER, J.S.; GASSER, R.B.; ELLIS, J.; REICHEL, M.P.; McMILLAN, D.; TREES, A.J. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in different canid populations. **J. Small Anim. Pract.**, v.37, p.568-574, 1997.

BARBER, J.S. Neosporosis canina. **Waltham Focus**, v.8, p.25-29, 1998.

BATISTA, C.S.A.; AZEVEDO, S.S.; ALVES, C.J.; VASCONCELOS, S.A.; MORAIS, Z.M.; CLEMENTINO, I.J.; LIMA, F.S.; ARAUJO NETO, J.O. Soroprevalência de leptospirose em cães errantes da cidade de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.41, p.131-136, 2004.

BERTOZZI, L.C.; SUZUKI, L.A.; ROSSI, C.L. Serological diagnosis of toxoplasmosis: usefulness of IgA detection and IgG avidity determination in a patient with a persistent IgM antibody response to *Toxoplasma gondii*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.41, n.3, p.175-177, 1999.

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação - Referências - Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 22p.
BIOSIS. **Serial sources for the BIOSIS preview database**. Philadelphia, 1996. 468p.

BHARTI, A.R.; NALLY, J.E.; RICARDI, J.N.; MATTHIAS, M.A.; DIAZ, M.M.; LOVETT, M.A.; LEVETT, P.N.; GILMAN, R.H.; WILLIG, M.R.; GOTUZZO, E.; VINETZ, J.M. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **Lancet Infect. Dis.**, v.3, n.12, p.757-771, 2003.

BHRADWAJ, R. Leptospirosis-a reemerging disease?. **Indian J. Med. Res.**, v.120, p.136-138, 2004.

BJERKAS, L.; MOHN, S.F.; PRESTHUS, J. Unidentified cyst-forming Sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs. **Z. Parasitenkunde**, v.70, p.271-274, 1984.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Coordenação de Controle de Zoonoses e Animais peçonhentos. **Manual de leptospirose**. 2.ed. Brasília: FUNASA, 1995. 98p.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. 5.ed. Brasília: Funasa, 2002. v.2, 842p.

BRENNER, D.J.; KAUFMANN, A.F.; SULZER, K.R.; STEIGERWALT, A.G.; ROGERS, F.C.; WEYANT, R.S. Further determination of DNA relatedness between serogroups and serovars in the family *Leptospiraceae* with a proposal for *Leptospira alexanderi* sp. Nov. And four new *Leptospira* genomospecies. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v.49, p.839-858, 1999.

BROD, C.S.; ALEIXO, J.A.G.; JOUGLARD, S.D.D.; FERNANDES, C.P.H.; TEIXEIRA, J.L.R.; DELLAGOSTIN, O.A. Evidencia do cão como reservatório da leptospirose humana: isolamento de um sorovar, caracterização molecular e utilização em inquérito sorológico. **Rev. Soc. Brás. Méd. Trop.**, v.38, n.4, p.294-300, 2005.

CAÑÓN-FRANCO, W.A. **Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em cães da área urbana do Município de Monte Negro, Rondônia**. 2002. 131f. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.

CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. *Leptospira* canina. In: _____. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1992a. p.233-234.

CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. Toxoplasmose: In: _____. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1992b. p.757-766.

COLE JR., J.R.; SULZER, C.R.; PURSELL, A.R. Improved microtechnique for the leptospiral microscopic agglutination test. **Appl. Microbiol.**, v.25, n.6, p.976-980, 1973.

CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 22., 2003, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis, 2003. p.220.

CORTES, J.A. **Epidemiologia**: conceitos e princípios fundamentais. São Paulo: Varela, 1993. 227p.

CUMBERLAND, P.; EVERARD, C.O.R.; LEVETT, P.N. assessment of the efficacy of an iGm – Elisa and microscopic agglutination test (MAT) in the diagnosis of acute leptospirosis. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.61, n.5, p.731-734, 1999.

DAHER, E.F.; NOGUEIRA, C.B. Evaluation of penicillin therapy in patients with leptospirosis and acute renal failure. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.42, n.6, p.327-332, 2000.

DESMONTS, G.; REMINGTON, J.S. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: method for increasing sensitivity and specificity. **J. Clin. Microbiol.**, v.11, p.562-568, 1980.

DUBEY, J.P. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **Int. J. Parasitol.**, v.28, n.7, p.1019-1024, 1998.

DUBEY, J.P.; FRENKEL, J.K. Cyst-induced toxoplasmosis in cats. **J. Protozool.**, v.19, n.1, p.155-177, 1972.

DUBEY, J.P.; BRAKE, R.J.; MURRELL, K.D.; FAYER, R. Effect of irradiation on the viability of *Toxoplasma gondii* cysts in tissues of mice and pigs. **Am. J. Vet. Res.**, v.47, n.3, p.518-522, 1986.

DUBEY, J.P.; BEATTIE, C.P. **Toxoplasmosis of animals and man**. Boca Raton: CRC Press, 1988. 220p.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; SPEER, C.A. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cyst. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.11, n.2, p.267-299, 1998.

DUBEY, J.P. Neosporosis: the first decade of research. **Int. J. Parasitol.**, v.29, p.1485-1488, 1999a.

DUBEY, J.P. Recent advances in *Neospora* and neosporosis. **Vet. Parasitol.**, v.84, p.349-367, 1999b.

ECKERT, J. Workshop summary: food safety: meat- and fish-borne zoonoses. **Vet. Parasitol.**, v.64, n.1-2, p.143-147, 1996.

ENRIETTI, M.A. Contribuição ao conhecimento da incidência de leptospiroses em murédeos, caninos e suínos no Paraná. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, p.311-342, 2001.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.A.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2.ed. Melbourne: MediSci, 1999. 272p.

FARRINGTON, N.P.; SULZER, K.R. Canine leptospirosis in Puerto Rico. **Int. J. Zoonoses**, v.9, p.45-50, 1982.

FERNANDES, B.C.T.M.; GENNARI, S.M.; SOUZA, S.L.P.; CARVALHO, J.M.; OLIVEIRA, W.G.; CURY, M.C. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs from urban, periurban and rural areas of the city of Uberlândia, Minas Gerais-Brazil. **Vet. Parasitol.**, v.123, p.33-40, 2004.

