

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

TESE

***Toxoplasma gondii* (NICOLLE E MANCEAUX, 1908) NICOLE E
MANCEUX, 1909 (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE):
DOENÇAS INTERCORRENTES EM CÃES SORORREAGENTES
PROVENIENTES DO RIO DE JANEIRO, RJ**

PAULO DANIEL SANT'ANNA LEAL

Seropédica, RJ

2014



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

***Toxoplasma gondii* (NICOLLE E MANCEAUX, 1908) NICOLE E
MANCEUX, 1909 (APICOMPLEXA: TOXOPLASMATINAE):
DOENÇAS INTERCORRENTES EM CÃES SORORREAGENTES
PROVENIENTES DO RIO DE JANEIRO, RJ.**

PAULO DANIEL SANT'ANNA LEAL

Sob a orientação do Professor

Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes

Co-orientador

Dr. Walter Flausino

Tese submetida como requisito para
obtenção do grau de **Doutor em
Ciências**, no Curso de Pós-Graduação
em Ciências Veterinárias – Área de
concentração em Sanidade Animal.

Seropédica, RJ

2014

636.70896

L435t

T

Leal, Paulo Daniel Sant'Anna, 1963-

Toxoplasma gondii (Nicolle e Manceaux, 1908) Nicole e Manceux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae): doenças intercorrentes em cães sororreagentes provenientes do Rio de Janeiro, RJ / Paulo Daniel Sant'Anna Leal. - 2014.

203 f.: il.

Orientador: Carlos Wilson Gomes Lopes.

Tese (doutorado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, 2013.

Bibliografia: f. 106-154.

1. Cão - Doenças - Teses. 2. Cão - Doenças - Diagnóstico - Teses. 3. Cão - Doenças - Rio de Janeiro (RJ) - Teses. 4. Toxoplasmose em animais - Rio de Janeiro (RJ) - Teses. 5. *Toxoplasma gondii* - Rio de Janeiro (RJ) - Teses. 6. Medicina veterinária - Teses. I. Lopes, Carlos Wilson Gomes, 1947-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

PAULO DANIEL SANT'ANNA LEAL

Tese submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor em Ciências**
no Curso de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias – Área de concentração em
Sanidade Animal.

TESE APROVADA EM: 10/01/2014

Carlos Wilson Gomes Lopes PhD, LD (UFRRJ)

Jonimar Pereira Paiva DSc (UFRRJ)

Norma Vollmer Labarthe DSc (FIOCRUZ)

Nádia Regina Pereira Almosny DSc (UFF)

Elan Cardozo Paes de Almeida DSc (UFF)

Elan Cardozo Paes de Almeida

Sergian Vianna Cardozo DSc (UNIGRANRIO)

Walter Flausino PhD (UFRRJ)

BIOGRAFIA

PAULO DANIEL SANT'ANNA LEAL, filho de Ney Leal e de Aida Sant'Anna Leal, brasileiro, nasceu em 25 de janeiro de 1963, no município do Rio de Janeiro, RJ, pai de Mariana Chaves Leal, Matheus Chaves Leal, casado com Débora Porretti Campos e pai de Gabriel Porretti Campos Sant'Anna Leal, Formado em Técnico Agrícola pelo Colégio Técnico da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) em 1980, Graduado em Medicina Veterinária, pela UFRRJ em 1986. Mestrado em Medicina Veterinária na área de Clínica e Cirurgia, pela UFRRJ em 2003. Presidente da Associação Patronal de Clínicos Veterinários-APCV, eleito por dois mandatos (1995-2001). Presidente da Associação Nacional de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais / RJ - ANCLIVEPA/RJ (2000-2003). Idealizador do Curso de Especialização em Clínica de Pequenos Animais - CESP, pela Universidade Estácio de Sá (UNESA), onde exerceu o cargo de Tesoureiro e Secretário. Foi Membro da Comissão de Ética do Conselho Regional de Medicina Veterinária do Rio de Janeiro (2002-2005). Atua como coordenador técnico e responsável pelo setor de Diagnóstico, Laboratório Clínico, Clínica Médica e Cirurgia Geral do Centro de Terapia Intensiva e Emergência Veterinária, onde supervisiona estágios conveniados com instituição de ensino e treinamento profissional. Estagiário funcional na Secretaria Municipal de Saúde com dedicação exclusiva não remunerado do departamento Geral de Zoonoses, Vigilância e Fiscalização Sanitária no Apoio Técnico (1987-1988). Professor convidado para ministrar a disciplina de Metodologia da Pesquisa no Curso de Especialização *Lato Sensu* em Clínica Médica de Pequenos Animais-CESPA (UNESA), Faculdade de Medicina Veterinária (2001-2003), Professor convidado para ministrar a disciplina de Metodologia da Pesquisa e Coordenador Externo no Curso de Especialização *Lato Sensu* em Clínica Médica de Pequenos Animais-CESPA, pela Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais (2004). Recebeu as homenagem pelos significativos trabalhos desenvolvidos em prol da Medicina Veterinária pelo Conselho Regional de Medicina Veterinária do Rio de Janeiro (2004). Homenagem pela valorosa contribuição a Associação Patronal de Clínicos Veterinários, Associação Patronal de Clínicos Veterinários (2000). Coordenador de vários eventos e Presidente e Ordenador de

despesas do V Congresso Estadual de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais e I Simpósio de Saúde Pública da Região dos Lagos (2003), Presidente e Ordenador de despesas do IV Congresso Estadual da ANCLIVEPA-RJ (2002), Comissão Organizadora na I Conferência Sul-Americana de Medicina Veterinária (2000), Presidente e Ordenador de despesas do III Congresso Estadual de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais (1999), onde participou da Comissão Organizadora e Ordenador de despesas do II Congresso Estadual de Clínicos Veterinários de Pequenos Animais e Animais Selvagens (CRMVRJ-1998).

LISTA DE TABELAS

	Págs
Tabela 1. Soroprevalência de <i>Toxoplasma gondii</i> em cães no Brasil através da RIFI	77
Tabela 2. Importância da faixa etária na infecção natural por <i>Toxoplasma gondii</i> em cães ...	81
Tabela 3. Importância da Idade na infecção natural de <i>Toxoplasma gondii</i> em cães	83
Tabela 4. Importância da localização residencial na infecção natural por <i>Toxoplasma gondii</i> em cães	84
Tabela 5. Importância da habitação na infecção natural por <i>Toxoplasma gondii</i> em cães	86
Tabela 6. Importância da convivência com outros animais na infecção natural por <i>Toxoplasma gondii</i> em cães	87
Tabela 7. Importância da presença de gatos na infecção natural por <i>Toxoplasma gondii</i> em cães	87
Tabela 8. Importância da alimentação na infecção natural por <i>Toxoplasma gondii</i> em cães .	89
Tabela 9. Importância do dimorfismo sexual na infecção natural por <i>Toxoplasma gondii</i> em cães	89
Tabela 10. Determinação das faixas de globulina em cães sororreativos para <i>Toxoplasma gondii</i>	91
Tabela 11. Influência da infecção natural por <i>Toxoplasma gondii</i> em relação às faixas de proteína plasmática	91
Tabela 12. Distribuição das enfermidades entre as doenças diagnosticadas nos cães sororreativos para <i>Toxoplasma gondii</i> no Rio de Janeiro, RJ	93
Tabela 13. Distribuição das patologias entre as doenças infecciosas diagnosticadas nos cães sororreativos para <i>Toxoplasma gondii</i> no Rio de Janeiro, RJ.....	95
Tabela 14. Distribuição das doenças parasitárias diagnosticadas nos cães sororreativos para <i>Toxoplasma gondii</i> no Rio de Janeiro, RJ	95
Tabela 15. Distribuição das doenças degenerativas diagnosticadas nos cães sororreativos para <i>Toxoplasma gondii</i> no Rio de Janeiro, RJ	99
Tabela 16. Distribuição de outras doenças intercorrentes, diagnosticadas em cães sororreativos para <i>Toxoplasma gondii</i> no Rio de Janeiro, RJ	100

LISTA DE FIGURAS

	Págs
Figura 1. Taquizoitos com fluorescência periférica total ao RIFI. Obj. 40 X	73
Figura 2. Taquizoitos com fluorescência parcial ou apical ao RIFI. Obj. 40 X	74
Figura 3. Resultado positivo para presença de anticorpo anti- <i>T. gondii</i> pela RIFI. Obj. 40 X	76
Figura 4. Incidência das Doenças Concomitantes em cães soropositivos para <i>Toxoplasma gondii</i> . Legenda: 1 – Infecciosas; 2 – Infecciosas + Parasitárias + Degenerativas; 3 – Infecciosas + Parasitárias; 4 – Parasitárias; 5 – Outras; 6 - Infecciosas + Parasitárias + Degenerativas + Neoplásicas + Outras; 7 – Neoplásicas e 8 – Degenerativas	93
Figura 5. Periodontite (➔) em dois cães (a,b), Pseudo hifas de <i>Cyniclomices guttulatus</i> (c) observado em lavado gátrico de um cão com suspeita de gastrite (➔). Obj. 40X; e sedimento urinário (d) caracterizado por células de descamação e microorganismos (➔) de um cão com suspeita de pielonefrite. Panótico. Obj. 100X	96
Figura 6. Presença de mórulas de <i>Anaplasma platys</i> em plaqueta (a) e <i>Ehrlichia canis</i> em mononuclear (b) de cão. Panótico. Obj. 100X	96
Figura 7. Ovos morulados de <i>Ancylostoma caninum</i> (a) nas fezes de cães. Solução de Sheater. Obj. 25X.; Exemplar de microfilaria de <i>Dirofilaria immitis</i> (b) em estirado sanguíneo de concentrado de plaquetas e leucócitos. Panoptico. Obj. 40X	97
Figura 8. Imagem radiográfica de um cão com alterações no membro locomotor posterior esquerdo caracterizada clinicamente como artrose coxofemoral (➔)	97
Figura 9. Imagem radiográfica com a caracterização de áreas consolidadas, envolvendo principalmente o lobo apical do pulmão de um cão clinicamente como bronquite (➔)	101

	Págs
Figura 10. Imagem ultra sonográfica do estômago de um cão com diagnóstico sugestivo de edema de mucosa gástrica (➤)	101
Figura 11. Nódulo neoplásico vermelho escuro em baço de um cão (➤) caracterizado microscopicamente como hemangiosarcoma	101
Figura 12. Diagnóstico de Anemia Hemolítica Imunomediada com a presença de esferócitos (➤) e uma mórula de <i>Ehrlichia canis</i> simile (➡). Panoptic. Obj. 100X	102

LISTA DE QUADROS

	Pág.
Quadro 1. Soroprevalência de <i>Toxoplasma gondii</i> em cães no Brasil	42

LISTA DE ANEXOS

	Págs
Anexo 1. Protocolo Comissão de Ética-PRPPG/UFRRJ	156
Anexo 2. Ficha clínica	157
Anexo 3. Exame físico do animal	158
Anexo 4. LEAL, P.D.S.; PONTES, P.R.; FLAUSINO, W.; LOPES C.W.G. Diagnóstico de infecções concomitantes por <i>Cystoisospora ohioensis</i> e o vírus da cinomose - Relato de dois casos. Revista Brasileira de Medicina Veterinária , v. 33, n. 3, p. 184-188, 2011.	159
Anexo 5. LEAL, P.D.S.; FLAUSINO W.; LOPES C.W.G. Diagnóstico de infecções concomitantes por <i>Neospora caninum</i> , <i>Babesia canis</i> e <i>Ehrlichia</i> spp. em canino adulto da raça Golden Retriever - Relato de caso. Revista Brasileira de Medicina Veterinária , v. 34, n. 1, p. 47-51, 2012.	165
Anexo 6. FLAUSINO, G.; LEAL, P.D.S.; MACINTOSH, D.; AMARAL, L.G.; TEIXEIRA FILHO, W.L.; FLAUSINO, W.; LOPES, C.W.G. Isolation and characterization of <i>Cyriacomyces guttulatus</i> (Robin) Van Der Walt and Scott. 1971 in dogs in Brasil. Current in Microbiology , v. 65, n. 5, p. 542-546, 2012	171
Anexo 7. FURTADO, T.T.; FLAUSINO, G.; LEAL, P.D. DE S.; FERREIRA, J.P.; MCINTOSH, D.; FLAUSINO, W.; TEIXEIRA FILHO, W.L.; PAES-DE-ALMEIDA, E.C.; LOPES, C.W.G. Diagnóstico de colangite associado à mucocele da vesícula biliar por <i>Cyriacomyces guttulatus</i> em cães - Relato de casos. Revista Brasileira de Medicina Veterinária , v. 35, n. 1, p. 1-6, 2013..	177

LISTA DE ABREVIACÕES, REAGENTES E EQUIPAMENTOS

DNA - Ácido desoxirribonucleico.

RFLP - polimorfismo de comprimento dos fragmentos gerados por enzimas de restrição.

PCR - Reação de cadeia por polimerase.

HIV - Vírus da imunodeficiência humana

DAI - Dia após a infecção.

HAI - Hora após a infecção.

LBL - Lavado bronco-alveolar.

AST - Aspartato aminotransferase.

ALT - Alanina transaminase.

A/G - Relação albumina pela globulina.

DT - Teste de coloração para diagnóstico da toxoplasmose.

SF – Teste Sabin-Feldman.

RIFI - Reação de imunofluorescência indireta.

ELISA - Teste imunoenzimático.

MAD - Teste de Aglutinação direta modificado

MAT - Teste modificado de aglutinação.

HAI - Hemaglutinação indireta.

IgM - Imunoglobulina M.

IgG - Imunoglobulina G.

FR - Fator reumatóide.

ANA - Anticorpos antinucleares.

AL - Aglutinação em látex.

FC - Teste de fixação de complemento.

WB - Teste *western blotting*.

HI - Histopatológico.

IH - Imunohistoquímica.

SNC - Sistema nervoso central.
mg - Miligrama
kg – Kilograma.
RNA - Ácido ribonucleico.
CPV - Vírus da Parvovirose
CDV - Vírus da cinomose canina
OMS - Organização mundial de saúde.
LV - Leishmania visceral.
LVC - Leishmania visceral canina.
TM - Tumor mamário.
TNM - Tumor-nódulo-metástase.
THMP - Tumor hepático maligno primário.
g - Grama.
CD - Condrodistrófico.
NCD - Não condrodistrófico.
MHP - Mielomalácia hemorrágica progressiva.
LCR - Líquido cefalorraquidiano.
TC - Tomografia computadorizada.
MRI - Imagem por ressonância magnética.
OFA - Orthopedic Foundation for Animals.
BVA - British Veterinarian Association.
DVCC - Doença valvular cardíaca crônica.
CMD - Miocardiopatia dilatada.
MCH - Miocardiopatia hipertrófica.
CVHD - Doença valvular cardíaca crônica.
ICC - Insuficiência cardíaca congestiva.
HPC - Hipertensão pulmonar secundária.
EB - Endocardite bacteriana.
FA - Fibrilação atrial.
MCD - Miocardiopatia dilatada.
DRC - Doença renal crônica.
AHIM - Anemia hemolítica imunomediada.
EDTA - ácido etilenodiaminotetracético.
CFMV - Conselho Federal de Medicina Veterinária

LCC - Laboratório de Coccidios e Coccidioses.

UFRRJ - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

dL - Decilitro.

UESC - Universidade Estadual de Santa Cruz.

PBS - Solução fisiológica fosfatada tamponada.

pH - Potencial de hidrogênio

μL - Microlitro

- a. Panótico Rápido LB- Laborclin produtos para laboratórios Ltda, Rua Casemiro de Abreu, 521 Pinhais, PR.
- b. Ms4-Vet-Melet Schloesing Laboratoires coulter, Melet Schloesing Laboratoires 9, Chaussée Jules César 95520 Osny - França.
- c. Centrífuga Micro-Hematócrito E3500108 *MICROSPIN* CDR, Rua Japão, 150, Bairro Sorocabano, Jaboticabal, SP.
- d. *Eclipse E200*, Nikon Instruments Inc. Japão.
- e. Refratômetro clínico modelo Q667, Quimis Aparelhos Científicos, Rua Gema, 278/308, Diadema, SP.
- f. Centrifuga Mod. 208N. Excelsa Baby, marca Fanem Ltda, Av. General Ataliba Leonel, 1.790, São Paulo, SP.
- g. Conjunto Katal Biotecnológica Indústria e Comércio Ltda, rua Leiria, 1160, segundo, Sl. 14, São Francisco, Belo Horizonte, MG.
- h. Bioplus mod. BIO 200 F Campus do Vale – UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 9500, Bloco IV, Prédio 43.421 - Sl. 107. Porto Alegre, RS.
- i. Modelo GCSCO₂G, Beiramar ind. e com. Ltda, Rua Capitão Otávio Machado, 662 Chácara Santo Antônio, SP.
- j. Perfecta Indústria e Comercio de Lâminas de Vidro Ltda, Rua Ibitinga, 538, Bertioga, São Paulo, SP.
- k. Modelo 002 CB, marca Fanem Ltda, Av. General Ataliba Leonel, 1.790, São Paulo, SP.
- l. Benfer do Brasil, Rua Padre Agostinho Poncet, 74, São Paulo, SP.
- m. IgG anti-cão, produzido em coelho, SIGMA® F7884, EUA.

ⁿ. Zeiss Lab. A1 AXIO, Microscopy GmbH Carl Zeiss Promenade 1007745, Jena, RFA.