FUENTES, I.; RUBIO, J.M.; RAMÍREZ, C.; ALVAR, J. Genotypic characterization of *Toxoplasma gondii* strains associated with human toxoplasmosis in Spain: direct analysis from clinical samples. **J. Clin. Microbiol.**, v.39, p.1566-1570, 2001.

GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R.C. Soroepidemiologia da Toxoplasmose em Cães e Gatos de Propriedades Rurais do Município de Jaguapitã, Estado do Paraná, Brasil **Cienc. Rural**, v.29, n.1, p.99-104, 1999.

GENNARI, S.M.; YAI, L.E.O.; D'ÁURIA, S.N.R.; CARDOSO, S.M.S.; KWOK, O.C.H.; JENKINS, M.C.; DUBEY, J.P. Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of São Paulo, Brazil. **Vet. Parasitol.**, v.106, p.177-179, 2002.

GENOVEZ, M.E. Leptospirose em cães. **Pet. Vet.**, v.1, n.1, p.6-9, 1996.

GIRALDI, J.H.; BRACARENSE, A.P.; VIDOTTO, O. Neosporose canina – revisão. **Clin. Vet.**, v.n.34, p.50-56, 2001.

GONSALES, C.R.; CASSEB, J.; MONTEIRO, F.G.V.; PAULA-NETO, J.B.; FERNANDEZ, R.B.; SILVA, M.V.; CAMARGO, E.D.; AIRINQUE, J.M.P.; TAVARES, L.C. Use of doxycycline for leptospirosis after high-risk exposure in São Paulo, Brazil. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.40, n.1, p.59-61, 1998.

GREENE, C.E.; MILLER, M.A.; BROW, C.A. Leptospirose. In: GREENE, C.E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 2.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. p.273-281.

HORSCH, F. Leptospirose. In: BEER, J. **Doenças infecciosas em animais domésticos**. 2.ed. São Paulo: Roca, 1999. v.2, p.305-324.

HOWE, D.K.; SIBLEY, L.D. *Toxoplasma gondii* comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. **J. Infect. Dis.**, v.172, p.1561-1566, 1995.

JACOBS, L. *Toxoplasma* and toxoplasmosis. **Adv. Parasitol.**, v.5, n.1, p.1-45, 1967.

JANKU, J. Pathogenesis and pathologic anatomy of coloboma of macula lutea in eye of normal dimensions, and microphthalmic eye, with parasites in the retina. **Cas. Lek. Cesk.**, v.62, p.1021-1027, 1923.

JARDINE, J.E.; DUBEY, J.P. Canine neosporosis in South África. **Vet. Parasitol.**, v.44, p.291-294, 1992.

JESUS, E.E.V.; SANTOS, P.O.M.; BARBOSA, M.V.F.; PINHEIRO, A.M.; GONDIM, L.F.P.; GUIMARÃES, J.E.; ALMEIDA, M.A.O. Frequência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães nos municípios de Salvador e Lauro de Freitas, Estado da Bahia-Brasil. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v.43, n.1, p.5-10, 2006.

JOHNSON, M.A.S.; SMITH, H.; JOSEPH, P.; GILMAN, R.H.; BAUTISTA, C.T.; CAMPOS, K.J.; CESPEDES, M.; KLATSKY, P.; VIDAL, C.; TERRY, H.; CALDERON, M.M.; CORAL, C.; CABRERA, L; PARMAR, P.S.; VINETZ, J.M. Environmental exposure and leptospirosis, Peru. **Emerg. Infect. Dis.**, v.10, n.6, p.1016-1022, 2004.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D.P.; MELO, A.L.; GENARO, O.; LINARDI, P.M. **Parasitologia humana**. 10.ed. São Paulo: Atheneu, 2000. p.147-156.

KATZ, A.R.; ANSDALL, V.E.; EFFLER, P.V.; MIDDLETON, C.R.; SASAKI, D.M. Leptospirosis in Hawaii, 1974-1998; epidemiologic analysis of 353 laboratory-confirmed cases. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.66, n.1, p.61-70, 2002.

KOTULA, A.W.; DUBEY, J.P.; SHARAR, A.K.; ANDREWS, C.D.; SHEN, S.K.; LINDSAY, D.S. Effect of freezing on infectivity of *Toxoplasma gondii* tissue cysts in pork. **J. Food Prot.**, v.54, n.9, p.687-690, 1991.

LANGONI, H.; MODOLO, J.R.; PEZERINO, S.B.; SILVA, R.C.; CASTRO, A.P.B.; DA SILVA, A.V.; PADOVANI, C.R. Serological profile of anti-*Toxoplasma-gondii* in apparently healthy dogs of the city of Botucatu, São Paulo, State Brazil. **J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.**, v.12, n.1, p.142-148, 2006.

LETOCART, M.; BARANTON, G.; PEROLAT, P. Rapid identification of pathogenic *Leptospira* species (*Leptospira interrogans*, *L. borgpetersenii*, and *L. kirschneri*) with species-specific DNA probes produced by arbitrarily primed PCR. **J. Clin. Microbiol.**, v.35, n.1, p.248-253, 1997.

LEVETT, P.N. Leptospirosis. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.14, n.2, p.296-326, 2001.

LEVETT, P.N. Leptospirosis: a forgotten zoonosis?. **Clin. Appl. Immunol. Rev.**, v.4, p.435-448, 2004.

LILENBAUM, W.; VARGES, R.; MORAES, I.A.; FERREIRA, A.M.R.; PISSINATTI, A. Leptospiral antibodies in captive lion tamarins (*Leontopithecus* sp) in Brazil. **Vet. J.**, v.169, p.462-464, 2005.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P.; UPTON, S.J.; RIDLEY, R.K., Serological prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Kansas. **Proc. Helminthol. Soc. Wash.**, v.57, p.86-88, 1990.

LINDSAY, D.S. Question: what is the economic impact of the disease? **Vet. Exch.**, v.20, n.11, p.13, 1998.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P.; DUNCAN, R.B. Confirmation that the dog is a definitive host for *Neospora caninum*. **Vet. Parasitol.**, v.82, p.327-333, 1999.

LOBO, E.A.; TAUTZ, S.M.; CHARLIER, C.F.; CONCEIÇÃO, A.; PIRES NETO, J.A.S. Estudo comparativo do padrão sorológico de animais domésticos potencialmente transmissores de leptospirose no município de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil, entre os anos de 2002 e 2003. **Cad. Pesqui. Ser. Biol.**, v.16, n.2, p.47-64, 2004.