SUMÁRIO

	Págs
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1 CLASSIFICAÇÃO.....	3
2.1.1. Taxonômica	3
2.1.2. Genotípica	4
2.2 CICLO BIOLÓGICO	9
2.2.1 Fase exógena	10
2.2.2 Fase endógena ou sistêmica	11
2.2.3 Fase intestinal	13
2.2.4 Fase transplacentária	15
2.2.5 Hospedeiros transportes	18
2.3 A TOXOPLASMOSE NO CÃO	20
2.3.1 Sinais clínicos e doenças concomitantes	22
2.3.2 Diagnóstico	23
2.3.2.1 Diagnóstico clínico	24
2.3.2.2 Diagnóstico laboratorial	26
2.3.2.3 Histopatológico	30
2.3.2.4 Biologia molecular	31
2.3.2.5 Teste biológico	32
2.3.3 Tratamento	33
2.4 EPIDEMIOLOGIA	37
2.5 DOENÇAS CONCOMITANTES NO CÃO	39
3. MATERIAL E MÉTODOS	69
3.1 LOCAL DE DESENVOLVIMENTO	69
3.1.1 Animais de estudo	69

	Págs
3.1.2 Avaliação clínica e conduta clínica	69
3.1.3 Determinação do número de amostras e aplicação do questionário	70
3.1.4. Coleta, processamento e análise das amostras.....	70
3.2 ANÁLISE LABORATORIAL	71
3.2.1 Processamento do Soro Sanguíneo	71
3.2.2 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)	71
3.2.2.1 Antígeno de <i>Toxoplasma gondii</i> utilizado	71
3.2.2.2 Preparo das lâminas para reação de Imunofluorescência Indireta	72
3.2.2.3 Diluição dos soros caninos	72
3.2.2.4 Preparação do Conjugado	73
3.2.3 Leitura da Reação de Imunofluorescência Indireta	73
3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA	74
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
4.1 A RIFI COMO TESTE DE DIAGNÓSTICO	75
4.2 O CÃO E A POSITIVIDADE PARA <i>Toxoplasma gondii</i> NO RIO DE JANEIRO	76
4.2.1 Idade e suas consequências	80
4.2.2 Moradia	83
4.2.3 Presença de outras espécies animais	85
4.2.4 Hábitos alimentares	88
4.2.5 Gênero e suas consequências	88
4.2.6 Análises laboratoriais	89
4.2.7 Doenças concomitantes	92
5. CONSIDERAÇÕES GERAIS	103
6. CONCLUSÕES	105
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	106
8. ANEXOS	155

ABSTRACT

LEAL, Paulo Daniel Sant'Anna. *Toxoplasma gondii* (Nicolle and Manceaux, 1908) Nicole and Manceux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae): Intercurrent diseases in seropositive dogs from Rio de Janeiro, RJ. 2014, 183p. Thesis – Doctor in Veterinary Science, Animal Health. Instituto de Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014.

The specialization in Veterinary Medicine has advanced in recent years, which satisfies the demand of the human population that increasingly interact with dogs, requiring an efficiency of Veterinarians in association with the study and control of diseases of the elderly dog. Besides it, *Toxoplasma gondii* and its zoonotic disease should be considered a more important illness in domestic animals and humans. Dogs are intermediate hosts, like humans and other warm-blooded animals. Epidemiological studies in dogs have shown this parasite widespread in the dog population; however, clinical manifestations and diagnosis often overlooked or not recognized by clinicians, that contribute to the absence of a diagnosis, primarily because it is an opportunistic infection and it can be associated with concomitant diseases. Of 402 dogs attended at the CTIVeterinário, Barra da Tijuca in the City of Rio de Janeiro, RJ, were used for determining the presence of *T. gondii* by IFAT as cutoff of 1:16 dilutions, Rio de Janeiro city serum samples it was found for the presence of anti-*T. gondii* by IFAT at 1:16 dilution, 42 dogs (10.44 %) were positive. Age was considered as the most important risk to acquire *T. gondii*, mainly in 76.19% of animals over 10 years old. Dwellings as apartments were significant to protect dogs to get infection of the parasite. It was observed that when several animals inhabiting the same space there were a chance to transmit the infection among them, with a risk factor of 2.407. The presence of the cat was not important for transmitting the infection to dogs. There was no importance of type of food to expose dogs to natural infection of *T. gondii* in this study. Sex was not relevant to be responsible as an important source of infection in this study. No difference among clinical pathology examination to suggest *T. gondii* infection. Dogs, seroreagent against to *T. gondii*, were associated to more than one clinical case characterized as 25% of infectious diseases, 20% a associations of infectious, parasitic and degenerative disorders, 20% infectious and

parasitic diseases, just parasitic diseases 15%, others undefined disease 15%, An association of infectious, parasitic, neoplastic, degenerative and others diseases were observed in 5% of the animals. Neoplastic and degenerative diseases were observed in 5% of the animals respectively. Finally what was observed in this study, even in cases where animals were seropositive for *T. gondii*, at least one type of infection was determined in examined dogs.

Key words: dogs, diseases, toxoplasmosis.

RESUMO

LEAL, Paulo Daniel Sant'Anna. *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux, 1908) Nicole e Manceux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae): Doenças intercorrentes em cães sororreagentes provenientes do Rio de Janeiro, RJ. 2014. 183p. Tese – Doutor em Ciências Veterinárias, Sanidade Animal. Instituto de Veterinária. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2014.

A especialização em Medicina Veterinária tem avançado nos últimos anos, o que satisfaz a demanda da população humana, que cada vez mais tem interagido com cães, exigindo uma eficiência dos Clínicos Veterinários, principalmente em estudo e controle de doenças do cão idoso. Além de que, *Toxoplasma gondii* e a sua doença zoonótica deve ser considerada uma das enfermidades mais importante nos animais domésticos e em seres humanos. Os cães são hospedeiros intermediários, assim como seres humanos e outros animais de sangue quente. Estudos epidemiológicos em cães revelaram este agente etiológico difundido na população de canina, no entanto, as manifestações clínicas e de diagnóstico frequentemente negligenciadas ou não reconhecidas pelos clínicos contribuem para a ausência de diagnóstico, principalmente porque é uma infecção oportunista e se observa em associação com doenças concomitantes. Amostras de sangue foram obtidas de um total de 402 animais atendidos no CTIVeterinário, Barra da Tijuca na cidade do Rio de Janeiro, RJ. Estas amostras foram utilizadas para determinar a presença de animais sororreagentes para *T. gondii* pela RIFI como ponto de corte de 1:16. A presença de sororreagentes para *T. gondii* foi observada em 42 cães (10,44%) dos 402 animais examinados na clínica para este estudo. Como resultado, a idade foi considerada como a mais importante como fonte de risco para a infecção natural por *T. gondii* principalmente em animais de idade igual e acima de 10 anos de idade. Habitação humana, como apartamentos, foi significativo como fator de proteção. Observou-se que, quando vários animais habitam o mesmo espaço não houve possibilidade de transmitir de maneira natural a infecção entre eles, com um factor de risco de 2,407. A presença do gato não foi importante para a transmissão da infecção natural para cães nas condições estudadas. A alimentação não influenciou à infecção natural de *T. gondii* no presente estudo, assim como a determinação do sexo não foi relevante como uma fonte de

infecção, neste estudo. Não há diferença entre os exames de patologia clínica indicados para sugerir a infecção natural por *T. gondii*. Dos cães sororreagentes contra *T. gondii*, 25% destes estavam associados a doenças infecciosas, 20% deles como associações de doenças infecciosas, parasitárias e degenerativas, 20% dos animais tinham doenças infecciosas e parasitárias, enquanto que em apenas 15% dos animais tinham apenas doenças parasitárias, outros 15% dos animais tinham associação com outras doenças, uma associação de doenças infecciosas, parasitárias, neoplásicas, degenerativas e outros foram observados em 5% dos animais positivos para *T. gondii* pela RIFI. Doenças neoplásicas e degenerativas foram observadas em 5% dos animais, respectivamente. A presença do referido agente etiológico não foi importante para desencadear um processo clínico característico da infecção por este agente etiológico e que a presença do mesmo não esteve associado a nenhuma doença clínica observada em cães examinados.

Palavras-chave: cão, doenças, diagnósticos e toxoplasmose.

1. INTRODUÇÃO

A medicina veterinária especializada tem evoluído muito nos últimos anos, proporcionando maior longevidade aos animais de estimação, o que satisfaz a demanda da população humana que cada vez mais interage com cães, principalmente nos grandes centros urbanos. Esse convívio interespecífico íntimo e progressivo vem exigindo uma eficiência da medicina veterinária associado ao estudo e controle de doenças do cão idoso e as de caráter zoonótico. Dentre essas doenças, as coccidioses, doença de sinais clínicos inespecíficos, que vão desde diarreia, passando por toxemias e/ou neuropatias, e podendo estar também associado a sinais respiratórios. As coccidioses em animais podem causar doença grave e óbito, além de serem transmissíveis em algumas situações aos seres humanos. Dentre as coccidioses, a toxoplasmose, pela sua importância zoonótica é uma das mais importantes, tendo como agente etiológico *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux, 1908) Nicolle e Manceaux, 1909, protozoário de distribuição cosmopolita. Os cães são hospedeiros intermediários, assim como o homem e outros animais homeotérmicos. Os membros da família Felidae, além de hospedeiros intermediários, são também os hospedeiros definitivos e eliminam oocistos em suas fezes, pois completam o ciclo.

O contato direto com fezes de felídeos contendo oocistos esporulados também deve ser considerado, principalmente pelo hábito dos cães de ingerirem fezes e ou rolarem na terra contaminada com fezes de felinos positivos para este agente etiológico. Os taquizoítos são responsáveis pela via vertical de transmissão, sendo importantes na toxoplasmose congênita e neonatal. Epidemiologicamente há diferenças quanto à eficiência e gravidade na transmissão da toxoplasmose animal-homem, cães tem sido foco de estudo como sentinelas na contaminação humana e ambiental. Cães pelo hábito da xenosmofilia podem carrear oocistos esporulados nos pelos, podem se alimentar de restos de alimentação humana ou tiver acesso à água e alimentos contaminados com formas infectantes, ao irem à rua de forma não controlada, com risco de

infecção para crianças e adultos imunossuprimidos. Estudos epidemiológicos em cães demonstraram ser esse parasito amplamente difundido na população canina, porem as manifestações clínicas e o diagnóstico muitas das vezes negligenciados ou não reconhecidos pelo clínico, contribuem para ausência de um diagnóstico, principalmente pelo fato de ser uma doença estando associado a doenças concomitantes.

O objetivo geral deste trabalho foi verificar a ocorrência de anticorpos anti-*T. gondii* em cães que procuraram atendimento médico veterinário e possíveis fatores determinantes da manifestação clínica associados às doenças intercorrentes contribuindo para melhorar o diagnóstico e o diagnóstico diferencial.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 CLASSIFICAÇÃO

2.1.1 Taxonômica

Toxoplasma gondii é um parasito intracelular obrigatório, que possuem formas infectantes conhecidas como zoítos (LEVINE et al., 1980; COX, 1981; CORLISS, 1994). Tem como hospedeiro definitivo os felídeos e os animais de sangue quente como hospedeiros intermediários. Pertencente à família Sarcocystidae, na qual encontramos parasitos dos gêneros *Frenkelia*, *Hammondia*, *Neospora*, *Sarcocystis* e *Toxoplasma* e com base na sua morfologia e no seu comportamento biológico (SMITH, 1981), este coccídeo é classificado como:

Império Eucariota Corliss, 1994.

Reino Protozoa Goldfuss, 1818.

Filo Apicomplexa Levine, 1970.

Classe Coccídea Leuckart, 1879.

Ordem Eucoccidiida Léger e Dubosq, 1910.

Subordem Eimeriina Léger, 1911.

Família Sarcocystidae Poche, 1913.

Subfamília Toxoplasmatinae Biocca, 1959.

Gênero *Toxoplasma* Nicolle e Manceaux, 1909.

Espécie *Toxoplasma gondii* (Nicolle e Manceaux, 1908) Nicolle e Manceaux, 1909.

2.1.2 Genotípica

Desde o advento das técnicas de análise de proteínas e ácidos nucleicos, uma série de marcadores tem sido avaliada para se estudar *T. gondii*, bem como avaliar possíveis associações com fenótipos de virulência (DUBEY, 2010).

Inicialmente foram utilizadas análise de isoenzimas e marcadores por polimorfismo de comprimento dos fragmentos de DNA gerados por enzimas de restrição (RFLP), analisando os antígenos de superfície, mas com o sequenciamento do genoma parasitário foi possível ter acesso a um grande número de marcadores genéticos e os estudos atuais requerem a utilização de múltiplos marcadores em uma análise multiloci (DARDÉ et al., 2007).

A superfície do taquizoíto e bradizoíto é composta por uma glicoproteína (GPI), onde se ancoram os diversos antígenos (NAGEL; BOOTHROYDS, 1989), a maioria dos quais são pertencentes a uma família de antígenos de superfície SAG1 ou SAG2 (BOOTHROYD et al., 1998; LEKUTIS et al., 2000). Estas moléculas parecem desempenhar um papel na invasão da célula hospedeira, embora possam também proporcionar uma proteção necessária para o parasito sobreviver no ambiente (LEKUTIS et al., 2001), com o desenvolvimento dos estudos, estabeleceu-se que *T. gondii* possui uma estrutura populacional clonal, baseado na análise de RFLP sobre produtos do *locus* SAG2, mais comumente investigado, avaliando os *loci* polimórficos localizado no cromossomo VIII e que codifica antígenos de superfície p22 do taquizoíto (AJZENBERG et al., 2004; KHAN et al., 2011), sendo assim, subdividiram *T. gondii* em três linhagens, ou tipos, ou ainda famílias clonais distintas, esses tipos ou linhagens são denominados I, II e III, que diferem quanto à virulência e padrão de ocorrência epidemiológica, indicando que sua propagação na natureza ocorra principalmente pela replicação assexuada ou por cruzamentos uni parenterais (HOWEN; SIBLEY, 1995). Vários trabalhos sobre genotipagem de *T. gondii* vem utilizando marcadores SAG1, SAG2, SAG3, BTUB, GRA6 C22-8, C29-2, L358, PK1 e APICO e análise de SAG1, SAG3, SAG4, ROP1 e B1 (LEKUTIS et al., 2000; GRIGG et al., 2001; LEKUTIS et al., 2001; DUBEY et al., 2006d; DUBEY et al., 2007a), inclusive com estudos para desenvolvimento de uma vacina recombinante através da descrição da clonagem e análise da sequência do gene que codifica o principal antígeno de superfície imunodominante (SAG1 ou P30), considerado como a molécula mais promissora para uma vacina recombinante ou vacina de DNA contra a toxoplasmose (SOLHJOO et al., 2006). A

superfície do taquizoíta é menos complexa do que se pensava, existem proteínas presentes, mas suas sequências sugerem que a maioria pode partilhar uma estrutura global semelhante caracterizado por um antígeno de superfície (BOOTHROYD et al., 1998).

Vários estudos de isolados de *T. gondii* de humanos e animais correlacionaram a severidade da doença com o genótipo do SAG2. Os isolados do Tipo I tem se apresentado extremamente virulento em camundongos com alta taxa de multiplicação *in vitro*, com alta parasitemia quando comparado aos Tipos II e III, com uma possível correlação entre Tipo I e infecção congênita em humanos, devido ao aumento do risco de transmissão transplacentária ou severidade de infecção nos fetos em desenvolvimento (HOWE; SIBLEY, 1995). Isolados Tipo II foram os mais prevalentes em várias partes do mundo, seja em humanos ou em animais. Associam-se à infecção crônica e produção de cistos teciduais em camundongos, sendo caracteristicamente de crescimento lento *in vitro*, ocorrendo relação entre esses isolados com a reativação da doença em pacientes imunoincompetentes (HOWE et al., 1997; MONDRAGON et al., 1998; FUENTES et al., 2001). Porém o processo de isolamento de amostras de *T. gondii* através de passagens em camundongos pode selecionar determinadas linhagens do parasito (VILLENA et al., 2004) ou mascarar os resultados, inoculação de amostras tipo I tendem a ser letais para camundongos, o que favoreceria o isolamento desta variante em detrimento de isolados menos virulentos (VILLENA et al., 2004), aumentando-se a frequência observada de isolados do tipo I ou infecções mistas quando se caracteriza isolados diretamente de amostras clínicas, enquanto uma ocorrência mais frequente de isolados do tipo II é assinalada quando as amostras são caracterizadas após isolamento e crescimento por passagens em camundongos ou em cultura celular (VILLENA et al., 2004), levando em consideração que é possível através do PCR, detectando-se o DNA diretamente do concentrado de leucocitário, baseado na identificação do gene B1 como alvo, com a detecção da patogenicidade de *T. gondii*, (BURG et al., 1989).

A despeito da maior parte das infecções humanas e animais serem assintomáticas, virulência diferenciada tem sido registrada em animais e no homem, com particular interesse nas infecções em indivíduos imunoincompetentes e em recém-nascidos de mães primo infectada, e esta variação de virulência sugere a existência de um polimorfismo correspondente ao genoma parasitário, tendo suporte nas diferenças de virulência das cepas em modelos experimentais animais (GENNARI; SOARES, 2006). Isolados Tipo III vem sendo comumente encontrados em animais, inclusive em cães no Brasil (HEADLEY et al., 2013), entretanto parece ser menos

comum em amostras humanas (HOWE; SIBLEY, 1995). A análise genética do locus SAG2 pode ser feita diretamente a partir de amostras coletadas de estudos clínicos, sem a utilização de isolamentos em biotério ou culturas de celulares, para determinar a prevalência dos diferentes genótipos de *T. gondii* (tipos I, II, e III) associado com toxoplasmose humana. Amostras coletadas de indivíduos imunoincompetentes e infecções congênitas, foram analisados por PCR, demonstrando a viabilidade da análise a partir de amostras de casos clínicos (FUENTES et al., 2001). Cepas de *T. gondii* tipo II foram os mais prevalentes em pacientes imunoincompetentes, enquanto que a do tipo I em casos de infecção congênito (FUENTES et al., 2001).

Nos últimos anos, exame de cepas provenientes principalmente da América do Sul, África e Ásia têm demonstrado uma predominância de cepas não arquetípicas, sendo estas usualmente mais virulentas para camundongos que as cepas tipo II, as mais frequentemente isoladas na Europa e América do Norte, entretanto com grande variação desta característica (MAUBON et al., 2008). Isolados da Oceania, na Austrália, apresenta o primeiro isolamento de *T. gondii* a partir do cérebro de um cão jovem, cujas mães provavelmente foram infectadas durante a gravidez e o *T. gondii* foi transmitido aos filhotes congênitamente, com a genotipagem de TgDgAu1 confirmou ser da linhagem do Tipo II (AL-QASSAB et al., 2009).

Amostras de galinhas (*Gallus gallus*) de várias partes do mundo determinaram a frequência de genótipos avaliando sete *loci* polimórficos, com resultados relatando que o *T. gondii* é composto de quatro populações, sendo duas restritas às Américas do Sul e Central (SA1 e SA2), uma população presente na Europa, Ásia, África e América do Norte (RW), mas ausente das Américas do Sul e Central e uma quarta população, de distribuição cosmopolita (WW). O cálculo das distâncias genéticas entre os vários haplótipos, grupo de polimorfismos de único nucleotídeo em uma única cromátide que estão estatisticamente associados, quando analisados indicaram que o parasito teria surgido na América do Sul, onde então se concentraria o maior grau de variabilidade genética. A partir daí, dois eventos migratórios distintos teriam originado as populações RW (mais antiga) e WW (mais recente), tendo esta última sido levada a todo o mundo através das navegações a partir do século XVI (LEHMANN et al., 2006). Vários trabalhos sobre genotipagem de *T. gondii* vem utilizando marcadores SAG1, SAG2, SAG3, BTUB e GRA6 (DUBEY et al., 2006d). Mais recentemente, um número maior de marcadores foi incluído neste estudo: C22-8, C29-2, L358, PK1 e APICO (DUBEY et al., 2007a).

No Brasil estudos recentes da estrutura populacional clonal e a virulência para camundongos de *T. gondii* de gatos, ao comparar os resultados obtidos para marcadores moleculares com a virulência para camundongos, foi possível a identificação de 48 genótipos, sendo que destes, quatro foram isolados em vários hospedeiros e origens geográficas, propondo-se então a denominação destas linhagens como BrI, BrII, BrIII e BrIV, representativas de linhagens clonais. Com base na taxa de mortalidade em camundongos infectados, o isolado do Tipo BrI seria a mais virulenta, a BrIII não virulenta e os Tipos BrII e BrIV de virulência intermediária (PENA et al., 2008). O genótipo BrII foi descrito em recém-nascidos com toxoplasmose congênita caracterizando a alta diversidade genética de *T. gondii* na população humana no Brasil (CARNEIRO et al., 2013). O estudo com o marcador CS3 permitiu corroborar a correlação com a virulência para camundongos e observar variações genéticas particularmente presentes no Brasil, onde muitos isolados de *T. gondii* são diferentes dos Tipos I, II e III, indicando muitas outras linhagens divergentes das arquetípicas (DUBEY et al., 2007c; PENA et al., 2008; LANGONI et al., 2012), inclusive indicando a ausência de Tipo II no Brasil (DUBEY et al., 2007c).

Em estudos realizados com galinhas de criação (*Gallus gallus*) do Pantanal de Mato Grosso do Sul, utilizando o DNA extraídos dos tecidos dos camundongos infectados, após ensaio biológico, com 11 isolados de *T. gondii* das aves positivas; a tipificação dos isolados foi realizada utilizando 12 marcadores PCR-RFLP, genericamente denominados SAG1, 5'3'SAG2, SAG2, SAG3, BTUB, GRA6, c22-8, c29-2, L358, PK1, Apico e CS3. Vinte e sete aves (67,5%), cinco genótipos foram revelados nos 11 isolados, incluindo um genótipo misto encontrado em um isolado (TgCkBr198) que evidenciou um complexo, cujo padrão, seria uma combinação de dois alelos observados em oito *loci*. Dois genótipos foram descritos pela primeira vez. Esses resultados, levando-se em conta resultados de estudos anteriores sobre isolados de *T. gondii* no Brasil, confirmam a diversidade e atipicidade (SILVEIRA, 2009). Com o emprego de PCR-RFLP, alelos distintos dos alelos não clonais (denominados u-1, u-2) foram identificados por alguns marcadores, incluindo SAG1, SAG2, C22-8, c29-2 e PK1. Também foram observadas combinações de alelos dos diferentes arquétipos. Em conjunto estes achados indicaram que muitos isolados de *T. gondii* foram diferentes dos Tipos I, II e III na sequência de DNA (PENA et al., 2008), portanto a multiloci PCR-RFLP como é preconizada atualmente não é capaz de detectar nucleotídeos diferentes dos encontrados para as linhagens clonais tipos I, II e III. No

entanto, isolados de *T. gondii* no Brasil, parecem ter maior variabilidade genética, observado pela multiloci PCR-RFLP e confirmado pelo maior número de alelos atípicos observados através do sequenciamento. Desta forma, o sequenciamento é mais confiável do que a multiloci PCR-RFLP para a caracterização genética de isolados brasileiros (FRAZÃO-TEIXEIRA et al., 2011).

Cepas de *T. gondii* isoladas de cães no Brasil, com quadros clínicos neurológicos, em sua maioria associados a casos de cinomose e ehrlichiose, com isolados através de passagem em camundongos, indicou através da análise do *locus* SAG2 quatro cepas tipo I e cinco cepas tipo III, sendo todas virulentas para camundongos, entretanto, neste tipo de infecções concomitantes, o mais provável é que o isolamento de *T. gondii* represente casos de reativação ou mesmo infecções crônicas (SILVA et al., 2005; MORETTI et al., 2006). A frequência das cepas tipo III é maior em animais do que em casos humanos, considera-se que, em geral, as amostras de *T. gondii* provenientes de humanos causam doença clínica, enquanto que a maioria das amostras provenientes de animais representaram infecções crônicas e subclínicas (HOWE; SIBLEY, 1995). Há de se considerar aqui que existe um viés de amostragem, já que é mais frequente o isolamento do parasito em casos clínicos em humanos do que em animais cronicamente infectados (DARDÉ et al., 2007), porém esta estabelecido que há viabilidade de análise direta de linhagens de *T. gondii* a partir de amostras provenientes tanto de casos clínicos ou infecções assintomáticas (OWEN; TREE, 1999).

Quando se estuda a toxoplasmose em humanos adquirida pela ingestão de alimentos mal cozidos ou crus, principalmente através da ingestão de carne suína, a uveíte infecciosa é a principal lesão encontrada no sul do país. A prevalência da infecção e análise através de enzima de restrição e sequenciamento de DNA para classificação de *T. gondii* isolados de amostras de diafragma e língua de porcos (*Sus scrofa domestica*) se verificou através da análise restritiva e o sequenciamento do DNA e que todas apresentavam genótipo do Tipo I no SAG2, no entanto quando outros *loci* foram analisados estas mesmas amostras se caracterizavam como do Tipo III nos marcadores BTUB, SAG3 e GRA6. Uma das amostras (8T) indicava ser do Tipo II no SAG3, caracterizando como um perfil misto. Estas amostras demonstraram uma alta taxa de infecção, genótipos que não foram observados em estudos prévios, indicando que apresentações incomuns de *T. gondii* podem ser encontradas no Brasil, em porcos domésticos (BELFORT-NETO, 2006), essas variações intraespecíficas indicam possível adaptação do parasito ao hospedeiro (FLAUSINO et al., 1998).

Em virtude do potencial zoonótico da toxoplasmose, o conhecimento de genótipos isolados de infecções humanas, animais e de produtos de origem animal, assim como seu comportamento biológico, é importância para o controle desta zoonose.

2.2 CICLO BIOLÓGICO

O ciclo de vida de *T. gondii* é heteroxeno facultativo, dividido em duas etapas distintas, a enteroepitelial e a extra-intestinal. A fase enteroepitelial ocorre somente em felídeos, hospedeiros definitivos, com a produção final de oocistos, uma das formas infectantes após esporulação (DUBEY et al., 1970; FRENKEL et al., 1970). O ciclo extra-intestinal ocorrerá em qualquer hospedeiro vertebrado homeotérmico, formando-se na sua fase final os cistos teciduais (FRENKEL, 1973). Os principais hospedeiros intermediários são ovinos, caprinos, bovinos, caninos, aves, felinos, roedores e o homem (TURNER, 1978; ESTEBAN-REDONDO et al., 1999; DUNCANSON et al., 2001; DUBEY, 2010), com atenção para as espécies de ratos, portadores do parasito, eficientes como reservatórios e transmissores aos gatos, o hospedeiro definitivo, através do carnivorismo (WALLACE, 1973).

As três formas infectantes de *T. gondii* são os bradizoítos, presentes nos cistos teciduais, os taquizoítos que são formas proliferativas, e os esporozoítos encontrados nos oocistos esporulados eliminados junto às fezes dos gatos (DUBEY et al., 1970; FRENKEL et al., 1970; TURNER, 1978; DUBEY, 2006; DUBEY, 2010).

Toxoplasma gondii pode ser observado em vários tecidos de vertebrados (FRENKEL et al., 1970; FRENKEL, 1972; MILLER et al., 1972), exceto nas hemácias de mamíferos. Suas formas ainda podem ser vistas em líquidos orgânicos como saliva, leite, linfa, sêmen, urina e transudado peritoneal (DE ABREU et al., 2001; ARANTES et al., 2009). Por outro lado, pode desenvolver todas as fases do seu ciclo biológico em células da mucosa intestinal de gatos sendo sua fase final, os oocistos, eliminada nas fezes de felinos (DUBEY et al., 1970; JEWELL et al., 1972; DUBEY, 1986; FRENKEL, 1986).

2.2.1 Fase exógena

Oocistos esporulados são os responsáveis pela transmissão feco-oral, importante fase, onde a infecção ocorre pela ingestão das formas infectantes, tendo a água como a mais comum e associados a surtos da doença (BAHIA-OLIVEIRA et al., 2003; DE MOURA et al., 2006; JONES; DUBEY 2010) e alimentos, que tiveram contato com as fezes de felinos positivos para *T. gondii* (FRENKEL; PARKER, 1996; DUBEY, 1998a). Esta transmissão é mais eficaz e mais grave, produzindo sintomas exacerbados ao hospedeiro intermediário que ingeriu o oocisto esporulado (DUBEY, 2006), infecções provenientes da ingestão de oocistos esporulados em seres humanos são clinicamente mais graves do que infecções adquiridas pela ingestão de cistos teciduais (DUBEY, 2004). Nesta fase soma-se a presença de hospedeiros transportes, tais como: baratas, besouros, moscas, minhocas, lagartixas que favorecem a transmissão para diversas espécies de vertebrados que os utilizam como alimentação ou mesmo contaminando alimentos (WALLACE, 1972; WALLACE, 1973; RUIZ; FRENKEL, 1980, DUBEY; BEATTIE, 1988; SAITOH; ITAGAKI, 1990; CHINCHILLA et al., 1994; LINDSAY et al., 1997; BETTIOL et al., 2000), mexilhões e as ostras filtrantes (MILLER et al., 2008; DUBEY, 2010), assim como o próprio cão através da xenosmofila (DA ROCHA et al., 2012) ou através de dispersantes como os oceanos (LINDSAY; DUBEY, 2009).

Os gatos eliminam oocistos não esporulados nas fezes entre três e 10 dias após a ingestão de cistos teciduais contendo bradizoítos, a partir de 18 dias após a ingestão de oocistos e, após 13 dias quando há a ingestão de taquizoítos (DUBEY, 1998a), contaminando o meio ambiente, tornam-se infectantes após a esporulação, no prazo de um a cinco dias, dependendo das condições de umidade, aeração e temperatura do meio ambiente (DUBEY et al., 1970; DUBEY, 1977; DUBEY; BEATIE, 1988; LINDSAY et al., 1997). Os oocistos são resistentes a ácidos, álcalis, detergentes comuns de laboratório, baixas temperaturas (DUBEY, 1998b), sensíveis aos derivados da amônia, desidratação e temperaturas acima de 55°C (DUBEY et al., 1970). Esporozoítos podem sobreviver no meio ambiente dentro dos oocistos por vários meses (DUBEY et al., 2009), são dispóricos tetrazóicos, contendo dentro dos esporocistos as formas infectantes caracterizadas como esporozoítos em número de quatro por esporocisto (DUBEY et al., 1998a; DUBEY et al., 2009; DUBEY, 2010).

2.2.2 Fase endógena ou sistêmica

Nesta se observa a participação de diversos hospedeiros vertebrados, inclusive o gato, onde as formas proliferativas, clones e cistos são responsáveis pela disseminação através do carnivoríssimo e/ou canibalismo, pela ingestão principalmente dos cistos com suas formas infectantes, os bradizoítos (DUBEY, 2006). *Toxoplasma gondii* é adaptado para ser transmitido biologicamente por carnivorismo, principalmente para os gatos e a transmissão pelos oocistos é mais eficiente em hospedeiros não felinos ou hospedeiros intermediários (DUBEY, 2006; DUBEY 2010). Transmissão horizontal de *T. gondii* pode envolver três fases do ciclo de vida, isto é, a ingestão de oocistos infecciosos a partir do meio ambiente ou a ingestão de cistos de tecido ou taquizoítos que estão contidos na carne e vísceras de animais homeotérmicos. A transmissão pode também ocorrer através de taquizoítos, pela transfusão de sangue e seus derivados, transplantes de tecidos, ou leite não pasteurizado (DUBEY; FRENKEL, 1972; DUBEY et al., 1997; TENTER et al., 2000; DUBEY, 2006; DUBEY et al., 2009; DUBEY, 2010), além de urina e saliva em cães (BRESCIANI et al., 2001). Gatos se infectam após a ingestão de qualquer uma das três fases infecciosas de *T. gondii*, taquizoítos, bradizoítos em cistos de tecido, e esporozoítos em oocistos (DUBEY; FRENKEL, 1972; DUBEY et al., 1997; DUBEY, 2006; DUBEY et al., 2009; DUBEY, 2010). Independente do gato que é considerado como hospedeiro definitivo, onde se desenvolve as formas intestinais, outros animais vertebrados são capazes de se infectar, desenvolvendo assim, uma nova geração de clones e cistos. Após a ingestão de alimento contaminado com as formas infectantes, esporozoítos provenientes dos oocistos e bradizoítos provenientes dos cistos estarão livres no trato digestivo, estes se transformam em taquizoítos dentro dos tecidos, nas células da lâmina própria do intestino delgado, e se multiplicam por endogenia e endodiogenia ou endopoligenia, rompem à célula mãe e se disseminam através da corrente sanguínea ou linfática pelo organismo do hospedeiro, caracterizando a fase aguda da doença, quando são observados os sinais clínicos (DUBEY; THAYER, 1994; DUBEY et al., 1998a). A transformação de taquizoítos a bradizoítos e, de bradizoítos para taquizoítos é de importância biológica e clínica, porque bradizoítos são menos susceptíveis à quimioterapia e a reativação de bradizoítos a taquizoítos é considerada como a causa da toxoplasmose fatal em pacientes com HIV (DUBEY, 1998a).

O desenvolvimento da infecção em modelo biológico, após a ingestão de oocisto esporulado de *T. gondii*, evoluindo de esporozoítos para taquizoítos e bradizoítos inicia com duas horas, com esporozoítos livres do oocisto, penetrando no epitélio da mucosa do intestino delgado, a maioria dos esporozoítos já se encontram em células epiteliais da superfície e na lâmina própria do íleo, e com oito horas após a ingestão dos oocistos esporulados de *T. gondii* foram observados em linfonodos mesentéricos, 12 horas após a ingestão, os esporozoítos tinham-se dividido em dois taquizoítos na lâmina própria do intestino delgado, com 48 horas após a ingestão, houve um crescimento profuso de taquizoítos no intestino e linfonodos mesentéricos (DUBEY et al., 1997). Taquizoítos se disseminam através do sangue e da linfa para outros órgãos com quatro dias após a ingestão. Este agente etiológico foi isolado pela primeira vez a partir de sangue periférico com quatro dias após a infecção (DAI). Os cistos no tecido eram visíveis histologicamente no cérebro em oito DAI. Bradizoítos foram observados pela primeira vez com cinco DAI no intestino e com oito dias no cérebro (DUBEY et al., 1997). Bradizoítos foram observados em vários órgãos de 51 a 151 DAI. Cistos de tecido contendo bradizoítos e taquizoítos foram vistas nos cérebros de 87 a 236 DAI (DUBEY et al., 1997).

Infecções provenientes da ingestão de oocistos esporulados em seres humanos são clinicamente mais graves do que infecções adquiridas pela ingestão de cistos teciduais (DUBEY, 2004). Seres humanos e animais são infectados principalmente pela ingestão de bradizoítos na forma de cistos teciduais em alimentos de origem animal ou oocistos esporulados, através de qualquer alimento com contaminação fecal, inclusive e principalmente a água contaminada com oocistos de *T. gondii* (TENTER et al., 2000; BAHIA-OLIVEIRA et al., 2003). Até recentemente, infecções adquiridas pela ingestão de água contaminada com oocistos esporulados de *T. gondii* era considerado raro, porém, relato de surtos de toxoplasmose adquirida pela ingestão de água contaminada com oocistos esporulados no mundo vem ocorrendo, contaminação de reservatório de água por felinos selvagens e a ocorrência de infecções em mamíferos marinhos indicam a importância de possível transmissão de *T. gondii* pela água (DUBEY, 2004; LINDSAY; DUBEY, 2009). Nas Américas, recentes surtos de toxoplasmose aguda em seres humanos têm sido associados com a contaminação da água por oocistos esporulados (TENTER et al., 2000; DUBEY, 2004; LINDSAY; DUBEY, 2009), a ingestão de água não filtrada aumenta o risco de soropositividade para *T. gondii*, indicando a importância potencial de transmissão de toxoplasmose pela água (BAHIA-OLIVEIRA et al., 2003). Provavelmente a forma de infecção

esta relacionada à região geográfica, sua população e as diferenças culturais, sociais e principalmente nos hábitos alimentares e a infraestrutura sanitária.

2.2.3 Fase intestinal

A fase intestinal ocorre somente na mucosa intestinal de felídeos, seja na ingestão de oocistos esporulados, transmissão feco-oral ou através do carnivorismo, com a ingestão de cistos com bradizoítos, modalidade de transmissão mais eficiente para o hospedeiro definitivo (DUBEY; FRENKEL, 1972; DUBEY, 2006). Gatos infectam-se com *T. gondii* pela ingestão de qualquer estágio infectante, principalmente de bradizoítos presentes em cistos teciduais nos hospedeiros intermediários (DUBEY et al., 1970; FRENKEL et al., 1970), a transmissão do parasito é mais eficiente quando gatos consomem cistos teciduais, pelo carnivorismo (DUBEY, 2006), a infecção através de ingestão de oocistos esporulados pelos gatos é benigna, com menor patogenicidade comparada com as produzidas pela ingestão de bradizoítos e taquizoítos (DUBEY, 2006). O período pré-patente não depende da quantidade de formas ingeridas e sim da qualidade ou da forma ingerida, o período pré-patente é menor quando os gatos consomem bradizoítos por carnivorismo (DUBEY, 2006).

Uma das características desta fase é o desenvolvimento das formas que o classifica como um coccídio, por ter os seguintes estádios de desenvolvimento: trofozoítos, merontes que são diferenciados por características de desenvolvimento, gametócitos e zigoto (FAYER, 1980). Há três estádios infecciosos de *T. gondii*: os taquizoítos (em colônias ou clones), os bradizoítos (em cistos teciduais) e os esporozoítos (em oocistos esporulados), estas fases estão ligadas completando o ciclo de vida complexo, onde são observados cinco estádios estruturais de *T. gondii* (DUBEY; FRENKEL, 1972; DUBEY et al., 1998a).