LOPES, A.L.S.; SILVA, W.B.; PADOVANI, H.; MODOLO, J.R. Frequência sorológica antileptospírica em cães: sua correlação com roedores e fatores ambientais, em área territorial urbana. **Arq. Inst. Biol.**, v.7, n.3, p.289-296, 2005.

MARSH, A.E.; BARR, B.C.; SVERLOW, K.; HO, M.; DUBEY, J.P.; CONRAD, P.A. Sequence analysis and comparison of ribosomal DNA from bovine *Neospora caninum* to similar coccidial parasites. **J. Parasitol.**, v.81, p.530-535, 1995.

MARSHALL, R.J. A review of methods for the statistical analysis of spatial patterns of disease. **J. R. Stat. Soc. A**, v.154, p.421-441, 1991.

McALLISTER, M.M.; McGUIRRE, A.M.; JOLLEY, W.R.; LINDSAY, D.S.; TREES, A.J.; STOBART, R.H. Experimental neosporosis in pregnant ewes and their offspring. **Vet. Pathol.**, v.33, p.647-655, 1996.

McALLISTER, M.M.; DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; JOLLEY, W.R.; WILLS, R.A.; McGUIRRE, A.M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **Int. J. Parasitol.**, v.28, p.1473-1478, 1998.

MEAD, P.S.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V.; McCAIG, L.F.; BRESEE, J.S.; SHAPIRO, C.; GRIFFIN, P.M.; TAUXE, R.V. Food-related illness and death in the United States. **Emerg. Infect. Dis.**, v.5, p.607-625, 1999.

MERIEN, F.; PORTNOI, D.; BOURHY, P.; CHARAVAY, F.; BERLIOZ-ARTHAUD, A.; BARANTON, G. A rapid and quantitative method for the detection of *Leptospira* species in human leptospirosis. **FEMS Microbiol. Lett.**, v.249, p.139-147, 2005.

MICHEL, V.; BRANGER, C.; ANDRE-FONTAINE, G. Epidemiology of leptospirosis. **Rev. Cubana Med. Trop.**, v.54, n.1, p.7-10, 2002.

MODOLO, J.R.; LANGONI, H.; SHIMABUKURO, F.H.; MENDONÇA, A.O.; VICTÓRIA, C.; PADOVANI, C.R. Inquérito soropidemiológico para leptospirose canina, no município de Botucatu – SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIA, 27., 2000, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia, 2000. p.95.

MURHEKAR, M.V.; SUGUNAN, A.P.; VIJAYACHARI, P.; SHARMA, S.; SEHGAL, S.C. Risk factors in the transmission of leptospiral infection. **Indian J. Med. Res.**, v.107, p.218-223, 1998.

NÁJERA, S.; ALVIS, N.; BABILONIA, D.; ALVAREZ, L.; MÁTTAR, S. Leptospirosis ocupacional em uma região Del Caribe colombiano. **Salud Pública Méx.**, v.47, n.3, p.240-244, 2005.

NICOLLE, C.; MANCEAUX, L. Su rune infection à cops de Leishman (ou organismes voisins) du gondii. **C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.**, v.147, p.763-766, 1908.

OLIVEIRA, R.C.; FREITAS, J.C.; SILVA, F.G.; SOUZA, E.M.; DELBEM, A.C.B.; ALVES, L.A.; MULLER, E.E.; BALARIM, M.S.; REIS, A.C.F.; BATISTA, T.N.; VASCONCELOS, S.A. Diagnóstico laboratorial da Leptospirose em um cão utilizando diferentes Técnicas **Arq. Inst. Biol.**, v.72, n.1, p.111-113, 2005.

PEROLAT, P.; CHAPPEL, R.J.; ADLER, B.; BARANTON, G.; BULACH, D.M.; BILLINGHURST, M.L.; LETOCART, M.; MERIEN, F.; SERRANO, M.S., *Leptospira fainei* sp. Nov., isolated from pigs in Australia. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v.48, p.851-858, 1998.

PLANK, R.; DEAN, D. Overview of the epidemiology, microbiology, and pathogenesis of *Leptospira* spp. In humans. **Microbes Infect.**, v.2, p.1265-1276, 2000.

PRESCOTT, J.F.; McEWEN, B.; TAYLOR, J.; WOODS, J.P.; ABRAMS-OGG, A.; WILCOCK, B. Resurgence of leptospirosis in dogs in Ontario: recent findings. **Can. Vet. J.**, v.43, p.955-961, 2002.

QUERINO, A.M.V.; DELBEM, B.A.C.; OLIVEIRA, R.C.; SILVA, F.G.; MELLER, E.E.; FREIRE, R.L.; FREITAS, J.C. Fatores de risco associados à leptospirose em cães do município de Londrina-PR. **Semin. Cienc. Agrar.**, v.24, n.1, p.27-34, 2003.

QUINN, P.J.; MARKEY, B.; CARTER, M.E.; DONNELLY, W.J.; LEONARD, F.C. **Microbiologia veterinária e doenças infecciosas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. 512p.

RADOSTITS, O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1737p.

RODRIGUEZ, A.L.; FERRO, B.E.; VARONA, M.X.; SANTAFÉ, M. Evidencia de exposición a *Leptospira* en perros callejeros de Cali. **Biomédica**, v.24, p.291-295, 2004.

RYU, E. An international survey of leptospiral agglutinin of dogs by RMAT. **Int. J. Zoonoses**, v.3, p.33-60, 1976.

SABIN, A.B.; FELDMAN, H.A. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (*Toxoplasma*). **Science**, v.108, p.660-663, 1948.

SÁFADI, M.A.P. Toxoplasmose. **Pediatr. Mod.**, v.36, n.1-2, p.7-23, 2000.

SANTA ROSA, C.A.; SULZER, C.R.; YANAGUITA, R.M.; SILVA, A.S. Leptospirosis in wildlife in Brazil: isolation of serovars canicola, pyrogenes and grippotyphosa. **Int. J. Zoonoses**, v.7, n.1, p.40-43, 1980.

SARKAR, U.; NASCIMENTO, S.F.; BARBOSA, R.; MARTINS, R.; NUEVO, H.; KALAFANOS, I.; GRUNSTEIN, I.; FLANNERY, B.; DIAS, J.; RILEY, L.W.; REIS, M.G.; KO, A.I. Population-based case-control investigation of risk factors for leptospirosis during an urban epidemic. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.66, n.5, p.605-610, 2002.