Após a ingestão da forma infectante pelos gatos, o tecido da parede dos oocistos esporulados é dissolvido por enzimas digestivas no estômago e do intestino delgado, liberando os esporozoítos, que invadem as células epiteliais do intestino delgado e iniciam o desenvolvimento de numerosas gerações de *T. gondii* (DUBEY et al., 2009; DUBEY, 2010), iniciando assim, a fase enteroepitelial, essa fase resulta na formação de até cinco tipos de merontes de *T. gondii* por reprodução assexuada contendo no seu interior os merozoítos, observado no jejuno entre 12 e 18

horas após a infecção (HAI) (DUBEY; FRENKEL, 1972; DUBEY et al., 2009; DUBEY, 2010) e após 24 HAI em todos os níveis do intestino delgado (FREYRE et al., 1989). Ao final dão origem aos gamontes, observados a partir de 12 até 54 HAI e se dividem por endodiogenia simples e por endodiogenia múltipla ou endopoligenia (DUBEY; FRENKEL, 1972) dentro dos enterócitos, abaixo do epitélio na lâmina própria (DUBEY, 2010), que por sua vez se diferenciam em macro e microgametócitos, observados entre 24 e 54 HAI e se dividem por esquizogonia (DUBEY; FRENKEL, 1972), desenvolvem-se exclusivamente em enterócitos (DUBEY, 2010). Inicia-se então, a reprodução sexuada, ocorrendo à fertilização do macrogametócito (macrogameta) por um microgameta, dando origem ao zigoto, são observados a partir de 32 HAI até o 15 DAI, e representam mais de 90% de todas as formas parasitárias no intestino delgado (DUBEY; FRENKEL, 1972). Finalizando esta etapa, formam-se os oocistos não esporulados (DUBEY; FRENKEL, 1972; DUBEY et al., 2009; DUBEY, 2010). Estes ficam livres na luz intestinal quando da destruição celular até alcançarem o meio ambiente juntamente com as fezes.

O tempo e eficiência do ciclo no gato e sua eliminação de oocistos é dependente da fase ingerida e ainda do tempo de infecção na preza, ou seja, o período pré-patente, que é o tempo de eliminação de oocistos nas fezes após a infecção primária varia de acordo com o estágio de *T. gondii* ingerido pelo gato (DUBEY; FRENKEL, 1976; DUBEY, 2006). O período pré-patente após a ingestão de bradizoítos é curto, variando de três a 10 DAI (DUBEY et al., 1970), enquanto que o período pré-patente após a ingestão de oocistos ou taquizoítos é de no mínimo de 18 DAI (DUBEY, 2006). Menos de 50% dos gatos eliminam oocistos após a ingestão de taquizoítos ou esporozoítos, enquanto que quase toda a totalidade dos gatos eliminam oocistos através da ingestão de bradizoítos de cistos teciduais (DUBEY; FRENKEL, 1976). O período pré-patente é de três a cinco DAI, com o pico de produção de oocistos entre cinco a oito DAI, e um período de eliminação entre sete e 20 DAI. O gato, *Felis catus*, também desenvolve a doença, a idade é diretamente proporcional ao fator de proteção (DUBEY; FRENKEL, 1972; DUBEY, 1977). Números variados de trofozoítos estão presentes na lâmina própria do intestino delgado e nos tecidos extra-intestinais poucas horas após a infecção, e entre nove e 10 DAI os cistos foram vistos no coração e, posteriormente, no cérebro (DUBEY; FRENKEL, 1972). A infecção por oocistos esporulados é a fonte de contaminação menos infecciosa para felídeos do que os cistos teciduais (DUBEY; BEATTIE, 1988). A eliminação dos oocistos é interrompida após o desencadeamento da resposta imune, contudo, essa imunidade não persiste por toda a vida do

animal, está presente de um a cinco meses (DUBEY et al., 1970). Assim, uma segunda eliminação de oocistos pode ocorrer quando o animal ingerir formas infectantes de *T. gondii*, passados seis anos da infecção primária, e em alguns casos, pode ocorrer à eliminação de oocistos através das formas encistadas (TENTER et al., 2000) ou mesmo desafiados com a infecção experimental com oocistos esporulados de *Cystoisospora felis* (= *Isospora felis*) (CHESSUM, 1972; DUBEY, 1976; DUBEY, 2010). O mesmo não ocorreu com *Cystoisospora rivolta* (= *Isospora rivolta*) (DUBEY, 1978; DUBEY, 2010).

De todos os métodos atualmente disponíveis para avaliar a conversão da fase de *T. gondii*, o mais confiável é através da oferta de alimento com os estágios infecciosos para gatos. Os gatos, os hospedeiros definitivos de *T. gondii* eliminam oocistos 3 a 10 dias após a ingestão de cistos teciduais contendo bradizoítos, a partir de 18 dias após a ingestão de oocistos, e a partir de 13 dias após a ingestão de taquizoítos (DUBEY, 1998a). A conversão de bradizoítos para taquizoítos e taquizoítos para bradizoítos é biologicamente importante no ciclo de vida de *T. gondii* (DUBEY, 2006).

2.2.4 Fase transplacentária

A infecção por *T. gondii* durante a gravidez e seus resultados agressivos para o feto foram assinalada em todo o mundo. A infecção pode ser adquirida através da ingestão de carne mal cozida, água ou alimentos contaminados com as formas infectantes (DUBEY; FRENKEL, 1972; FRENKEL; PARKER, 1996; DUBEY et al., 1997; DUBEY, 1998a; TENTER et al., 2000; BAHIA-OLIVEIRA et al., 2003; DE MOURA et al., 2006; DUBEY, 2006; DUBEY et al., 2009; DUBEY, 2010; JONES; DUBEY, 2010). O primeiro contato durante a gravidez, *T. gondii* pode ser transmitido verticalmente por taquizoítos que são passados para o feto através da placenta (TENTER et al., 2000). Esta fase caracteriza-se por ocorrer principalmente durante a fase aguda da doença, onde os taquizoítos livres na circulação sanguínea, procedentes de suas formas proliferativas, os clones, passam da mãe para o feto, transpondo a barreira placentária, pois *T. gondii* é um dos poucos patógenos que podem atravessar a placenta (TENTER et al., 2000; ROBBINS et al., 2012a; GIVENS; MARLEY, 2008) e, resultam em doença para o recém-

nascido, perda visual e auditiva, retardo mental e psicomotor, convulsões, alterações hematológicas, hepatoesplenomegalia, hipoplasia dentária, coriorretinite periférica, calcificações intracranianas, dilatações ventriculares ou morte. Alguns problemas de saúde podem não ser aparentes até a segunda ou terceira década de vida (BERREBI et al., 1994; JONES et al., 2003; GOLDSTEIN et al., 2008; SIQUEIRA, 2013). Quando a infecção ocorre no primeiro e segundo trimestre de gravidez, não há necessidade de ser interrompida, desde que ocorra um acompanhamento através do ultrassom fetal, indicando ausência de alterações como hidrocefalia ou dilatação ventricular e utilização de tratamento antiparasitário (BERREBI et al., 1994), mesmo que não ocorra sintomatologia clínica, na maioria dos casos a infecção materna é subclínica, deste modo, não é geralmente reconhecida durante a gravidez (DESMONTS; COUVREUR, 1974); porém, lesões através de cistos nos tecidos são observadas dentro da placenta e do feto, na infecção crônica pouco ou nenhum taquizoíto é observado, independente disso, podem ocorrer áreas no cérebro fetal com um grande número de taquizoítos, estas observações mostram que a proliferação dos parasitos e destruição continua no tecido cerebral fetal (FERGUSON et al., 2013), fica assim demonstrado o benefício no tratamento de casos de infecção congênita para destruir os parasitos localizados em locais protegidos imunologicamente, como o cérebro fetal (BERREBI et al., 1994; FERGUSON et al., 2013). A taxa de transmissão materno fetal é de 27 a 34% (6% até 13 semanas e 72% até 36 semanas), fetos infectados no início da gravidez são mais propensos a mostrar sinais clínicos de infecção, estes efeitos são brandos quando comparados às mulheres que apresentaram soro conversão entre 24 e 30 semanas de gestação, indicando maior risco (10%) de ter uma criança congenitamente infectada com sinais clínicos iniciais e com risco de complicações em longo prazo (DUNN et al., 1999). A toxoplasmose adquirida durante a gestação por constituir uma das formas de transmissão do parasito, apresenta especial relevância pelos danos causados ao desenvolvimento do feto. A taxa de transmissão ao feto durante a primo-infecção é de 25, 54 e 65% no primeiro, segundo e terceiro trimestres, respectivamente (DUBEY, 2010). Quando uma grávida adquire a infecção por *T. gondii*, ela pode transmiti-lo via transplacentária para o feto. Isso acontece geralmente quando a infecção ocorre durante a gravidez, fetos infectados no início da gravidez são muitos mais propensos a mostrar sinais clínicos de infecção (DUNN et al., 1999).

Felinos também sofrem transmissão transplacentária de *T. gondii*, lesões histológicas associadas à toxoplasmose neonatal foram caracterizadas como infiltrado de macrófagos e

neutrófilos, muitas vezes acompanhado de necrose, linfócitos e células plasmáticas, pneumonia intersticial proliferativa, hepatite necrótica, miocardite, miosite esquelético, miosite glossiano, encefalite não supurativa do cérebro, do tronco cerebral, da medula espinhal, observado também uveíte, necrose de adrenal, nefrite intersticial, além de lesões placentárias através de necrose e mineralização, a normalidade da arquitetura lamelar da corioalantóide foi interrompido por um grande foco da necrose e infiltração leucocitária mista (DUBEY et al., 1996).

Nas cadelas infectadas durante a gravidez, *T. gondii* é transmitido aos filhotes congenitamente (AL-QASSAB et al., 2009), podendo ser considerada uma doença sexualmente transmissível nos cães, pois *T. gondii* pode ser sexualmente transmissível em cães domésticos (ARANTES et al., 2009), com as cadelas apresentando sinais: febre, corrimento nasal, lacrimejamento, prostração, linfadenopatia, parto prematuro, abortamento e morte fetal (BRESCIANI et al., 2001; ARANTES et al., 2009), oferecendo riscos para outros animais e humanos, pois podem eliminar parasitos através da urina, saliva e leite (BRESCIANI et al., 2001).

Em porcas, lesões e parasitos foram identificados e seus neonatos. *Toxoplasma gondii* esteve presente em trofoblastos, com áreas de produção de necrose dos corioalantóide com a separação da placenta focal. As lesões predominantes foram placentite necrosante, encefalomielite não supurativa, e degeneração do miocárdio, necrose e mineralização. Numerosos taquizoítos foram vistos em trofoblastos (DUBEY et al., 1990). Infiltração celular mononuclear difusa moderada da zona do endométrio, células trofoblásticas contendo cistos teciduais de *T. gondii* e taquizoítos. Ocorre uma endometrite necrosante, severa miocardite necrótica multifocal com mineralização (DUBEY et al., 1990).

A frequência e gravidade da transmissão depende da idade gestacional (DUNN et al., 1999; ROBBINS et al., 2012a; ROBBINS et al., 2012b), geralmente quando uma mulher é infectadas durante a gravidez, raramente, a transmissão ocorre em mulheres infectadas antes da gravidez ou durante a infecção crônica (KLEIN; REMINGTON, 2001, ELBEZ-RUBINSTEIN et al., 2009; DUBEY, 2010). A transmissão de agentes patogénicos da mãe para o feto ocorrer em duas regiões, entre as células maternas e células fetais especializadas, os trofoblastos (grego *threphain*: alimentar), estrutura do embrião humano, primeiro dos anexos embrionários e nos sinciotrofoblasto, que da origem a placenta propriamente dita (ROBBINS et al., 2012b), a vulnerabilidade principal é no local de implantação do ovulo, a placenta se comporta de acordo

com a agressão de patógenos, e através de inflamação mediada podem beneficiar a mãe com o aborto espontâneo (ROBBINS et al., 2012b), *T. gondii*, na forma de taquizoíto, invade o trofoblasto, com a formação de vacúolos parasitóforos, e podem chegar a um aumento de 45 vezes em 48 horas. Dois dias após a infecção, quase 30% dos trofoblastos desenvolvem apoptose (ABBASI et al., 2003). Quase 90% dos núcleos apoptóticos não está adjacente a um vacúolo parasitóforo, sugerindo que a presença do vacúolo proteja da apoptose (ABBASI et al., 2003).

Raramente, a transmissão ocorre em infectadas antes da gravidez ou durante a infecção crônica (DUBEY, 2010), porém em ovelhas ocorre a formação de cistos em placentas com provável infecção do feto em caso de gestação (DUBEY, 1987).

Os avanços nas técnicas de laboratório tornaram viáveis a considerar a vigilância sorológica das mulheres grávidas. Recomendações para que cada país forneça dados sobre a incidência da infecção pelo toxoplasma durante a gravidez e, assim, decidir se ela representa um problema e que medidas devem ser adotadas (STRAY-PEDERSEN, 1993).

Educação em saúde sobre como evitar a toxoplasmose durante a gravidez deve se tornar protocolo nos cuidados obstétricos. Triagem sorológica adequada, diagnóstico pré-natal é útil para redução da incidência da toxoplasmose congênita (FONLON et al., 1994). Em muitos casos, a toxoplasmose congênita pode ser evitada com educação e manejo adequado, a não ingestão de carne crua ou mal cozida, medidas para evitar a contaminação cruzada de outros alimentos com carne crua ou mal cozida, e proteger-se contra a exposição ao gato, lixo, solo e água contaminada (JONES et al., 2003).

2.2.5 Hospedeiros transportes

Ao lado das fases biológicas clássicas citadas anteriormente, torna-se importante à participação de invertebrados, devido aos seus hábitos de alimentação, assim como o comportamento biológico desses animais e outros que vivem próximos ou fazem parte da rotina de humanos e animais domésticos: como moscas, baratas, besouros, minhocas, moluscos e o próprio cão. São passíveis de atuarem como vetores e transmissores de protozoários parasitos para os humanos e animais domésticos (WALLACE, 1971; WALLACE, 1972; WALLACE,

1973; RUIZ; FRENKEL, 1980; SAITOH; ITAGAKI, 1990; CHINCHILLA, et al., 1994; LINDSAY et al., 1997; BETTIOL et al., 2000; GRACZYK et al., 2005; KINFU; ERKO, 2008; MILLER et al., 2008; DA ROCHA et al., 2012).

A contaminação se reflete em todos os nichos ecológicos, no ambiente marinho onde os oocistos se mantem viáveis com competência para a infecção e contaminação dos oceanos (MILLER et al., 2008; LINDSAY; DUBEY, 2009; DUBEY, 2010) e através destes são importantes veículos de dispersão da toxoplasmose, contaminando e mantendo como reservatórios mexilhões e ostras filtrantes que são a base alimentar para mamíferos aquáticos como lontras, principalmente a espécie *Enhydra lutris nereis* e cetáceos como golfinhos, botos e baleias (MILLER et al., 2008; DUBEY, 2010).

Moscas e baratas são vetores eficientes de protozoários parasitos para humanos e animais domésticos. A forte atração por sujeira, alimentação humana e animal, esta associado a surtos e casos de doenças diarreicas de origem alimentar em áreas urbanas e rural (GRACZYK et al., 2005). Insetos como baratas, especialmente as espécies *Leucophaea maderae* (barata cascuda), *Eurycotis biolleyi* e *Periplaneta americana* (barata americana), após ingerir fezes de gatos contaminados com oocistos de *T. gondii* mantem estes viáveis sendo eficientes como vetores na transmissão mecânicos desse agente etiológico e contaminam o meio ambiente, alimentos e o solo (WALLACE, 1972; WALLACE, 1973; CHINCHILLA et al., 1994), outras espécies transmissoras em potenciais como a *Blattella germânica* (baratinha ou barata-germânica), a *Periplaneta brunnea*, *Pycnoscelus surinamensis* (barata de jardim) e *Supella longipalpa*, visto que já foram identificadas como eficientes vetores e transmissores de outros protozoários e helmintos (KINFU; ERKO 2008). Os gatos podem se infectar, devido ao hábito predatório, assim como outros vertebrados, ingerindo baratas que contenham em seu intestino oocistos esporulados e viáveis (WALLACE 1972). As moscas, assim como as baratas, principalmente das espécies *Musca doméstica* e *Chrysomya megacephala* são responsáveis por transmitir *T. gondii*, como vetores, a partir da contaminação com fezes de gatos que contenham oocistos, contaminando alimentos e o ambiente (WALLACE, 1971).

Outros insetos como os besouros do gênero *Onthophagus* spp., que se alimentam de matéria orgânica, ingerindo as fezes de felinos contaminadas com oocistos, além de serem transportadores, através de seu corpo e patas, contaminam alimentos, água e prováveis animais homeotérmicos que os utilizam como alimentos, inclusive o próprio gato, desempenhando papel

importante na transmissão da toxoplasmose (SAITOH; ITAGAKI, 1990). Desempenhando papel semelhante, os anelídeos das espécies *Lumbricus rubellus* e *Perionyx excavatus* que ao habitarem solo contaminado com fezes de gatos positivos para oocistos de *T. gondii*, ingerem estes e contribuem para a dispersão da toxoplasmose, contaminando aves, principalmente galinhas que as utilizam na sua dieta alimentar e outros mamíferos silvestres (RUIZ; FRENKEL, 1980; BETTIOL et al., 2000).

Nesta forma de transmissão, pode-se ainda incluir a xenosmofilia, mecanismo este de transmissão mecânica de oocistos esporulados de *T. gondii*, estes localizados no solo contaminado por fezes de gatos, quando cães ao se esfregarem no solo, aderem-se ao pelo e pele com o auxílio da estática, facilitando a transmissão entre animais que ao se lamberem se infectam e quando acariciados pelos contactantes humano, necessariamente existe a necessidade da transmissão feco-oral, portanto, os dedos contaminados no afago devem ser levados à boca para que se processe a contaminação neste caso principalmente crianças se infectam (FRENKEL; PARKER, 1996; LINDSAY et al., 1997; DA ROCHA et al., 2012), o cão também é responsável por outra forma de dispersão de *T. gondii*, através da eliminação de oocistos nas fezes, após a ingestão de fezes de gatos contaminadas com oocistos não infectantes de *T. gondii*, apesar de não haver esporulação no intestino de cães, desenvolve apenas o papel de hospedeiro intermediário (FRENKEL; PARKER 1996; LINDSAY et al., 1997). Essas formas de transmissão são significativas na epidemiologia da toxoplasmose onde há cães e gatos (FRENKEL; PARKER 1996; DA ROCHA et al., 2012).

2.3 A TOXOPLASMOSE NO CÃO

A toxoplasmose canina foi descrita pela primeira vez na Itália, em um cão que apresentava sinais clínicos como anorexia, fraqueza, anemia, emagrecimento, desidratação, atrofia dos músculos, dispnéia, diarreia, vômitos, e pulso fraco (MELLO, 1910) e no ano seguinte no Brasil, um cão foi diagnosticado através de exame após óbito, com análise dos pulmões, baço, fígado, rins e de medula óssea, onde foram observados organismos viáveis tendo as características de *T.*

gondii (CARINI, 1911); desde então, a doença tem sido relatada em cães (LANGHAM; SHOLL, 1949; OTTEN et al., 1950, CAPEN; COLE, 1966; AHMED et al., 1983; SUTER et al., 1984; GREENE et al., 1985; PIMENTA et al., 1993; BERNSTEEN et al., 1999; MINEO et al., 2001; BRITO et al., 2002; GIRALDI et al., 2002; MORETTI et al., 2002; DUBEY et al., 2003a; DUBEY et al., 2003b; FRESCHI et al., 2005; TARLOW et al., 2005; DA SILVA et al., 2005; MORETTI et al., 2006; SEVÁ et al., 2006; SILVA et al., 2007a; YARIM et al., 2007; SWINGER et al., 2009; GUIMARÃES et al., 2009; PLUGGE et al., 2011; HOFFMANN et al., 2012; HEADLEY et al., 2013; SAKAMOTO et al., 2013). Na maioria das vezes não há manifestações clínicas ou estas passam despercebidas além de serem inespecíficas (VIDOTTO, 1992; DE ABREU et al., 2001) ou apenas se manifestam por enfartamento de linfonodos (DE ABREU et al., 2001; DE ABREU et al., 2002) ou orquites (ARANTES et al., 2009). Na maioria das vezes é auto limitante em cães sadios devido à competência do sistema imune, por esse comportamento biológico a doença primaria tem sido rara nos cães (LANGHAM; SHOLL, 1949; PIMENTA et al., 1993; DUBEY, 2010) principalmente porque é difícil induzir toxoplasmose clínica em cães, sem a concomitante imunossupressão (WEBB et al., 2005; DUBEY et al., 2009) e quando ocorre, evolui para doença crônica (NAVARRO et al., 1997), não havendo manifestação clínica neurológica específica (DA SILVA et al., 2009).

Na clínica de cães onde o transplante de tecidos torna-se uma realidade, animais soropositivos não devem exercer função de doador, pois a transmissão por tecidos transplantados é reconhecida em várias espécies, principalmente no homem e a imunossupressão esta presente no receptor pelo estresse da doença pré-existente ou pela exigência terapêutica de imunossupressão para o receptor (BERNSTEEN et al., 1999; TENTER et al., 2000; PRUETT, 2001; WEBB et al., 2005; DEROUIN; PELLOUX, 2008; SUMI et al., 2011; FERNÁNDEZ-SABÉ et al., 2012) e as complicações podem inclusive levar a óbito por toxoplasmose sistêmica aguda (VAUGHAN; WENZEL, 2013). A toxoplasmose pode ser uma complicação fatal em cães receptores de transplante renal. Atualmente doadores e receptores caninos são submetidos a testes sorológicos para toxoplasmose antes da cirurgia, os doadores soropositivos não podem ser utilizados para os receptores soronegativos e que os receptores soropositivos devem ser monitorados após a cirurgia para sinais clínicos de toxoplasmose (BERNSTEEN et al., 1999).

2.3.1 Sinais clínicos e doenças concomitantes

A doença em cães pode ocorrer exclusivamente pela ação de *T. gondii* (TARLOW et al., 2005) não estando associada à outras infecções intercorrentes (GIRALDI et al., 2002), em alguns casos, contudo, os fatores predisponentes não são identificados (DUBEY; LAPPIN, 2006); normalmente nesses casos o prognóstico é favorável, ocorrendo remissão dos sinais clínicos com a terapia específica para o agente etiológico em questão (TARLOW et al., 2005), porém, pode haver comprometimento grave do sistema respiratório (CAPEN; COLE, 1966; PIMENTA et al., 1993) e rapidamente ocorrer o óbito por insuficiência respiratória em decorrência de um quadro clínico de pneumonia (LANGHAM; SHOLL, 1949; PIMENTA et al., 1993), que se exterioriza com ou sem tosse (DUBEY, 2010), com a presença principalmente de febre, dispneia, estertores respiratórios, secreção nasal e ocular, e linfadenopatia (BRESCIANI et al., 2001). Tem sido relatados aborto em cadelas (CHAMBERLAIN et al., 1953; BRESCIANI et al., 1999; ARANTES et al., 2009), neonatos enfermos, devido a transmissão transplantaria (BRESCIANI et al., 1999; ARANTES et al., 2009; AL-QASSAB et al., 2009) e sinais neurológicos: mioclonia, ataxia e convulsão (GIRALDI et al., 2002). A toxoplasmose, esta associada a estresse crônico, que exercem efeito imunossupressor no organismo (PRUETT, 2001), consequência de enfermidades diversas, luxações, fraturas, helmintos, infecções bacterianas, virais, parasitárias e outras doenças concomitantes, assim como tratamento imunossupressor o que caracteriza doença oportunista (AHMED et al., 1983; GREENE et al., 1985; PIMENTA et al., 1993; BERNSTEEN et al., 1999; BRITO et al., 2002; MORETTI et al., 2002; DUBEY et al., 2003a; DUBEY et al., 2003b; FRESCHI et al., 2005; MORETTI et al., 2006; SILVA et al., 2007; DA SILVA et al., 2009; SWINGER et al., 2009; DUBEY, 2010; HOFFMANN et al., 2012; HEADLEY et al., 2013; SAKAMOTO et al., 2013) ou ainda associado a idade onde nos cães jovens, as manifestações clínicas são mais frequentes, particularmente nos seis primeiros meses de vida (PIMENTA et al., 1993; HOSKINS, 2004), porém a maior frequência de infecção ocorre em cães adultos jovens, até 4 anos de idade e a menor em animais velhos (AHMED et al., 1983). Isso pode estar associado a uma diminuição da resposta imune, o que não permite o diagnóstico pela ausência da soroconversão, com a manifestação da doença (BAUER, 2005; ANISIMOV, 2007).

É frequente a descrição da toxoplasmose em animais apresentando enfermidades imunossupressoras, incluindo a erliquiose (DUBEY et al., 2003b; MORETTI et al., 2006), cinomose (DUBEY; BEATTIE, 1988; MORETTI et al., 2002; MORETTI et al., 2006; SILVA et al., 2007; PAES; MANGIA, 2012; HEADLEY et al., 2013), leishmaniose visceral, ou doenças que produzem estresse, como displasia coxo femoral (AHMED et al., 1983; SAKAMOTO et al., 2013). A associação de cinomose e toxoplasmose é bastante frequente (DUBEY; BEATTIE, 1988; MORETTI et al., 2002; MORETTI et al., 2006; SILVA et al., 2007; HEADLEY et al., 2013) piorando o prognóstico devido a comprometimento da eficácia terapêutica aos agentes etiológicos e com isso, promovendo elevada letalidade quando da ocorrência simultânea destes dois agentes em cães (MORETTI et al., 2002). A cinomose diminui a resistência à preexistente infecção por *T. gondii* e torna mais grave a doença, o cão na maioria das vezes morre devido à infecção combinada (DUBEY; BEATTIE, 1988) com lesões viscerais extra cerebral (SILVA et al., 2007). Com a adesão de protocolos vacinais anuais contra a cinomose, esta teve sua prevalência diminuída, portanto a toxoplasmose associada à cinomose e suas manifestações clínicas diminuíram na população canina (DUBEY; BEATTIE, 1988; DUBEY; LAPPIN, 2006).

2.3.2 Diagnóstico

O diagnóstico da toxoplasmose, assim como de qualquer outra doença que acometa cães, é necessário para que haja um efetivo tratamento e manejo (IRWIN, 2002; TARLOW et al., 2005; ULLMANN et al., 2008). Os sinais clínicos são inespecíficos ou se assemelham a neosporose (DUBEY, 1977; DUBEY; LAPPIN, 2006; DUBEY, 2010), porém têm diferenças antigênicas (DUBEY et al., 2008). O diagnóstico, assim como o diagnóstico diferencial, ambos exigem um conjunto de informações, tais como: histórico, sinais clínicos, exames complementares e específicos através da pesquisa de anticorpos circulantes, que contribuem para o diagnóstico mais preciso (SABIN; FELDMAN, 1948; DUBEY, 1977; DESMONTS; REMINGTON, 1980; AHMED, et al, 1983; SILVA et al., 1997; VARANDAS et al., 2001; BRITO et al., 2002; FRESCHI et al., 2005; DUBEY; LAPPIN, 2006; DUBEY et al., 2007; YARIM et al., 2007; ULLMANN et al., 2008; AL-QASSAB et al., 2009; ARANTES et al., 2009; DA ROCHA et al., 2012). Deve-se conhecer as limitações de cada teste, pacientes infectados por este agente

etiológico podem ter fraca resposta específica frente aos antígenos de cistos teciduais (FRESCHI et al., 2005) o que dificulta o diagnóstico, havendo necessidade de se utilizar outras formas de diagnóstico, como a detecção de ácido desoxirribonucleico-DNA por reação em cadeia de polimerase (PCR) (BURG et al., 1989; MÜLLER et al., 1996; BRESCIANI et al., 2001; SCHATZBERG et al., 2003; AL-QASSAB et al., 2009; DUBEY, 2010), histopatológico e de imunohistoquímica podem confirmar o diagnóstico desta protozoose (FRENKEL, 1956; PIMENTA et al., 1993; SILVA et al., 1997; DUBEY et al., 2003a; SCHATZBERG et al., 2003; FRESCHI et al., 2005; DUBEY; LAPPIN 2006; ARANTES et al., 2009; DUBEY, 2010), bem como provas biológicas (PIMENTA et al., 1993; LINDSAY et al., 1997; DUBEY et al., 2007; AL-QASSAB et al., 2009; ARANTES et al., 2009), exames diretos com a análise de biopsias de linfonodos, baços, fígado, outros órgãos linfoides, músculo esquelético, líquidos biológicos e secreções, assim como lavados bronco-alveolares (LBA), técnica eficiente no diagnóstico de doenças pulmonares de cães (RHA; MAHONY, 1999), com a possibilidade de identificação do possível agente etiológico obtido pelo LBA (BROWNLEE; SELTON, 2001). O material coletado, após coloração com método rápido derivado do Romanowsky, tem permitido a visualização das formas biológicas, bem como facilitando o diagnóstico da toxoplasmose canina (DE ABREU et al., 2002; DUBEY et al., 2007; ARANTES et al., 2009, DUBEY, 2010).

Em determinadas manifestações patológicas da toxoplasmose, apesar da melhoria das técnicas de diagnóstico, onde não se tem soro conversão, outros exames complementares podem não ser possíveis, especialmente quando se trata de lesões oculares (DAVIDSON, 2000) e nas neuropatias, com sinais clínicos compatíveis, pesquisa de anticorpos específicos no soro e líquido, positivos. A utilização da tomografia e ressonância computadorizada constituem métodos adequados para o diagnóstico complementar e acompanhamento não invasivo, com a evidência de lesão cerebral e suas consequências (VERNAU et al., 1997; BERG; JOSEPH, 2003).

2.3.2.1 Diagnóstico clínico

As manifestações clínicas da toxoplasmose são variadas, comuns a diversas enfermidades, com envolvimento de vários órgãos e sistemas incluindo gastrintestinal, linfático, esplênico, hepático, pulmonar, osteomuscular, cardíaco, ocular e nervoso (DUBEY; LAPPIN, 2006) e estão

associados a infecções ativas (BRITO et al., 2002) e se manifesta por vários sinais clínicos inespecíficos, anorexia, fraqueza, anemia, emagrecimento, desidratação, atrofia dos músculos, distúrbios respiratório, diarreia e vômitos, podendo com isso, levar ao choque e ao óbito (MELLO, 1910; LANGHAM; SHOLL, 1949), pneumonia (CARINI, 1911), encefalite, neurite e diarreia crônica (OTTEN et al., 1950), paralisia espástica progressiva dos membros posteriores (SUTER et al., 1984; BRITO et al., 2002; TARLOW et al., 2005; MORETTI et al., 2006), ceratoconjuntivite seca, ceratite pigmentar e conjuntivite necrosante (SWINGER et al., 2009), pústulas, prurido cutâneo, nódulo subcutânea (DUBEY et al., 2003b; HOFFMANN et al., 2012), doenças da córnea e conjuntiva (DE ABREU et al, 2001; DE ABREU et al., 2002; SWINGER et al., 2009), hipertrofia dos linfonodos (DE ABREU et al, 2001; DE ABREU et al., 2002), insuficiência cardíaca por miocardite necrótica (HEADLEY et al., 2013), insuficiência pulmonar por pneumonia fibrinosa, broncopneumonia, pneumonia focal e hipertrofia dos linfonodos mediastínicos (CAPEN; COLE 1966), aborto ou parto prematuro (CHAMBERLAIN et al., 1953; BRESCIANI et al., 1999; BRESCIANI et al., 2001), polimiosite (GREENE et al., 1985), febre, corrimento nasal, lacrimejamento, prostração, linfadenopatia (BRESCIANI et al., 2001), alterações na consciência, na marcha e tempo de propriocepção aumentado (BRITO et al., 2002). Esses sinais clínicos como se pode ver são comuns a outras enfermidades, tornando-se necessário a indicação precisa da etiologia envolvida.

As manifestações clínicas dependem da localização, da patogenicidade, sensibilidade do hospedeiro e da extensão da lesão tecidual, que é determinada pela característica intracelular do parasito (DUBEY; LAPPIN, 2006), que em caso de lesões oculares produzem deficiência visual que podem passar despercebidas, porém a alteração clinica observada pode ser confirmada pelo exame da retina e de fundo de olho ou mesmo, através da retinografia, principalmente onde há infecções com cepas formadoras de cisto (DE ABREU et al., 2002).

No diagnóstico diferencial, a neosporose, deve ser considerada quando cães tiverem distúrbios respiratórios, neuromusculares e gastrintestinais (MINEO et al., 2001; PLUGGE et al., 2011) e nas infecções transplacentárias, que podem ser observadas concomitantemente (AL-QASSAB et al., 2009), porém a toxoplasmose tem sido muito mais frequente na doenças neuromuscular do que a neosporose. Existe associação significativa entre doenças neuromusculares e a presença de reação frente à sorologia para *T. gondii* (RUÍZ et al., 2012).

2.3.2.2 Diagnóstico laboratorial

As alterações hematológicas são inespecíficas, pode haver leucocitose, leucopenia com linfopenia (DE ABREU et al., 2001), anemia devido a diminuição da concentração de hemoglobina, leucopenia com neutropenia, linfopenia, eosinopenia e monocitopenia (PIMENTA et al., 1993; BRESCIANI et al., 2001; SHAHZAD et al., 2006), elevação das enzimas hepáticas, aumento de aspartato transaminase (AST), bilirrubina direta, indireta e alanina transaminase (ALT), hipoalbuminemia, compatíveis com processo patológico no fígado (YARIM et al., 2007). O aumento no soro de AST e ALT estão relacionadas a função hepática assim como a hipoalbuminemia, a relação albumina e globulina (A/G) é menor nos cães infectados, o aumento de globulina no soro em cães esta relacionado com maiores títulos de imunoglobulina, pelos anticorpos produzidos pelo sistema imunológico em resposta a infecção por *T. gondii* (DUBEY; LAPPIN, 2006; YARIM et al., 2007), que estimula a produção de imunoglobulinas incluindo IgG, IgM, IgA e IgE, tornando útil a eletroforese de proteína do soro no diagnóstico e prognóstico em combinação com os testes sorológicos, clínicos e resultados laboratoriais (YARIM et al., 2007).

Os testes sorológicos assinalam a reação antígeno-anticorpos para a presença de *T. gondii*, apesar dos anticorpos desempenharem papel insuficiente na defesa sistêmica, no entanto é essencial para o diagnóstico da doença (DUBEY; LAPPIN, 2006), a suspeita da doença ocorre na presença de um aumento de quatro a oito vezes no título, o que traduz um título único muito elevado ou observado em amostras séricas tomadas com duas a quatro semanas de intervalo caracterizando soro conversão (DUBEY, 1977). O primeiro teste para o diagnóstico da toxoplasmose humana foi a reação de Sabin-Feldman ou DYE TEST (DT), é confiável tanto na fase aguda como na crônica, esta técnica se baseia na união de anticorpos específicos à superfície dos antígenos de taquizoitos vivos, com subsequente fixação do complemento e tornando o parasito incapaz de reter o azul de metileno, indicando anticorpos no soro pela observação de taquizoitos mal corados ou "fantasmas" (SABIN; FELDMAN, 1948). Fatores limitantes tornaram esta técnica inadequada, pelas dificuldades no desenvolvimento na maioria dos laboratórios de diagnóstico de rotina, pois necessitam de parasitos vivos (JACOBS; LUNDE, 1957; DUBEY, 2010); no entanto é ainda utilizada no diagnóstico da toxoplasmose em animais

devido ao fato de ser sensível e específico e, as reações cruzadas não ocorrerem (OTTEN et al., 1950; QUINN et al., 1976; CHADWICK et al., 2013).

Com a evolução do diagnóstico sorológico, outros testes foram idealizados para a detecção de anticorpos IgG e IgM anti-*T. gondii*, destes, a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), teste imunoenzimático (ELISA) e o teste modificado de aglutinação (MAT) foram modificados para detecção de anticorpos IgM (DUBEY, 2010). Deve-se ter atenção com a detecção de IgM em cães clinicamente saudáveis, pois pode significar infecção ativa assintomática (CABRAL et al., 1998).

Hemaglutinação indireta (HAI), esse teste é simples de se desenvolver e prático, foi desenvolvido com o objetivo de substituir o DT pelas dificuldades inerentes (JACOBS; LUNDE, 1957), o teste é comparável ao teste de imunofluorescência quanto à sensibilidade e à especificidade (CAMARGO et al., 1986), porém o resultado frequentemente negativo em infecções congênitas e nos animais com títulos a baixo de 1:128 não são confiáveis (DUBEY, 2010) em contra partida, títulos maiores que 1:200 são bastantes específicos o que propiciou uma melhora na técnica, para eliminar falsos positivos (CHORDI et al., 1964), uma modificação no teste de aglutinação direta (MAD) melhorou o diagnóstico da toxoplasmose em seres humanos e animais, foram desenvolvidos com o objetivo de melhorar a sensibilidade e especificidade comparáveis ao DT, padrões de aglutinação distintos são observados e o resultado é dado conforme a formação de aglutinação (FULTON; TURK, 1960). A utilização do MAD para triagem e titulação de anticorpos anti-*T. gondii* em soros de animais pode ser aplicada às diferentes espécies animais, com resultados semelhantes aos obtidos na RIFI, prescindindo de reagentes espécie-específicos e equipamentos sofisticados (SILVA et al., 2002).