SAWADA, M.; PARK, C.H.; KONDO, H.; MORITA, T.; SHIMADA, A.; YAMANE, I., UMEMURA, T., Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in Japanese dogs. **J. Vet. Med. Sci.**, v.60, p.853-854, 1998.

SAWADOGO, P.; HAFID, J.; BELLETE, B.; TRAN MANH SUNG, R.; CHAKDI, M.; FLORI, P.; RABERIN, H.; BENT HAMOUNI, I.; CHAIT, A.; DALAL, A. Seroprevalence of *T.gondii* in sheep from Marrakech, Morocco. **Vet. Parasitol.**, v.130, p.89-92, 2005.

SCANZIANI, E.; CALCATERRA, S.; TAGLIABUE, S.; LUINI, M.; GIUSTI, A.M.; TOMBA, M. Serological findings in cases of acute leptospirosis in the dog. **J. Small Anim. Pract.**, v.35, p.257-260, 1994.

SILVA, R.C. **Diferenciação entre os estágios agudo e crônico na infecção toxoplásmica pela técnica de aglutinação direta modificada.** 2006. 135f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

SILVA, W.B.; LOPES, A.L.S.; MODOLO, J.R.; PADOVANI, C.R.; LANGONI, H. Frequência de aglutininas antileptospira em cães de acordo com o manejo de criação, na área urbana de Botucatu – SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CLÍNICOS VETERINÁRIOS DE PEQUENOS ANIMAIS, 25., 2004, Gramado. **Anais...** Gramado, 2004. p.87.

SMITH, J.L. Long-term consequences of foodborne toxoplasmosis: Effects on the unborn, the immunocompromised, the elderly, and the immunocompetent. **J. Food Prot.**, v.60, p.1595-1611, 1997.

SPLENDORE, A. Un nuovo protozoa parassita dei conigli incontrato nelle lesioni anatomiche de'una malattia che ricorda in molti punti il Kala-azar dell'uomo. Nota preliminare. **Rev. Soc. Sci. São Paulo**, v.3, p.109-112, 1908.

TENTER, A.M. Current knowledge on the epidemiology of infections with *Toxoplasma*. **Tokai J. Exp. Clin. Med.**, v.23, p.391, 1999.

TENTER, A.M.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **Int. J. Parasitol.**, v.30, n.12-13, p.1217-1258, 2000.

TREVEJO, R.T.; RIGAU-PÉREZ, J.G.; ASHFORD, D.A.; McCLURE, E.M.; JARQUÍN-GONZÁLEZ, G.; AMADOR, J.J.; REYES, J.O.; GONZALEZ, A.; ZAKI, S.R.; SHIEH, W.J.; McLEAN, R.G.; NASCI, R.S.; WEYANT, R.S.; BOLIN, C.A.; BRAGG, S.L.; PERKINS, B.A.; SPIEGEL, R.A. Epidemic leptospirosis associated with pulmonar hemorrhage-Nicarágua, 1995. **J. Infect. Dis.**, v.178, p.1457-1463, 1998.

THURMOND, M.C.; HIETALA, S.K. Culling associated with *Neospora caninum* infection in dairy cows. **Am. J. Vet. Res.**, v.57, p.1559-1562, 1996.

UGGLA, A.; DUBEY, J.P.; LUNDMARK, G.; OLSON, P. Encephalomyelitis and myositis in a boxer puppy due to a *Neospora*-like infection. **Vet. Parasitol.**, v.32, p.225-260, 1989.

VAN DEN BROEK, A.H.M.; THRUSFIELD, M.V.; DOBBIE, G.R.; ELLIS, W.A. A serological and bacteriological survey of leptospiral infection in dogs in Edinburgh and Glasgow. **J. Small Anim. Pract.**, v.32, p.118-124, 1991.

VARANDAS, N.P.; RACHED, P.A.; COSTA, G.H.N.; SOUZA, L.M.; CASTAGNOLLI, K.C.; COSTA, A.J. Frequência de anticorpos anti-*Neospora-caninum* e anti-*Toxoplasma-gondii* em cães da região nordeste do Estado de São Paulo. Correlação com neuropatias. **Semin. Cienc. Agrar.**, v.22, n.1, p.105-111, 2001.

VASCONCELOS, L.M.; CISALPINO, E.O.; VIEIRA, M.N.R.; KOURY, M.C. Pesquisa de aglutininas antileptospira em diferentes grupos profissionais na cidade de Londrina, Paraná. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.25, n.4, p.251-255, 1992.

WARNEKULASURYIA, M.R.; JOHNSON, J.D.; HOLLIMAN, R.E. Detection of *Toxoplasma gondii* in cured meats. **Int. J. Food Microbiol.**, v.45, p.211-215, 1998.

WILSON, M.; WARE, D.; JURANEK, D. Serologic aspects of toxoplasmosis. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.196, n.2, p.277-281, 1990.

WONG, S.Y.; REMINGTON, J.S. Toxoplasmosis in pregnancy. **Clin. Infect. Dis.**, v.18, n.6, p.853-861, 1994.

ZENNER, L.; DARCY, F.; CAPRON, A.; CESBRON-DELAUW, M.F. *Toxoplasma gondii*: Kinetics of the dissemination in the host tissues during the acute phase of infection of mice and rats. **Exp. Parasitol.**, v.90, p.86-94, 1998.

8. ANEXOS

Solução Tampão Borato 8,7

Tabela 1 – Reagentes utilizados para prova diagnóstica da Toxoplasmose

REAGENTES	200ml	500ml	1000ml
Cloreto de sódio	1,4g	3,51g	7,02g
Ácido bórico	0,62g	1,55g	3,09g
Albumina bovina	0,80g	2,00g	4,00g
Hidróxido de sódio 1N	4,8ml	12ml	24ml
Água deionizada estéril ou ultra-pura	195,2ml	488ml	976ml

Hidróxido de sódio 1N

0,4g hidróxido de sódio para 10ml de água deionizada estéril ou ultra-pura

Solução Salina Tamponada de Fosfatos (SST 0,01M pH 7,2)

	<i>1 litro</i>	<i>2 litros</i>	<i>3 litros</i>	<i>5 litros</i>
NaCl	8,183g	16,366g	24,549g	40,915g
Na ₂ HPO ₄	1,052g	2,103g	3,155g	5,258g
NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	0,358g	0,716g	1,074g	1,790g

SST 0,01M pH 7,2 + 2ME

Para 10ml:

SST 0,01M pH7,2	10000µl
2-mercaptoetanol	140µl

Tabela 2 - Reagentes utilizados no teste de toxoplasmose

2-mercaptoetanol 99%	C ₂ H ₆ OS (M = 78,10g/mol)	Reagen [®]
Formaldeído	CHO (M = 30,03g/mol)	Synth [®]
Cloreto de sódio	NaCl (M = 58,44g/mol)	Nuclear [®]
Ácido bórico	H ₃ BO ₃ (M = 61,83g/mol)	Dinâmica [®]
Hidróxido de sódio	NaOH (M = 40,00g/mol)	Synth [®]
Fosfato de sódio dibásico anidro	NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O (M = 141,96g/mol)	Chemco [®]
Fosfato de sódio monobásico	Na ₂ HPO ₄ (M = 137,99g/mol)	Chemco [®]
Água deionizada	Deionizador Permution	Permution [®]
Albumina bovina Fração V segundo Cohn – 100g (Cód. 1870)		Inlab [®]

Fonte: Desmonts e Remington (1980)

Trabalho a ser enviado para a Revista Científica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp de Botucatu:

Pesquisa De Anticorpos Anti-*Leptospira* spp, *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em Cães Recolhidos Das Ruas E Albergados Em Canil Privado De Avaré (SP)

Research about antibodies anti-*Leptospira* spp, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from streets and it's in a private kennel in Avaré (SP)

Pesquisa de la presencia de Anticuerpos Anti-*Leptospira* spp, *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum* en canes sacados de las calles y albergados en canil privado en Avaré (SP)

Claudia Cristina Gonçalves
Rua Distrito Federal, 1858 Avaré-SP CEP 18 700-160 (14) 3733
4118 claudiagoncalez@terra.com.br
Unesp – Botucatu

RESUMO

Pesquisa de Anticorpos Anti *Leptospira* spp, *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* Em Cães Recolhidos Das Ruas E Albergados Em Canil Privado Em Avaré (SP).

O objetivo deste estudo foi investigar o perfil sorológico de 300 cães sem raças definidas, de diferentes faixas etárias e sexo para *Leptospira* spp, *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum*, expostos aos antígenos na cidade de Avaré (SP). Os cães estavam vivendo nas ruas e posteriormente foram levados a um canil privado com alimentação, vermifugação e assistência veterinária desde 2003, onde as amostras de soro foram obtidas. Pela proximidade com o homem, esses cães foram testados para três importantes doenças: leptospirose, toxoplasmose e neosporose caninas. O método diagnóstico utilizado para leptospirose foi a Prova de Soroaglutinação Microscópica (SAM). Os resultados indicaram a prevalência de 9,33% e o sorovar reagente de maior frequência foi o *bratislava* (35,7%), *cynopteri* 17,9%, *autumnalis* 14,3%, *copenhageni* 10,7%, com igual proporção de 7,1% para os sorovares: *icterohaemorrhagiae*, *canicola*, *hardjo* e não reação para os sorovares : *australis*, *djasiman*, *gryppytyphosa*, *pomona* e *pyrogenes*. Foi utilizado o Método de Aglutinação Direta (MAD-AF) para o diagnóstico da toxoplasmose com 26% dos animais reagentes a toxoplasmose com títulos variando entre 16 e 256, os respectivos números são: 16 (3,33%), 64 (13,66%) e 256 (9%). Para o diagnóstico da neosporose canina utilizado Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), somente 2 dos 300 cães testados mostraram anticorpos para *Neospora caninum* (0,66%) com diluições de 1:25 e 1:100.

Palavras-chave: Zoonoses, cães, prevalência.

ABSTRACT

Research about antibodies anti-*Leptospira* spp, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from streets and it's in a private kennel in Avaré (SP).

The aim of this study was to investigate the serological profile of 300 mongrel dogs from various ages and sex, to *Leptospira* spp, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antigen exposure in the city of Avaré São Paulo. The dogs were living on the streets, and afterwards directed to a private kennel with food, vaccine, vermifuge and veterinarian assistance since 2003 which the serum samples were obtained from. Because of the man proximity, these dogs were tested to three important diseases: leptospirosis, toxoplasmosis and neosporosis. The diagnostic method run for leptospirosis was the Microscopic Agglutination Test (MAT). The results indicated a prevalence of 9,33%, and most frequent reactant serovars were *bratislava* (35,7%), *cynopteri* (17,9%), *autumnalis* (14,3%), *copenhageni* (10,7%), and 71% to all the following serovars: *icterohaemorrhagiae*, *canicola* e *hardjo*. It was no response to the serovars *australis*, *djasiman*, *grippotyphosa*, *pomona* and *pyrogenes*. It was used the Modified Agglutination test (MAT) for diagnosis of toxoplasmosis and 26% of animals were positive, with titers varying between 16 and 256, the respective figures being 16 (3,33%), 64 (13,66%) and 256 (9%). Neosporosis was diagnosed by the Immunofluorescence antibody test (IFAT) with results only two of the 300 dogs tested demonstrated *Neospora caninum* antibodies (0,66%), with positivity at 1:25 and 1:100 dilution.

Key – words: Zoonosis, dogs, prevalence

RESUMEN

Pesquisa de Anticuerpos Anti-*Leptospira* spp, *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum* en canes sacados de las calles y albergados en canil privado de Avaré (SP).

El objetivo del presente trabajo fue investigar el perfil sorológico de 300 canes sin razas definidas, independientes de edad y sexo para *Leptospirosis* spp, *Toxoplasma gondii* y *Neospora caninum* expuestos al antígeno en la ciudad de Avaré (SP). Los canes estaban viviendo en las calles y despues albergados en un canil mantenido por la iniciativa privada, recibiendo alimentación, vacunación, vermifugación y asistencia veterinaria desde 2003 donde las muestras fueron obtenidas. Por ser animales que estaban próximos de los hombres se testó tres enfermedades de relevante importancia: leptospirosis, toxoplasmosis y neosporosis caninas. Fue utilizado la prueba de seroaglutinación microscópica (SAM) para diagnóstico de leptospirosis. Los resultados indicaron la prevalencia de 9,33% y el serovar con mayor incidencia para *bratislava* 35,7%, *cynopteri* 17,9%, *autumnalis* 14,3%, *copenhageni* 10,7% con igual proporción de 7,1% para los serovares: *icterohaemorrhagiae*, *canicola*, *hardjo* y no reacción para los serovares: *australis*, *djasiman*, *gryppotyphosa*, *pomona* y *pyrogenes*. Para el diagnóstico de la Toxoplasmosis fue utilizado el Método de Aglutinación Directa (MAD-AF) obteniéndose 26% de los animales reagentes a la toxoplasmosis con titulación variando entre 16 y 256, los respectivo números: 16 (3,33%), 64 (13,66%) y 256 (9%). Para el diagnóstico de la Neosporosis se utilizó la Reacción de Inmunofluorescencia Indirecta (RIFI), solamente 2 de los 300 canes testados presentaron anticuerpos para neosporosis (0,66%), siendo la dilución 1:25 y el otro perro la dilución 1:100.

Palabras-Clave: Zoonosis, canes, prevalência

INTRODUÇÃO

Este trabalho é sobre uma pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira sp*, anti-*Toxoplasma gondii*, e anti-*Neospora caninum*, agentes causadores da leptospirose, doença infecto-contagiosa aguda, zoonótica, cosmopolita, que acomete várias espécies de animais domésticos, silvestres e roedores. Entre os domésticos, em áreas urbanas, os cães assumem o papel de importantes fontes de infecção para os seres humanos (CORRÊA & CORRÊA 1992a, GREENE et al. 1998, FAINE et al. 1999, MICHEL et al. 2002, SARKAR et al. 2002, BHARTI et al. 2003, SILVA et al. 2004, ASLANTAS et al. 2005, LILENBAUM et al. 2005, LOPES et al. 2005), toxoplasmose com a maioria dos animais infectados por *T.gondii* resistentes à infecção, não apresentando sintomas clínicos, tornando-se portadores inaparentes de modo que a toxoplasmose-infecção é muito difundida (CORRÊA & CORRÊA 1992b) e uma das mais comuns no homem, em todo o mundo (DUBEY et al. 1998, SÁFADI 2000, TENTER et al. 2000). A toxoplasmose-doença, com a presença de sintomas clínicos é mais rara, apesar de sua distribuição mundial. A infecção pelo *T.gondii* constitui uma das zoonoses mais difundidas no mundo. (DUBEY et al. 1998, KAWAZOE 2000). E neosporose, doença causadora principalmente de abortamentos endêmicos e epidêmicos, perdas neonatais em bovinos, tem o cão como hospedeiro definitivo do agente causador o *Neospora caninum* e que foi por muito tempo confundida com a toxoplasmose (MCALLISTER et al. 1998). Realizou-se uma pesquisa para a presença de anticorpos das três doenças citadas na população canina do município de Avaré (SP) em 300 cães originários das ruas da cidade e albergados em canil privado “Abrigo Picolina”.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para que se procedesse o presente estudo, foram utilizados 300 cães oriundos das ruas de Avaré (SP) e estão albergados em um canil privado, “Abrigo Picolina”, desde 2003 ano de sua formação. Recebem alimentação industrializada (ração), atendimento veterinário voluntário com medicação necessária, vacinação anual com: Duramune® Max 5-CvK/4L Fort Dodge, vacina contra Cinomose, Hepatite, Adenovírus Tipo 2, Parainfluenza, Parvovirose, Coronavirose e Leptospirose e Rai – Vac® I Fort Dodge, vacina inativada contra a Raiva canina. Procedeu-se a colheita de sangue dos 300 animais que são 180 fêmeas e 120 machos todos castrados e mantidos em canis com capacidade para 5 cães cada, divididos em tamanho dos cães e faixa etária aproximada. Foram colhidos 5 ml de sangue em seringa de 5 ml descartável, pela punção das veias cefálica ou jugular e encaminhados a um laboratório veterinário da cidade de Avaré onde procedeu-se a centrifugação a 1.613g durante 10 minutos. O soro foi acondicionado em microtubos de plástico (eppendorf) de 1,5 ml e mantido em freezer a -20°C, até o momento da realização dos testes nos laboratórios das disciplinas de Zoonose e de Planejamento de Saúde Animal e Saúde Pública da FMVZ – Unesp/Campus de Botucatu – SP. O método diagnóstico utilizado para leptospirose foi a Prova de Soro Aglutinação Microscópica (SAM), os sorovares testados para leptospirose canina foram : AUS= *australis*; BRAT= *bratslava*; AUT= *autmnalis*; CAN= *canicola*; CYN= *cynopteri*; DJA= *djasman*; GRY= *gryppotifosa*; COP= *copenhageni*; ICT = *icterohaemorrhagiae*; POM= *pomona*; PYR= *pyrogenes*; HAR= *hardjo*; para o diagnóstico da toxoplasmose utilizou-se o Método de Aglutinação Direta (Protocolo MAD-AF) e a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para o diagnóstico da neosporose.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A resposta sorológica de aglutininas anti-leptospira em 300 cães errantes e posteriormente domiciliados em canil privado, advindos das ruas de Avaré-SP, foi de 9,33% (28/300) apresentando maior importância os sorovares *bratislava* com 35,7% (10/28) de incidência, seguido pelo sorovar *cynopteri* com 17,9% (5/28), *autumnalis* 14,3% (4/28), *copenhageni* 10,7% (3/28), *icterohaemorrhagiae*, *canicola* e *hardjo* com 7,1% (2/28) para cada sorovar. O número de cães não reagentes foi 272 (90,67%). A comparação com outros estudos realizados torna-se relativamente difícil, devido às variáveis geográficas como: clima, solo, estação do ano, diferentes sorovares, título e tipo de dados epidemiológicos coletados. MODOLO et al. (2000), utilizaram-se desses mesmos sorovares testados em 775 amostras de cães da cidade de Botucatu e obteve 119 soros reagentes sendo os sorovares *canicola* (40,3%) e *pyrogenes* (34,5%) os de maior importância. SILVA et al. (2004) também em uma campanha de vacinação anual da cidade de Botucatu testou 1000 cães no ano de 2001, utilizando 24 sorovares, obtendo maior importância os sorovares *castellonis* (28,68%), *autumnalis* (19,12%), *pyrogenes* (17,65%), *icterohaemorrhagiae* (11,03%) e *canicola* (9,56%). SANTA ROSA et al. (1980) em um trabalho com 1428 cães da cidade de São Paulo colhidos com intervalo de 12 meses até 1977 obteve o sorovar *canicola* (50,7%) como o de maior importância, seguido do *icterohaemorrhagiae* (25,5%), *grippotyphosa* (6,7%) e *ballum* (4,4%). O percentagem de animais com titulação para Toxoplasmose dos 300 cães advindos das ruas de Avaré e agora domiciliados em canil privado foi de 26%. Sendo que um animal apresentou título 156 o que em percentagem sinaliza 0%, 10 animais apresentaram título 16 (3%); 26 animais título 256 (9%) e outros 41 animais título 64 (14%). GARCIA et al. (1999) Estudando a prevalência do *Toxoplasma gondii* em 189 cães de 40 diferentes propriedades