O teste modificado de aglutinação (MAT), a partir do HAI, foi desenvolvido com o objetivo de melhorar e tornar sua aplicação mais simples. Amplamente utilizado para o diagnóstico da toxoplasmose em animais. O MAT aumentou a especificidade e sensibilidade comparável aquelas do DT, a técnica e a leitura são simples e precisas sendo conveniente para os laboratórios que realizam apenas sorologia ocasionalmente, bem como para aqueles que executam inquéritos em larga escala (DESMONTS; REMINGTON, 1980), esse teste detecta apenas anticorpos IgG e, portanto, pode dar resultados falso-negativos durante os primeiros estágios da infecção aguda (DUBEY; DESMONTS, 1987; DUBEY, 2010). O teste funciona com plasma ou sangue total e possui vantagens, principalmente pelo fato da hemólise não

interferir com o resultado. O MAT foi também modificado para detecção de anticorpos IgM (DUBEY, 2010), no entanto, na detecção de anticorpos em infecção por *T. gondii* em cães pode ser satisfatório para a triagem porém há melhores testes disponíveis (ZHU et al., 2012).

Reação de imunofluorescência indireta (RIFI), ao qual o princípio foi adaptado para utilização no imunodiagnóstico da toxoplasmose (KELEN et al., 1962), é utilizado para diagnóstico e titulação de anticorpos, onde a reação da gamaglobulina de soro imune com *T. gondii* e a gamaglobulina fluorescente de soro anti-espécie a ser testado é específica, é suficientemente sensível para utilização laboratorial de rotina (KELEN et al., 1962). Suas desvantagens são: a necessidade de um microscópio de fluorescência e reação cruzada com fatores reumatóides (FR) e anticorpos antinucleares (ANA) (DUBEY, 2010). Possui larga utilização no diagnóstico de várias doenças, inclusive para a toxoplasmose (GUIMARÃES et al., 2009). As amostras de soro são analisadas para a detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii* (SILVA et al., 1997; RUÍZ et al., 2012) e IgM (PYNDIAH et al., 1979), tornando o diagnóstico mais eficiente, pois há diferenças quanto a forma de adquirir a infecção, consumo de carne e vísceras cruas está associado aos títulos de anticorpos IgG, enquanto que alterações neurológicas estão associadas a ocorrência de anticorpos IgM (BRITO et al., 2002). A RIFI é considerada de boa especificidade e sensibilidade, essa reação tem a vantagem de utilizar parasitos preservados, fixados em lâminas de microscopia, o que é prático e seguro para a rotina laboratorial. O teste da RIFI é recomendado para utilização no imunodiagnóstico da toxoplasmose, quer como um único teste, ou na combinação de testes sorológicos e com ênfase na determinação dos títulos e as classes de anticorpos específicos (KELEN et al., 1962; SILVA et al., 1997), ainda possui a facilidade de utilizar como material alternativo o plasma para pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* (NAVARRO et al., 1997).

O teste de aglutinação em látex (AL) utiliza partículas de látex sensibilizados com antígeno solúvel e o padrão de aglutinação é observado quando o soro a ser testado é adicionado. O teste AL é de fácil execução, porém sua sensibilidade para os soros de animais precisa ser melhorado (BALFOUR et al., 1982; DUBEY, 2010; NGUYEN et al., 2012), frente ao DT, possui 96,6% de concordância além de ter a praticidade de estar disponível comercialmente (BALFOUR et al., 1982; NGUYEN et al., 2012; ARUNVIPAS et al., 2013).

O teste de fixação de complemento (FC), onde os anticorpos fixadores de complementos aparecem mais tarde do que os anticorpos observados no DT, é positivo durante a infecção aguda,

depende da preparação antigénica, não é um teste de escolha por causa de procedimentos complexos e falta de padronização do antígeno e dos reagentes, os anticorpos testados aparecem mais tardiamente que em outras reações, nos cães os soros dos animais positivos são desprovidos de fixação de complemento e anticorpos neutralizantes (SABIN; WARREN, 1942).

A introdução do Ensaio Imunoenzimático (ELISA) para anticorpos IgG e IgM trouxe um grande avanço para o diagnóstico da doença, porém a possibilidade de resultados falso-positivos para IgM em pacientes portadores do fator reumatoide e anticorpos antinucleares são limitadores na utilização da técnica (CAMARGO et al., 1977). No teste ELISA, o antígeno solúvel é absorvido numa superfície de plástico (placas de microtitulações ou slides) e a reação antígeno-anticorpo é evidenciada pela adição de uma enzima ligada ao anticorpo, e a reação pode ser objetivamente avaliada por quantificação da cor que resulta, pode ser automatizado, de modo a um grande número de soros poderem ser examinados rapidamente, no entanto, requerem um leitor de ELISA para quantificar a cor da reação (DUBEY, 2010). Em ELISA-IgM, os poços de placas de microtitulação são revestidos com anticorpos IgM e, em seguida, é adicionado antígeno de *T. gondii*, usando uma enzima conjugada com anti-soro contra *T. gondii*, a presença do complexo entre anticorpos anti-*T. gondii* IgM e *T. gondii* antígeno é detectada sob a forma de uma reação de cor, a possibilidade de marcação direta do antígeno com a enzima, agiliza a técnica e subtrai a necessidade da utilização de conjugados de antígeno e anti-antígeno, o antígeno de *T. gondii* é conjugado à enzima, em vez do anti-soro (FRANCO et al., 1981). Na padronização do ELISA-teste indireto, este se mostrou confiável no diagnóstico da toxoplasmose canina (DOMINGUES et al., 1998).

O ELISA IgG padronizado é indicado nos processos de triagem sorológica, sendo a ELISA-IgM desaconselhável, uma vez que apresentou pouca confiabilidade (UCHÔA, et al., 1999). Com a idealização do teste IgM-ISAGA, onde este é mais sensível e específico, principalmente para detecção de anticorpos IgM anti-*T. gondii*, consequentemente para o diagnóstico de infecções congênitas e adquiridas agudas eliminando a interferência de IgG, e do fator reumatóide, presentes no ELISA (NAOT; REMINGTON, 1980; DESMONTS et al., 1981).

O teste western blotting (WB) pode ser utilizado como ajuda para os testes sorológicos convencionais descritos anteriormente. Neste método, a transferência por eletroforese de proteína a partir de géis de poli-acrilamida migra para folhas de nitrocelulose, isso resulta em transferência quantitativa de proteínas permitindo análise de uma grande variedade de proteínas, onde o soro a

ser testado reage com os antígenos de *T. gondii* na membrana, onde ocorre a migração e marcação conforme seu peso molecular e os padrões de bandas resultantes são comparados com controles de peso molecular conhecido (LAEMMLI, 1970; TOWBIN et al., 1979; FLAUSINO et al., 1998). É importante sua utilização em cães com sintomatologia compatível com a toxoplasmose, desde que sejam observados resultados conflitantes entre os testes sorológicos comumente utilizados, pode ser utilizado como um terceiro teste diferencial de diagnóstico, embora não se apresente com 100% de segurança (FRESCHI et al., 2005).

2.3.2.3 Histopatológico

O exame histopatológico (HI) para diagnóstico da toxoplasmose deve estar associado a outros testes, pois como único exame diagnóstico é limitado, o parasito se confunde com as células teciduais e outros parasitos após os fragmentos serem fixados em formol e corados com hematoxilina-eosina (FAYER; DUBEY, 1985). A sorologia deve ser utilizada com a observação de soro conversão (GREENE et al., 1985), Na técnica de imuno-histoquímica utilizada nos tecidos fixados em formalina e corados no complexo de imunoperoxidase, o parasita ou seus antígenos, podem ser evidenciados.

Quando se associa a histopatologia a reação antígeno-anticorpo, a técnica de imunohistoquímica é proposta, onde tecidos fixados em formalina, embebidos em parafina são corados com um complexo e imunoperoxidase. O parasito ou seus antígenos podem ser evidenciados em cortes de tecidos por imunohistoquímica, utilizando-se anticorpos específicos e coloração imunofluorescente ou imunoenzimática. Métodos de diagnóstico imunohistoquímico são específicos e resultam do desenvolvimento do método da peroxidase-antiperoxidase (STERNBERGER et al., 1970) e modificado para detectar *Neospora caninum*, onde o anti-soro específico para *N caninum* é utilizado. O teste detectou taquizoítos e bradizoítos de *N caninum*. A reação não foi observada para *T. gondii*, *Hammondia hammondi* e *Sarcocystis cruzi*, porém quando o anti-*T gondii* de coelho foi utilizado no ensaio, a reação de *N caninum* não foi observada permitindo a partir daí um aperfeiçoamento da técnica para o diagnóstico da toxoplasmose (LINDSAY; DUBEY, 1989).

Essa técnica vem sendo usada no diagnóstico de diversos agentes infecciosos, particularmente de *T. gondii*, modificações introduzidas permitiram utilização da técnica imunoenzimática da avidina-biotina para a detecção de cistos de *T. gondii* em canídeos (DUBEY; LIN, 1994). A IH pode ser utilizada para distinguir taquizoítos de bradizoítos e através de anticorpo produzido em coelhos contra antígeno de *T. gondii* (MCALLISTER et al., 1996), permitem a visualização de cistos de *T. gondii* em cães (GIRALDI et al., 2002), este anticorpo é fase, mas não parasito específico, pois não reage com taquizoítos mas com bradizoítos de *T. gondii*, *N. caninum*, espécies do gênero *Besnoitia*, e de espécies do gênero *Sarcocystis* (DUBEY, 2010), favorecendo desta maneira a possibilidade de reação cruzada (ANFRAY et al., 2005).

2.3.2.4 Biologia molecular

A reação de cadeia da polimerase (PCR) tendo o polimorfismo de comprimento dos fragmentos de DNA gerados por enzimas de restrição (RFLP) uma evolução das técnicas de PCR, em que os organismos podem ser diferenciados pela análise de padrões derivados da clivagem do seu DNA. Se dois organismos diferirem na distância entre os sítios de clivagem de uma endonuclease de restrição, o comprimento dos fragmentos produzidos vai diferir quando o DNA for digerido com uma enzima de restrição. Estudos sobre o genoma de *T. gondii* tornara-se possível à utilização da técnica para o diagnóstico da toxoplasmose, o ensaio da PCR é uma técnica utilizada em testes clínicos para detecção de alterações genéticas ou infecções por diferentes agentes etiológicos (ELLIS, 1998). Há várias formas e técnicas para a utilização da reação em cadeia da polimerase (PCR) com a detecção do parasito através de um antígeno de superfície, amostras de sangue testadas pela PCR, amplificando-se segmentos dos genes B1 e P30 de *T. gondii*, mostraram o potencial para o diagnóstico da toxoplasmose em seres humanos e animais, principalmente com base no gene B1, o gene P30 ou DNA ribossomal (BOOTHROYD et al., 1998, ELLIS et al., 1998). O gene B1, que se encontra repetido em 35 cópias no genoma do parasito e pode ser detectado em fluidos corporais e tecidos, demonstrando ter uma natureza repetitiva no genoma produzindo uma elevada sensibilidade da PCR na detecção de apenas um parasito presente no material celular usando o gene B1 como alvo de amplificação (BURG et al., 1989). Estudos demonstram a capacidade da PCR de amplificar fragmentos específicos de DNA

a partir de fluidos corporais diferentes, tais como sangue, líquido amniótico, liquor, humor aquoso, fluido de lavado bronco-alveolar e até urina (KHALIFA et al., 1994; SCHATZBERG et al., 2003; ANFRAY et al., 2005; DEROUIN; PELLOUX 2008; AL-QASSAB et al., 2009; ARANTES et al. 2009; DORA et al., 2009; HEADLEY et al. 2013). O diagnóstico pela PCR para a toxoplasmose ainda apresenta fatores que afetam a sensibilidade e a especificidade como a sequência alvo no DNA do parasito, pares de iniciadores de amplificação utilizados, condições de armazenamento das amostras e dos reagentes e o uso de drogas anti-*T. gondii*. Vários casos de resultados positivos de PCR em pacientes assintomáticos são referidos e se desconhece o valor preditivo positivo do teste (KOMPALIC-CRISTO, et al., 2005). A análise do sangue por PCR pode ser válida em casos de toxoplasmose extracerebral, devido à natureza disseminada da doença, como a maioria dos casos de toxoplasmose cerebral é resultado da reativação de cistos cerebrais latentes, detecção do parasito por PCR é útil apenas em casos associados à infecção cerebral grave ou disseminação desse agente etiológico (KHALIFA et al., 1994).

2.3.2.5 Teste biológico

O objetivo do teste é reproduzir a infecção em animais de laboratório, tornar visível as lesões características e proporcionar o isolamento com diagnóstico definitivo, com isso complementar com outro método de diagnóstico, principalmente pela sorologia, onde em camundongos a sensibilidade e especificidade do MAD são demonstradas (BOTTIN et al., 2009). Tecidos de animais soropositivos podem ser digeridos por tripsina e pepsina e depois inoculados em animais (DA SILVA, et al., 2001). Dentre os animais utilizados para o teste, destacam-se hamsters, cobaias, camundongos coelhos, cães e gatos (LINDSAY et al., 1997; BRESCIANI et al., 2001; DE ABREU et al., 2001; DE ABREU et al, 2002; DUBEY et al., 2007; ARANTES et al., 2009; AL-QASSAB et al., 2009). A inoculação em camundongo utiliza o sangue do paciente, de preferência a camada leucocitária, ou sedimento do centrifugado de líquido cefalorraquiano, líquido amniótico, lavado brônquico-alveolar, suspensões de triturados de biópsia ou de placenta, que são inoculados via intraperitoneal de preferência em camundongos, porém há limitações para o isolamento, principalmente quando há lesões onde há dificuldade para coleta (FRENKEL; JACOBS, 1958).

2.3.3 Tratamento

O objetivo do tratamento é o controle dos sinais clínicos, reduzindo o desenvolvimento das formas proliferativas (taquizoítos), assegurando que a infecção seja tratada corretamente, e para tanto é fundamental identificar e gerenciar todas as condições propícias ou doenças concomitantes que permitiram a evolução da doença. A taxa de mortalidade na toxoplasmose é elevada, maior em neonatos e nos animais com imunossupressão e a escolha da droga a ser utilizada é baseada nas barreiras biológicas do organismo (BIRCHARD; SHERDING, 2003), o tratamento pode ser comprometido devido a vários fatores, entre eles a sensibilidade, a distribuição do fármaco até ao local da infecção e as condições dos tecidos circundantes à infecção (MADDISON, 2009). A distribuição das drogas utilizadas é reconhecida como fator limitante, para ser efetivo, deve atingir o local da infecção em concentrações e por tempo adequado; entrando, em contato com as formas de *T. gondii*, o que pode não acontecer, por exemplo, em locais com a vascularização comprometida. O ambiente circundante à infecção é bastante importante porque, alterações produzidas pelo próprio parasito como edema ou necrose, pode ser uma restrição no acesso da droga utilizada, limitando assim o efeito (MADDISON, 2009). Os sinais clínicos que não envolvam os olhos ou o sistema nervoso geralmente respondem ao tratamento e a melhora clínica é observada no segundo ou terceiro dia de tratamento, lesões oculares e neurológicas tendem a responder mais lentamente. Em casos de toxoplasmose pulmonar e hepática o prognóstico é geralmente ruim, particularmente em animais imunossuprimidos (HARTMANN et al., 2013), portanto, em caso de suspeita clínica é importante a administração oportuna de antibióticos empíricos até o diagnóstico, quando possível da toxoplasmose (VAUGHAN; WENZEL, 2013). Toxoplasmose deve ser considerada como um diagnóstico diferencial para a doença ocular canina e pode se manifestar de forma bilateral (SWINGER et al., 2009) ainda mais quando ocorrer histórico de medicações imunossupressoras (GREENE et al., 1985), estas devem ser utilizadas após testes sorológico para *T. gondii* antes da utilização de drogas que são inibidores potentes da imunidade mediadas por células, tais como a ciclosporina (BARRS et al., 2006). Infecções oculares localizadas respondem melhor a terapia, ao contrário das sistêmicas, cerca de 40% dos animais com toxoplasmose generalizada morrem devido a doença, mesmo sob tratamento, assim o prognóstico é reservado (BIRCHARD; SHERDING, 2003).

O tratamento da toxoplasmose canina se restringe a antibióticos, clindamicina, associações de sulfas com trimetoprim, azitromicina, espiramicina, enrofloxacina (GREENE et al., 1985; HACKER et al., 1998; ROTHOVA et al., 1998; BIRCHARD; SHERDING, 2003; TARLOW et al., 2005; DUBEY et al., 2009; PETERSON; KUTZLER, 2011; BARBOSA et al., 2012; HOFFMANN et al., 2012; HARTMANN et al., 2013), a utilização de clindamicina e sulfonamidas com ou sem associação com trimetoprim são mais comumente utilizadas (PETERSON; KUTZLER, 2011).

A primeira droga efetiva para o tratamento da toxoplasmose foi a sulfatiazol, (SABIN; WARREN, 1942), porém é uma droga que causa efeitos adversos, toxicidades a sulfonamida ocorrem em seres humanos e cães, com consideráveis semelhanças clínicas (TREPANIER, 2004), nos cães pode se manifestar por febre, artropatia, discrasias sanguíneas (neutropenia, trombocitopenia ou anemia hemolítica), hepatopatia, erupções na pele, uveítes, ou ceratoconjuntivite seca, efeitos menos frequentes incluem nefropatia, meningite, pancreatite, paralisia do nervo facial (MORGAN; BACHRACH, 1982; TWEDT, et al., 1997; TREPANIER, 2004; DUBEY 2010; RAMSEY, 2011). A patogênese dessas reações não é completamente compreendida, mas pode ser devido a uma resposta celular aos metabólitos das sulfonamidas (TWEDT, et al., 1997; TREPANIER, 2004) e são extensivas as sulfonamidas, tais como sulfametoxazol, sulfadiazina e sulfadimetoxina, sendo as duas primeiras utilizadas mais frequentemente e todas compartilham estas reações adversas (TREPANIER, 2004). Nas necroses hepáticas, o baixo número de cães afetados sugere uma reação individual a droga (TWEDT et al., 1997). Associações são descritas as sulfonamidas, o trimetoprim tem sido utilizados com mais frequência para o tratamento da toxoplasmose nos cães (DUBEY et al., 2009), principalmente na vigência de co-infecção em cães por *T. gondii* e pelo vírus da cinomose, ou na impossibilidade de estabelecer-se o diagnóstico diferencial entre estas enfermidades, recomenda-se a terapia com sulfas associados ao trimetoprim. A farmacocinética destas drogas propiciam níveis terapêuticos nos tecidos sujeitos à infecção bacteriana decorrente da cinomose e também no sistema nervoso central (SNC), devendo-se utilizar a associação com objetivo de obtenção de amplo espectro antibacteriano e adicional combate a toxoplasmose (MORETTI et al., 2002). Associações com a sulfadimetoxina e pirimetamina também é bem sucedida, são drogas amplamente utilizadas para a terapia da toxoplasmose (DUBEY, 2010). Estas duas drogas atuam sinergicamente através do bloqueio da via metabólica envolvendo ácido p-aminobenzóico e do ciclo de ácido fólico-

folínico, por esse motivo é importante à prescrição de ácido fólico associado ao tratamento (DUBEY, 2010; NUNURA et al., 2010; RAMSEY, 2011). A dose de sulfonamida, seja o sulfametoxazol ou a sulfadiazina, ambas podem estar associadas ao trimetoprim, a dose de escolha é 15 mg/kg a cada 12 horas durante 28 dias (BIRCHARD; SHERDING, 2003; DUBEY et al., 2009; RAMSEY, 2011). Estas drogas devem ser utilizadas na fase aguda da doença, quando da multiplicação ativa do parasita, pois possuem pouco efeito na infecção subclínica, nestes casos, a sulfadimetoxina (pirimetamina) pode ser utilizada, doses maiores devem ser escolhidas para o tratamento, iniciando com 1 mg/kg a cada 24 horas durante três dias, com o desaparecimento dos sinais clínicos, normalmente no quarto dia, essas doses devem passar para 0,5 mg/kg, geralmente durante várias semanas ou meses, não devem ser administradas para cadelas prenhas ou lactantes (DUBEY, 2010; RAMSEY, 2011). Pirimetamina é tóxica, alguns autores utilizam uma combinação de trimetoprim e sulfametoxazol como alternativas possíveis para pirimetamina e sulfadiazina. Embora trimetoprim, como pirimetamina, é um antagonista de ácido fólico, não tem nenhum efeito sinérgico em combinação com sulfametoxazol contra a toxoplasmose (DUBEY, 2010).

A descoberta da clindamicina como droga anti-toxoplasmática foi de fundamental importância como mais uma alternativa, especialmente em pacientes alérgicos as sulfonamidas. A clindamicina tem sido utilizada com sucesso para o tratamento de uma variedade de manifestações clínicas, incluindo febre, miosite, uveíte e sinais neurológicos associado à toxoplasmose, com lesões generalizadas que desenvolvem sinais pulmonares e neurológicos (GREENE et al., 1985; TARLOW et al., 2005; DUBEY, 2008; DUBEY et al., 2009; RAMSEY, 2011; HOFFMANN et al., 2012), inclusive em situações onde as sulfonamidas e associações não foram capaz de propiciar uma melhora clínica (GREENE et al., 1985). Os principais problemas associados à clindamicina inclui a irritação gastrointestinal, em alguns animais ocorre diarreia, vômito (DUBEY et al., 2009; RAMSEY, 2011). Clindamicina é a droga de eleição para tratar a toxoplasmose clínica, especialmente recomendada para fêmeas prenhas e aqueles que desenvolvem reações adversas as sulfas, as doses podem variar de 10 a 20 mg/kg duas vezes ao dia, a resposta clínica ao tratamento dependente de um sistema imune competente (PETERSON; KUTZLER, 2011; HARTMANN et al., 2013) outras doses também podem ser utilizadas, 12,5mg/kg a cada 12 horas durante 28 dias (BIRCHARD; SHERDING, 2003), 5,5 mg/kg a cada 12 horas ou 11 mg/kg a cada 24 horas (RAMSEY, 2011) ou ainda 11 mg/kg a cada 12 ou 24

horas (BECO et al., 2013). Cães com doença do SNC vão exigir cuidados de suporte e tratamento específico, assim como lesões oculares. As dose de clindamicina podem variar de 3 a 13 mg/kg a cada 8 horas durante prazo mínimo de 28 dias ou quatro semanas, associações de sulfonamidas com trimetoprim na dose de 15 mg/kg, a cada 12 horas durante 28 dias (DUBEY et al., 2009). Um melhor perfil farmacocinético pode ser esperado quando a clindamicina é administrado a 11 mg/kg, cada 24 horas (SARIDOMICHELAKIS et al., 2011).

A azitromicina tem sido utilizada com sucesso, na dose de 10 mg/kg, a cada 24 horas no mínimo de 28 dias (DUBEY et al., 2009). Não foram observados efeitos colaterais com a azitromicina, portanto pode ser uma alternativa eficaz para tratamento principalmente da toxoplasmose ocular, em pacientes que tiverem reações adversas aos protocolos e drogas mais frequentemente utilizadas (ROTHOVA et al., 1998), variações da terapia são observadas, na dose 10mg/kg a cada 12 horas durante sete dias. Nos casos de complicações como uveíte, causadas por *T. gondii*, terapia concomitante deve ser utilizada, colírio de prednisona 1% em intervalos de 6 a 8 horas, durante duas semanas ou conforme acompanhamento (BIRCHARD; SHERDING, 2003; BECO et al., 2013). Outros protocolos são orientados, 5 a 10mg/kg a cada 24 horas, após três a cinco dias pode-se aumentar o intervalo da dose para cada 48 horas, o que é uma facilidade a mais na administração para cães (RAMSEY, 2011), pois esta droga é rapidamente distribuída para os tecidos ondem atingem concentrações elevadas dentro de 24 horas após uma única dose e as concentrações nos tecido são proporcionais à dose quando da administração única de 10 a 40 mg/kg em cães (SHEPARD; FALKNER, 1990), inclusive no SNC, onde a azitromicina atinge concentrações ativas (ARAUJO et al., 1988). Associações da azitromicina com atovaquone, droga reconhecida por eliminar cistos toxoplasmáticos em tecidos (DUBEY 2010) deve ser analisada na hora da escolha terapêutica, o atovaquone sozinho reduziu significativamente o número de cistos de *T. gondii* após a doença aguda, assim como reduziu o número de cistos em doença crônica (GORMLEY et al., 1998), portanto a associação e a terapia combinada com atovaquone e azitromicina é possível para tratamento desse protozoário em cães, atovaquone na dose de 13,3 mg/kg a cada 8 horas e azitromicina nas doses de 10 a 12,5 mg/kg a cada 24 horas, durante 10 dias (DI CICCIO et al., 2012).

A antibioticoterapia com espiramicina no período neonatal em humanos é utilizada, porém não há estudos efetivos em cães e nem indicação para tratamento dessa etiologia em cães (RAMSEY, 2011), o tratamento das manifestações oculares da toxoplasmose em humanos pode

se utilizar a espiamicina, alternativa à sulfadiazina e pirimetamina, especialmente indicado durante a gravidez e no período de amamentação (HACKER et al., 1998). A dose em cães pode variar de 23,4 mg/kg a cada 24 horas para infecções bacterianas (RAMSEY, 2011) ao dobro da dose para controle antiprotozoário (PENNISI et al., 2005), porém em humanos leva a alterações cardíacas no neonato com risco de morte (STRAMBA-BADIALE et al., 1997).

A primeira das fluorquinolonas, que tem como característica uma molécula de flúor na posição 6 do núcleo de base de quinolona, aprovada para uso em animais foi a enrofloxacin, em 1980 (MARTINEZ et al., 2006), são bem absorvidos no trato gastrointestinal e quase completamente absorvida a partir dos locais de injeção parenteral, com distribuição para vários tecidos do corpo (BROWN, 1996).

Experimentos *in vivo* demonstraram que a enrofloxacin diminuiu significativamente o parasitismo de tecido por *T. gondii*, bem como as alterações inflamatórias no cérebro dos animais infectados com *T. gondii* (BARBOSA et al., 2012). A dose terapêutica de enrofloxacin em cães é de 5mg/kg a cada 24 horas, ou 2,5 mg/kg a cada 12 horas (RAMSEY, 2011), a administração intra venosa da enrofloxacin não está autorizada, porém é uma via de administração possível de utilização em casos graves de infecção (RAMSEY, 2011), doses maiores podem ser utilizadas, 5 a 20 mg/kg a cada 24 horas (BECO et al., 2013). A principal toxicidade observada com doses terapêuticas envolve o sistema gastrintestinal e fototoxicidade, embora em doses mais elevadas sejam observadas a toxicidade do sistema nervoso central e cataratas oculares, assim como a administração a cães em crescimento é contra indicada, pois podem resultar em lesões nas cartilagens articulares (BROWN, 1996; RAMSEY, 2011), esse efeito adverso limita a sua utilização em neonatos e cães jovens (RAMSEY, 2011).

2.4 EPIDEMIOLOGIA

Animais de estimação cada vez mais interagem com seus proprietários e outros animais de companhia, ocupam importante presença em domicílios, servem como fonte de alegria e companheirismo para seus proprietários, porém em contra partida, vem com os riscos inerentes, como transmissores de doenças para seus donos e outros animais domésticos (KRAVETZ; FEDERMAN, 2002). Principais vias de transmissão são inerentes a populações humanas com

diferentes hábitos culturais e alimentares (TENTER et al., 2000), principalmente em regiões do mundo onde a carne canina é consumida pelo homem como alimento (DUBEY et al., 2007) e onde coexistam no mesmo habitat com gatos (DA ROCHA et al., 2012; FERREIRA et al., 2013). As avaliações retrospectiva da infecção em amostras de soro de cães confirmam a dispersão de *T. gondii* no ambiente, demonstrando o papel do cão como animal sentinela para a toxoplasmose e a importância do monitoramento nas ações de saúde pública para o controle desta zoonose (VARANDAS et al., 2001; ULLMANN et al., 2008), reações positivas foram mais frequentes nos animais mais velhos, do sexo masculino, de um ambiente rural, em constante contato com pequenos animais, principalmente aves e roedores. Houve uma maior frequência de reação positiva em cães alimentados com comida caseira, especialmente naqueles alimentados com ingredientes crus (BRITO et al., 2002) não existem dados sobre a importância de diferentes hospedeiros intermediários como fontes de infecção para os cães, análise multivariada dos fatores de risco revelaram que consumo de carne e vísceras cruas está associado aos títulos de anticorpos IgG, enquanto que alterações neurológicas estão associadas a ocorrência de anticorpos IgM (BRITO et al., 2002).

As condições ambientais podem determinar o grau de propagação natural da infecção por *T. gondii*. A infecção é mais comum em climas quentes e em áreas próximo ao nível do mar do que em climas frios e nas regiões montanhosas e em áreas úmidas do que em áreas secas, isto é provavelmente relacionada com as condições que favorecem a sobrevivência e a esporulação dos oocistos no ambiente, a epidemiologia da infecção canina por *T. gondii* é desconhecido, sabe-se, no entanto, que são indicadores de contaminação do meio ambiente, devido à estreita relação com humanos (DUBEY, 2010). Maior prevalência de *T. gondii* em cães errantes do que em animais de fazenda indica que a ingestão de presas infectadas e alimentos contaminados sejam uma importante fonte de infecção (SOUZA et al., 2003) aumentando a importância do cão na correlação entre cão, humanos e a toxoplasmose, pois é fator de risco para a infecção humana, onde é observado pelo menos um cão infectado no domicílio onde há humanos soro reagentes e a importância como sentinela para esta infecção (ARAÚJO et al., 2011), a importância da toxoplasmose na espécie canina é apontar prováveis fontes comuns de infecção entre cães e humanos, confirmando o risco para a saúde pública (BRITO et al., 2002).

Os cães são considerados risco potencial para a transmissão de *T. gondii*, pois podem mecanicamente transmitir oocistos para as pessoas e outros animais, inclusive ao próprio cão,

carreando oocistos nos pelos e pele e através da xenosmofilia oferece riscos a animais e humanos (FRENKEL; PARKER, 1996; LINDSAY et al., 1997; DA ROCHA et al., 2012), além de eliminarem através de urina, saliva, sêmen e leite, *T. gondii* e propiciando contaminação do ambiente, homem, cadela e suas ninhadas, disseminando a toxoplasmose (BRESCIANI et al., 2001; ARANTES et al., 2009). A infecção por *T. gondii* está associado à ingestão de carne crua ou mal cozida, fator de risco para a população de cães e humanos, especialmente indivíduos imunocomprometidos e fêmeas grávidas, faz necessário como medidas de proteção cozinhar a carne e hábitos de higiene na rotina dos proprietários, principalmente a inclusão de lavar as mãos após contato com cães, fezes de cães, jardinagem, contato com o solo, antes da ingestão de alimentos, medidas necessárias para evitar a infecção de *T. gondii* (FRENKEL et al., 1995; DA SILVA et al., 2010), e a importância da alimentação, fator importante na epidemiologia, cães alimentados com carne crua tem prevalência relativamente alta de toxoplasmose do que cães alimentados com ração comercial (SHAHZAD et al., 2006).

Dentre os testes que mediram a prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* pode-se verificar que em regiões rurais ou mesmo em regiões urbanas onde a presença de áreas abertas como quintais e a frequente ida dos animais a rua foram fatores importantes na disseminação deste agente etiológico entre os cães examinados (Quadro 1), onde as maiores prevalências observadas estiveram relacionadas aos animais que tiveram a facilidade de irem a rua. Dos testes de diagnóstico utilizados, 61,7% deles foram realizados pela RIFI, seguidos de HAI com 13,6; MAT com 11,1; ELISA com 6,1; SF com 4,9; LA 1,2 e IB 1.2%. Considerando assim como teste de rotina o da RIFI para a determinação de cães portadores de *T. gondii* no Brasil.

2.5 DOENÇAS CONCOMITANTES NO CÃO

Os cães estão integrados a sociedade humana e interagem de diversas formas, principalmente na utilização destes pela própria sociedade como animais de companhia, participando da família, porém desenvolvem outras funções como na função de cães-guia para cegos, aos deficientes auditivos, no trabalho policial na apreensão de drogas, como terapêutica, utilizando para tratar uma ampla variedade de problemas psicológicos e diversas outras funções.

A sociedade reconhece a importância destes animais e continuamente os fazem úteis inclusive como no uso terapêutico em ambientes educacionais, onde melhora a motivação e a atenção das crianças (FINE, 2010), isso exige uma atuação competente da medicina veterinária de cães fomentando e fazendo com que a clínica veterinária evolua permitindo aos médicos veterinários maior eficácia no diagnóstico através da melhora nos recursos de exames complementares, terapias, técnicas cirúrgicas, dietas nutricionais e associados ao número de proprietários e responsáveis que desejam tratar de seus cães, esses recursos permitem que cães tenham uma média de idade ao óbito acima de 11 anos de idade, com a grande maioria dos cães com acompanhamento profissional atingindo os 14 anos de idade e uma menor proporção chegando aos 15 anos, em algumas raças essa média pode ser maior (LOWSETH et al., 1990; GOLDSTON; HOSKINS, 1999; BENTUBO et al., 2007; ADAMS et al., 2010; DANK et al., 2012), nas últimas estatísticas se confirmou que cães de raças pequenas vivem mais que de raças grandes e gigantes, apenas 13% dos cães de raças gigantes vivem mais que 10 anos de idade e 2% vivem mais que 15 anos, em contra partida 38% dos cães de raças pequenas vivem mais que 10 anos e 7% vivem mais que 15 anos, são considerados velhos os cães abaixo de 9 kg quando atingem 11,5 anos, de 9,5 a 22,5 kg com 10,9 anos, 23 a 40,5 kg quando atingem 8,85 anos e os cães acima de 40,5 kg a partir de 7,46 anos (GOLDSTON; HOSKINS, 1999; BENTUBO et al., 2007; AGUIAR, 2012) e a partir desses dados, protocolos específicos são instituídos na profilaxia e controle das doenças nos cães, com uma observação da evolução nas últimas décadas onde o diagnóstico post-mortem, diferia do diagnóstico clínico em cerca 1/3 (KENT et al., 2004) ao longo dos anos ocorreu uma melhora no diagnóstico, com essa diferença se reduzindo para 1/5 (DANK et al., 2012), assim como uma melhor atuação do médico veterinário clínico geral, que acompanha e dá atenção primária, e se torna cada vez mais importante para coordenar, orientar e gerenciar o cuidado com uma visão generalista. O objetivo final é oferecer bem-estar com melhoria na qualidade de vida e com isso promovendo uma maior longevidade, permitindo detecção, tratamento ou controle de doenças, refletindo em economia nas despesas de saúde em longo prazo (GOLDSTON; HOSKINS, 1999; BARTGES et al., 2012).

Diversas patologias acometem os cães, deve-se ter atenção no histórico, na epidemiologia, nas afecções que são possíveis de acometer a espécie e a faixa etária, assim como as raças, sendo o diagnóstico baseado nas manifestações clínicas das enfermidades, suas interpretações

associadas ao exame clínico propriamente dito e a dificuldade pelos várias agentes etiológicos que podem causar doença no cão, inclusive concomitantemente, principalmente em pacientes geriátricos, o que exige múltiplos diagnósticos (GOLDSTON; HOSKINS, 1999; GOUGH, 2007). Em decorrência da melhora no atendimento médico veterinário, especificamente de cães, uma alteração no panorama epidemiológico é notada quanto à morbidade e mortalidade, em parte, é dependente das condições socioeconômicas da população, porém no geral a expectativa de vida é maior, a melhoria desses aspectos que englobam técnico e sócio econômico tem como consequência uma tendência na redução da incidência de doenças infectocontagiosas, altamente prevalentes em filhotes, e aumento na frequência de outras doenças associadas à senilidade (BONNETT et al., 1997).

A distribuição das doenças que acometem os cães, independente da idade, raça e sexo em ordem decrescente de frequência: infectoparasitárias, dentre essas, a cinomose, parvovirose e verminose intestinal foram as mais prevalentes. As neoplásicas, distúrbios causados por agentes físicos e traumas, doenças degenerativas, intoxicações, doenças metabólicas e endocrinológicas, distúrbios do desenvolvimento, doenças imunomediadas e doenças nutricionais (BENTUBO et al., 2007; FIGHERA et al., 2008a; TRAPP et al., 2010).

As principais causas de morte em filhotes são as doenças infectoparasitárias, principalmente parvovirose, cinomose e parasitos gastrintestinais, podendo inclusive estar associadas, a infecção pelo parvo vírus associada ou não a infecção pelo coronavírus, sendo responsável por óbito na maioria dos cães com até dez meses de idade (NORRIS et al., 2006; DEZENGRINI et al., 2007; SILVA et al., 2007a; FIGHERA et al., 2008; TRAPP et al., 2010; FLEMING et al., 2011; LEAL et al., 2011b) as ocorridas por distúrbios causados por agentes físicos e traumas, principalmente pelo atropelamento automotivo, foram mais frequentes em adultos e as consequentes de neoplasias foram mais frequentes em idosos (TRAPP et al., 2010).