rurais em Jaguapitã no estado do Paraná encontraram 159 (84,1%) animais com soros reagentes, sendo o título 64 (38,4%) o mais freqüente com 61 animais, seguidos pelos títulos 16 (31,4%) 50 animais, título 256 (22%) 35 animais, título 1024 (6,3%) 10 animais e título 4096 (1,9%) 3 animais. A soropositividade foi menor nos animais com menos de 8 meses de idade e o *Toxoplasma gondii* está amplamente distribuído na população canina da região. LANGONI et al. (2006) também em pesquisa anti-*Toxoplasma gondii* com cães de campanha de vacinação anual coletaram 780 amostras de sangue encontrando 258 (33,1%) amostras soro-positivas sendo 134 amostras o título 16 (52,6%) de maior freqüência, seguidos pelos títulos 64 (42,4%) em 110 amostras e o título 256 (50,5%) em 14 amostras. Não houve diferença significativa em machos e fêmeas testados e a infecção foi considerada maior com o aumento da idade dos animais. VARANDAS et al. (2001). Testaram 295 amostras de soro anti-*Toxoplasma gondii* e também anti-*Neospora caninum*. Amostras essas coletadas de julho de 1999 a setembro de 2000 na zona rural e urbana no nordeste do estado de São Paulo. O título igual ou maior que 16 foi considerado soro-positivo, 151 (51,19%) animais apresentaram título para *Toxoplasma gondii* e 17 (5,76%) animais apresentaram títulos para ambos os coccídios mostrando que *Toxoplasma gondii* assim como o *Neospora caninum* estão disseminados na população canina da região nordeste do estado de São Paulo, inclusive com ocorrência simultânea. O presente estudo mostrou um insignificante resultado de diluição para Neosporose canina apresentando em apenas dois cães a diluição de 1/25 e 1/100 dos 300 animais testados. Embora não se conheça a procedência desses animais antes de serem acolhidos no abrigo, pode-se pensar que não tenham vindo da zona rural onde a prevalência do *Neospora caninum* é maior por poderem os cães se alimentar de restos de abortos infectados, bem como ingerirem oocistos presentes em fezes. Confirmando essa afirmação, FERNANDES et al. (2004) ao testarem 450 cães em Uberlândia –MG, sendo 300 animais da área urbana, 58 animais peri urbana e 92 animais da área rural, obtiveram 94 (20,89%)

animais com níveis de anticorpos para Neosporose canina sendo 63 (14%) animais da área urbana, 11(10,7%) animais da área peri urbana e 20(21,7%) animais da área rural. Os títulos encontrados em 20 cães foi 50, em 41 cães variação de 100 a 800 e dois cães tiveram título de 3200. Observou-se também que o nível dos anticorpos aumentou com o aumento da idade mas o mais importante foi a maior prevalência de anticorpos em cães da área rural. BARBER et al. (1997) que observou no Uruguai resultado similar com 20% dos cães também em área rural. A ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em 10,7% dos cães de áreas urbanas foi maior que resultados obtidos em estudos similares nos Estados Unidos por LINDSAY et al. (1990) e no Japão SAWADA et al. (1998), com valores de 2% e 7% respectivamente.

CONCLUSÕES

A frequência de aglutininas anti-*Leptospira* spp nos soros dos 300 cães testados advindos das ruas de Avaré e há 4 anos domiciliados em canil privado foi de 28 (9,33%), o sorovar *bratislava* foi o de maior percentual 35,7% (10), seguido pelos sorovares: *cynopteri* 17,9% (5), *autumnalis* 14,3% (4), *copenhageni* 10,7% (3), *icterohaemorrhagiae*, *canicola* e *hardjo* 7,1% (2) cada. Portanto, embora o percentual de reagentes seja inferior a maioria dos trabalhos de referência, a infecção leptospírica está presente na população canina errante de Avaré e a disseminação seria maior se não fosse a retirada dos cães das ruas, albergando-os e vacinando-os. A percentual de animais com titulação para Toxoplasmose foi de 26% (78), título 16 foi observado em 10 animais (3,33%), 64 em 41 animais (13,66%), e 256 em 27 animais (9%), não reagentes representaram 74% (222). Os reagentes para *Toxoplasma gondii* compuseram 26% dos animais e mesmo considerando-se que os títulos não foram tão elevados, superam em muito os 9,3% encontrados como reagentes para leptospirose. Apenas dois animais (0,66%) apresentaram-se soro-reagentes para Neosporose canina sendo um animal na diluição 25 e o segundo animal na diluição 100, o que indica, que a neosporose é uma enfermidade rara na população canina urbana de Avaré.

REFERÊNCIAS

ASLANTAS, O.; OZDEMIR, V.; KILIÇ, S.; BABUR, C. Seroepidemiology of leptospirosis, toxoplasmosis and leishmaniosis among dogs in Ankara, Turkey. **Vet. Parasitol.**, v.129, p.187-191, 2005.

BARBER, J.S.; GASSER, R.B.; ELLIS, J.; REICHEL, M.P.; McMILLAN, D.; TREES, A.J. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in different canid populations. **J. Small Anim. Pract.**, v.37, p.568-574, 1997.

BHARTI, A.R.; NALLY, J.E.; RICALDI, J.N.; MATTHIAS, M.A.; DIAZ, M.M.; LOVETT, M.A.; LEVETT, P.N.; GILMAN, R.H.; WILLIG, M.R.; GOTUZZO, E.; VINETZ, J.M. Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. **Lancet Infect. Dis.**, v.3, n.12, p.757-771, 2003.

CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. *Leptospira canina*. In: _____. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1992a. p.233-234.

CORRÊA, W.M.; CORRÊA, C.N.M. Toxoplasmose: In: _____. **Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos**. 2.ed. Rio de Janeiro: Medsi, 1992b. p.757-766.

DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; SPEER, C.A. Structures of *Toxoplasma gondii* Tachyzoites, Bradyzoites, and Sporozoites and Biology and Development of Tissue Cyst. **Clin. Microbiol. Rev.**, v.11, n.2, p.267-299, 1998.

FAINE, S.; ADLER, B.; BOLIN, C.A.; PEROLAT, P. **Leptospira and leptospirosis**. 2.ed. Melbourne: MediSci, 1999. 272p.

FERNANDES, B.C.T.M.; GENNARI, S.M.; SOUZA, S.L.P.; CARVALHO, J.M.; OLIVEIRA, W.G.; CURY, M.C. Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs from urban, periurban and rural areas of the city of Uberlândia, Minas Gerais-Brazil. **Vet. Parasitol.**, v.123, p.33-40, 2004.

GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R.C. Soroepidemiologia da Toxoplasmose em Cães e Gatos de Propriedades Rurais do Município de Jaguapitã, Estado do Paraná, Brasil **Cienc. Rural**, v.29, n.1, p.99-104, 1999.

GREENE, C.E.; MILLER, M.A.; BROW, C.A. Leptospirose. In: GREENE, C.E. **Infectious diseases of the dog and cat**. 2.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. p.273-281.

* ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: informação e documentação - Referências - Elaboração. Rio de Janeiro, 2002. 22p.

BIOSIS. **Serial sources for the BIOSIS preview database**. Philadelphia, 1996. 468p.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: NEVES, D.P.; MELO, A.L.; GENARO, O.; LINARDI, P.M. **Parasitologia humana**. 10.ed. São Paulo: Atheneu, 2000. p.147-156.

- LANGONI, H.; MODOLO, J.R.; PEZERINO, S.B.; SILVA, R.C.; CASTRO, A.P.B.; DA SILVA, A.V.; PADOVANI, C.R. Serological profile of anti-*Toxoplasma-gondii* in apparently healthy dogs of the city of Botucatu, São Paulo, State Brazil. **J. Venom. Anim. Toxins Incl. Trop. Dis.**, v.12, n.1, p.142-148, 2006.
- LILENBAUM, W.; VARGES, R.; MORAES, I.A.; FERREIRA, A.M.R.; PISSINATTI, A. Leptospiral antibodies in captive lion tamarins (*Leontopithecus* sp) in Brazil. **Vet. J.**, v.169, p.462-464, 2005.
- LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P.; UPTON, S.J.; RIDLEY, R.K., Serological prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Kansas. **Proc. Helminthol. Soc. Wash.**, v.57, p.86-88, 1990.
- LOPES, A.L.S.; SILVA, W.B.; PADOVANI, H.; MODOLO, J.R. Frequência sorológica antileptospírica em cães: sua correlação com roedores e fatores ambientais, em área territorial urbana. **Arq. Inst. Biol.**, v.7, n.3, p.289-296, 2005.
- McALLISTER, M.M.; DUBEY, J.P.; LINDSAY, D.S.; JOLLEY, W.R.; WILLS, R.A.; MCGUIRRE, A.M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. **Int. J. Parasitol.**, v.28, p.1473-1478, 1998.
- MICHEL, V.; BRANGER, C.; ANDRE-FONTAINE, G. Epidemiology of leptospirosis. **Rev. Cubana Med. Trop.**, v.54, n.1, p.7-10, 2002.
- MODOLO, J.R.; LANGONI, H.; SHIMABUKURO, F.H.; MENDONÇA, A.O.; VICTÓRIA, C.; PADOVANI, C.R. Inquérito soroepidemiológico para leptospirose canina, no município de Botucatu – SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIA, 27., 2000, Águas de Lindóia. **Anais...** Águas de Lindóia, 2000. p.95.
- SÁFADI, M.A.P. Toxoplasmose. **Pediatr. Mod.**, v.36, n.1-2, p.7-23, 2000.
- SANTA ROSA, C.A.; SULZER, C.R.; YANAGUITA, R.M.; SILVA, A.S. Leptospirosis in wildlife in Brazil: isolation of serovars canicola, pyrogenes and grippotyphosa. **Int. J. Zoonoses**, v.7, n.1, p.40-43, 1980.
- SARKAR, U.; NASCIMENTO, S.F.; BARBOSA, R.; MARTINS, R.; NUEVO, H.; KALAFANOS, I.; GRUNSTEIN, I.; FLANNERY, B.; DIAS, J.; RILEY, L.W.; REIS, M.G.; KO, A.I. Population-based case-control investigation of risk factors for leptospirosis during an urban epidemic. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.66, n.5, p.605-610, 2002.
- SAWADA, M.; PARK, C.H.; KONDO, H.; MORITA, T.; SHIMADA, A.; YAMANE, I., UMEMURA, T., Serological survey of antibody to *Neospora caninum* in Japanese dogs. **J. Vet. Med. Sci.**, v.60, p.853-854, 1998.
- SILVA, W.B.; LOPES, A.L.S.; MODOLO, J.R.; PADOVANI, C.R.; LANGONI, H. Frequência de aglutininas antileptospira em cães de acordo com o manejo de criação, na área urbana de Botucatu – SP. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CLÍNICOS VETERINÁRIOS DE PEQUENOS ANIMAIS, 25., 2004, Gramado. **Anais...** Gramado, 2004. p.87.

TENTER, A.M.; HECKEROTH, A.R.; WEISS, L.M. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **Int. J. Parasitol.**, v.30, n.12-13, p.1217-1258, 2000.

VARANDAS, N.P.; RACHED, P.A.; COSTA, G.H.N.; SOUZA, L.M.; CASTAGNOLLI, K.C.; COSTA, A.J. Frequência de anticorpos anti-*Neospora-caninum* e anti-*Toxoplasma-gondii* em cães da região nordeste do Estado de São Paulo. Correlação com neuropatias. **Semin. Cienc. Agrar.**, v.22, n.1, p.105-111, 2001.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA DE DOCUMENTAÇÃO – CAMPUS DE BOTUCATU – UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: **ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE**

Gonçalez, Claudia Cristina.

Pesquisa de anticorpos anti-*Leptospira* spp, *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum*
em cães recolhidos das ruas e albergados em canil privado de Avaré (SP)

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia, 2008.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Paes

Assunto CAPES: 50500007

1. Vigilância sanitária. 2. Zoonoses. 3. Cão

CDD 636.08969

Palavras chave: Cães; Prevalência; Zoonoses.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)