Quadro 1. Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em cães no Brasil

Estado/Cidade	Teste	Número de amostras	% de positivos	Ponto de corte	Número com titulação final de:					Referências
					2 - 8	16	32	64	128	
Amazonas:										
Manaus	HAI		68,43							Ferraroni e Marzochi, 1978
Manaus	HAI	19	63,0	64						Ferraroni et al., 1980
Pará:										
Santarém	RIFI	129	69,8	16	≥					Valadas et al., 2010
Goiás:										
Goiânia	SF		57,1							Fernandes e Barbosa, 1972
Bahia:										
Salvador	RIFI	225	63,55	16						Barbosa et al., 2003
Ilhéus (CCZ)	HAI	130	41,0	16	54					Pellizzoni et al., 2009
Ilhéus-Itabuna	HAI	529	36,5	16	94	37		62		Carlos et al., 2010
Paraná:										
Paraná	SF		51,3							Giovanoni, 1958
Paraná			45,7							Reis et al., 2004
Londrina (UEL-HV)	RIFI	254	76,0	16	40	44		109		Freire et al., 1992
Londrina	RIFI	312	23,40	16	27	27		19		Navarro et al., 1997
Jaguapitã	RIFI	189	84,1	16	50	61		48		Garcia et al., 1999
	RIFI		61,9							Souza et al., 2001
Urbana	RIFI		46,28							Carleti et al., 2002
Rural	RIFI		68,96							Carleti et al., 2002
	MAT		21,3							Souza et al., 2003
	RIFI		45,73							Reis et al., 2004
Guarapuava	RIFI	24	20,8	16		1		4		Romanelli et al., 2007
	MAT	134	34,30	25	28	17	1			De Sousa et al., 2003
Curitiba (metropolitana)	RIFI	147	58,1	≥50	17					Plugge et al., 2011
Umuarama	MAT	540	8,1	64						da Silva et al., 2009

Continua

Quadro 1. Prevalência de cães soropositivos no Brasil (Continuação)

Cidade/Estado	Teste	Número de amostras	% de positivos	Ponto de corte	Número com titulação final de:					Referências
					2 - 8	16	32	64	128	
Pernambuco:										
Sertão	RIFI	170	57,6	64			98			Figueiredo et al., 2008
Fernando de Noronha	RIFI	31	38,7	16						Costa et al., (2012)
Fernando de Noronha	MAT	60	40,0	25						Costa et al., (2012)
Paraíba:										
Campina Grande	RIFI	286	45,10	16	16	23	40	28	22	Ragozo et al., 2004 Azevedo et al., 2005
Piauí:										
Terezina	RIFI	530	18,0	16						Lopes et al. (2011)
Minas Gerais:										
Belo Horizonte	RIFI	243	47,3	16	1		3		4	Guimarães et al., 1992
	HAI		52,7							Duran et al., 1997
Uberlândia	HAI	40	22,5	64			1	2	6	Silva et al., 1997
Uberlândia	RIFI	300	36,7	16						Silva et al., 2007
Uberlândia	ELISA		35,0							Silva et al., 1997
Uberlândia	RIFI	212	59,9	16	25	17	16	26	43	Silva et al., 2002
Belo Horizonte	RIFI	22	40,9	16	1		3		11	Brandão et al., 2006.
Lavras	RIFI	300	60,5	16	≥182					Guimarães et al., 2009
Uberlândia	ELISA	369	30,3	NS			112			Mineo et al., 2004
Uberlândia	RIFI	218	52,7	64			115			Cabral et al., 1998.
	RIFI		62,2							Rosado et al., 2004

Continua

Quadro 1. Prevalência de cães soropositivos no Brasil (Continuação)

Cidade/Estado	Teste	Número de amostras	% de positivos	Ponto de corte	Número com titulação final de:					Referências
					2 - 8	16	32	64	128	
Santa Catarina:										
Lages	RIF	200	26,0	16	27	12	13	de Moura et al., 2009		
Camburiú	RIFI	200	18,5	16	9	5,5	17	de Moura et al., 2009		
São Paulo:										
Araçatuba	RIFI	204	36,8	16	8	5	14	48	Genari et al., 2006	
Araçatuba	RIFI	108	23,1	64	10	15	Bresciani et al., 2007			
Botucatu	RIFI	1097	27,2	16	30	Ullmann et al., 2008				
Botucatu	RIFI	47	63,8	16	16	Salata et al., 1985				
Botucatu (HV)	MAT	540	8,15	64	16	28	Da Silva et al., 2009			
Botucatu	RIFI	100	18,0	16	11	4	Da Silva et al., 2002			
Botucatu (Rural)	RIFI	100	56,0	16	32	19	5	Camossi et al., 2008		
Botucatu	RIFI	80	32,5	16	11	4	De Brito et al., 2002			
Botucatu	RIFI	111	22,50	16	8	12	Da Silva et al., 2005			
Botucatu	RIFI		33,1				Langoni et al., 2006			
Botucatu							Langoni et al., 2012			
Jaboticabal	RIFI	276	46,00	40	32	51	17	16	Domingues et al., 1998	
Jaboticabal	RIFI	203	36,00	40	73	Higa et al., 2000				
Avaré									Gonçalez et al., 2010	
Campinas	RIFI	657	91,0						Germano et al., 1985	
São Paulo (VT)	RIFI	210	72,0	16					Ishizuka et al., 1974	
São Paulo (Rua)	RIFI	1256	63,88						Ishizuka e Yasuda, 1981	
São Paulo									Sogorb et al., 1972	
São Paulo	RIFI		71,90						Larson, 1976	
São Paulo	SF	20	90,0	16					Sogorb et al., 1976	
São Paulo									Sogorb et al., 1977	
Noroeste	RIFI	295	51,19	16					Varandas et al., 2001	

Continua

Quadro 1. Prevalência de cães soropositivos no Brasil (Continuação)

Estado/Cidade	Teste	Número de amostras	% de positivos	Ponto de corte	Número com titulação final de:					Referências
					2 - 8	16	32	64	128	
São Paulo (Urbano)	MAT	610	31,6	25		96	91	6		De Sousa et al., 2003
São Paulo (Rural)	MAT	500	5,20	25		20	6			De Sousa et al., 2003
São Paulo (Rua)	MAT	134	34,3	25						De Sousa et al., 2003
	ELISA		50,5							Meireles, 2001
	HAI		33							Mineo et al., 2001
	RIFI									Mineo et al., 2001
	ELISA									Mineo et al., 2001
	IB									Mineo et al., 2001
São Paulo	MAT	118	35,8	20	10	6	5	5	16	Dubey et al., 2007
São Paulo ^a	RIFI	29	82,8	16	4	11	20	9	15	Ortolani et al., 2005
São Paulo ^b	RIFI	61	56,0	16						Ortolani et al., 2005
São Paulo (CCZ)	ELISA	101	50,5				101			Meireles et al., 2004
Ubatuba	RIFI	204	25,5	16	52					Silva et al., 2003
Mato Grosso:										
Jauru	RIFI	61	88,5	40						Souza et al., 2001
Leste do Amazonas ^c	RIFI	325								Santos et al., 2009
Rio Grande do Sul:										
Porto Alegre	HAI	64	3,10	64						Chaplin et al., 1980
Guaporé	HAI	43	21,00	64						Chaplin et al., 1984
Porto Alegre HV	HAI	161	5,00	64						Braccini et al., 1992
	HAI		37,37							Lagaggio et al., 1997
Pelotas	LA	196	25,00	NS						Nishikawa et al., 1984
Rondônia:										
Monte Negro	RIFI	157	76,40	16	4	12	8	14	82	Cañon-Franco et al., 2003
	RIFI		77,90							Cavalcante et al., 2004
Rio de Janeiro:										
Rio de Janeiro CTI Vet	SF(DT)	101	79,20	16						Coutinho et al., 1968

Aldeias indígenas: ^aKrucutu; ^bMorro da Saudade e ^cKarajá, e Tapirapé

O coronavírus canino é um vírus RNA de fita simples, polaridade positiva, com envelope, pertencente ao gênero *Coronavirus*, família *Coronaviridae*, tem sido associado a surtos esporádicos de gastroenterite moderada em cães de todas as idades, porém com maior gravidade em filhotes. Quando a infecção ocorre associada com a parvovirose, a doença é grave e frequentemente fatal para os filhotes (PRATELLI et al., 1999). O parvo vírus canino (CPV) é um vírus DNA de fita simples, sem envelope, hemaglutinante, pertencente ao gênero *Parvovirus* da família *Parvoviridae*, este vírus está presente no Brasil há mais de três décadas (ANGELO et al., 1988). Dois tipos de CPV já foram identificados, o CPV-1 e o CPV-2. O CPV-1 causa problemas reprodutivos e diarreia, enquanto o CPV-2 é responsável por miocardite e gastroenterite hemorrágica em filhotes entre seis semanas e seis meses de idade. O CPV-2 foi sendo substituído gradativamente na população canina por novas variantes antigênicas, ou biótipos, designados CPV-2a e CPV-2b (PRATELLI et al., 2001a) e um terceiro biótipo, o CPV-2c, que causa surtos de enterite fatal em filhotes (DECARO et al., 2006). Sintomas como hiporexia, anorexia, sensibilidade abdominal, apatia, vômitos, desidratação, hipertermia com temperatura acima de 39,5°C são observados. O diagnóstico é com base no histórico, epidemiologia e resultados clínicos e laboratoriais encontrados principalmente em filhotes com menos de cinco meses, o teste Elisa pela sua praticidade e facilidade de manuseio pelo clínico é utilizado na rotina clínica e constata a presença de antígenos ou anticorpos (HOMEM et al., 1999), o tratamento é de suporte e sintomático, os principais objetivos terapêuticos consistem na normalização do equilíbrio hídrico, eletrolítico, ácido-base, proteção da mucosa gastrointestinal, controle do vômito e com principal atenção as infecções secundárias. A fluidoterapia através de acesso venoso é primordial no tratamento da CPV e deve manter-se até que o vômito e diarreia cessem e a normovolemia seja alcançada (RABELO; CROWE, 2005; NELSON; COUTO, 2010).

A cinomose, causada por *Morbilivírus* (família *Paramyxoviridae*) semelhante aos vírus do sarampo humano, possuindo linfotropismo, que conduz à imunossupressão com linfopenia (TATSUO et al., 2001, MORO et al., 2003). Principalmente nos animais jovens, entre três e seis meses de idade (NORRIS et al., 2006; SILVA et al., 2007; LEAL et al., 2011b). A presença dos achados laboratoriais e a evolução para sinais neurológicos têm sido destacadas como as principais manifestações clínicas da doença, ocorrência de sinais intestinais, respiratórios, deve chamar a atenção do clínico para o diagnóstico da cinomose, porém, não se podem descartar outros agentes etiológicos que causam maior morbidade e mortalidade, permanecendo como uma

das mais graves doenças contagiosas de cães (DUBEY; BEATTIE, 1988; MORETTI et al., 2002; MORETTI et al., 2006; NORRIS et al., 2006; SILVA et al., 2007; LEAL et al., 2011b; PAES; MANGIA, 2012; HEADLEY et al., 2013). O diagnóstico é com base no histórico, epidemiologia e resultados clínicos laboratoriais encontrados, normalmente, são observadas anemia normocítica normocrômica e trombocitopenia, porém o diagnóstico definitivo é com a visualização das inclusões virais em células sanguíneas e epitélio (Corpúsculo de Lentz) e pelo teste Elisa para cinomose que constata a presença de antígenos ou anticorpos. O tratamento para a infecção pelo vírus da cinomose é de suporte, não há medicamentos antivirais, assim como o uso de agentes antibióticos e quimioterápicos, ou que sejam considerados bem-sucedidos na terapia da cinomose canina, porém o tratamento associado às doenças concomitantes é necessário (SWANGO, 1997; BIRCHARD; SHERDING, 2003; HOSKINS, 2004; NELSON; COUTO, 2010; SILVA et al., 2007; REZENDE, et al., 2009; LEAL et al., 2011b; LITSTER et al., 2012).

Devemos exercer a profilaxia como a principal forma de evitar as doenças nos cães, diretrizes devem ser criadas para orientar o médico veterinário para abordagem na clínica, visando um plano de bem estar completo, individualizado para cada etapa da vida dos cães (BARTGES et al., 2012), e os mais importantes são os protocolos vacinais objetivando o controle e proteção, fundamentais para cães, estes devem proteger do vírus da cinomose canina (CDV) e parvo vírus canino, além da coronavirose, parainfluenza, adenovirose, hepatite infecciosa e leptospirose canina. Deve ser feita a partir de 45 dias de idade, totalizando três doses, aplicadas com intervalo de 30 dias. A vacina contra leptospirose deve ser aplicada a cada seis meses conforme o desafio ou área de risco. A vacina contra a Traqueobronquite Infecciosa Canina: *Bordetella bronchiseptica* e Parainfluenza tipo dois, causa desconforto respiratórios, sendo contagiosa. São necessárias duas doses com intervalo de 30 dias, sendo a primeira dose administrada aos 45 dias de vida e o reforço é anual. A vacina inativada contra Raiva canina é indicada pela Organização Mundial de Saúde (OMS), por ter máxima potência contra raiva e por não possuir risco de reversão da virulência, recomenda-se aplicação anual (DAY et al., 2010; PETERSON; KUTZLER, 2011, GREENE, 2012) e associado ao controle de parasitos gastrintestinais, onde estes podem ser predisponentes para doenças virais que possuem tropismo pelo epitélio intestinal, onde várias espécies podem ser observadas parasitando cães, tendo a diarreia como a mais frequente manifestação clínica observada, os mais comuns são: *Ancylostoma* spp., *Cystoisospora canis*, *C. ohioensis*, *Giardia* sp., *Toxocara* sp., *Trichuris*

vulpis, *Dipylidium caninum*, *Taenia* spp, *Sarcocystis* spp., *Capillaria* spp, *Cyniclomyces guttulatus*, *Entamoeba* sp., *Pentatrichomonas hominis* e *Neospora caninum* (LOPES, 2004; DOS SANTOS et al., 2007; LEAL et al., 2011b; DE LA RUE et al., 2012; FLAUSINO et al., 2012; VITAL et al., 2012), principalmente nos animais com até seis meses de idade e a frequência decresce com o aumento da idade, o parasitismo esta presente mesmos nos cães que receberam algum controle antiparasitário e inclusive com ausência de sinais clínicos, o que reforça a necessidade da realização periódica de exames de fezes e tratamento específico em todos os cães, independente da presença ou não de sintomas de doença gastrointestinal, nos adultos deve-se fazer o exame a cada quatro ou seis meses, ou na presença de sinais clínicos, nas fêmeas no início do cio, aos 40 dias de gestação, após o parto para evitar a transmissão pelo leite e a ninhada a cada 15 dias até o desmame, é importante ressaltar que a associação de diferentes técnicas e o exame direto são ferramentas importante na detecção de múltiplas infecções (PRATS, 2005; DOS SANTOS et al., 2007; DA SILVA et al., 2009; LEAL et al., 2011a; LEAL et al. 2011b, RAMSEY, 2011; DE LA RUE et al., 2012; FLAUSINO et al. 2012; VITAL et al., 2012). A maior parte destes cães tem o hábito de defecar em jardins ou ruas, o que pode contribuir para a contínua contaminação do ambiente, visto que boa parte dos proprietários não promovem o correto descarte dessas fezes (MAESTRI et al., 2012), o atendimento profilático se estende aos odontológicos, onde é necessário fornecer uma saúde bucal, doenças da cavidade oral são frequentes, aumentam com a idade, muitas vezes dolorosas e podem contribuir para outras doenças locais ou sistêmicas (HOLMSTROM et al., 2005).

Em cães adultos, as causas de doenças, inclusive com mortes, mais importantes são doenças infectoparasitárias, principalmente cinomose, neoplásicas, principalmente mamários, linfoma, tumores hepáticos e tumores cerebrais, sendo os mais frequentes os linfomas, mastocitomas, linfossarcoma, carcinoma e meningioma, senda esta última limitada ao SNC e as raças mais acometidas são o Golden Retrievers e Boxer, neste último é observado uma maior frequência de neoplasias do SNC e os mastocitomas. O predomínio das manifestações é a partir dos cinco anos (DE NARDI et al., 2004; ADAMS et al., 2010; FLEMING et al., 2011; SANTOS et al., 2012). A referência a adenocarcinoma de próstata deve ser lembrada, assim como tumores venéreos (DE NARDI et al., 2004; OLIVEIRA et al., 2007). Com menores frequências que as neoplasias as doenças do sistema nervoso (SNC) são observadas, agentes físicos e traumas, principalmente atropelamento por veículos automotivos, doenças degenerativas, dentre estas a

doença do disco intervertebral é a causa mais frequente de óbito em cães, seguida por displasia coxofemoral, insuficiência cardíaca, insuficiência hepática e insuficiência renal. A eutanásia é uma opção do proprietário frente as lesões incapacitantes em consequência das doenças degenerativas, é utilizada em mais da metade de todos os casos de doença degenerativa, sendo a idade média quando do óbito de 9 anos (BONNETT et al., 2005; BENTUBO et al., 2007; FIGHERA et al., 2008; TRAPP et al., 2010; FLEMING et al., 2011).

As infecções parasitárias são enfermidades importantes nos cães, pois ocorrem com frequência, algumas delas se apresentam como zoonoses, essas afecções são de ocorrência mundial, tendo como agentes bactérias, protozoários e helmintos filarídeos, as mais comuns em cães são: erliquiose, anaplasmose, micoplasmose, babesiose, dirofilariose e leishmaniose (ETTINGER; FELDMAN, 2004; BIRCHARD; SHERDING, 2003; SALGADO, 2006; WHO, 2010; AHS, 2012).

Entre as hemoparasitos intracelulares obrigatórios de células sanguíneas, os mais comuns são: *Babesia canis vogeli*, *Anaplasma platys*, *Ehrlichia canis*, *Mycoplasma canis*, *Hepatozoon canis* (DINIZ, 2006; SALGADO, 2006; CARLOS et al., 2007; MIRANDA et al., 2008; MUNDIM et al., 2008; LEAL et al., 2012; SILVA et al., 2012). O principal transmissor de cão a cão é o carrapato marrom, *Rhipicephalus sanguineus* (ETTINGER; FELDMAN, 2004; BIRCHARD; SHERDING, 2003; SALGADO, 2006), são de manifestações clínicas diversas, com apresentação multissistêmicas, os cães portadores também estão parasitados por outros hemoparasitos, pois as infecções concomitantes são comuns, principalmente pelo fato de possuírem o mesmo transmissor, provocando um agravo na condição clínica, devido à ação patogênica dos parasitos (NEER et al., 2002; MOREIRA et al., 2003; HARIKRISHNAN, 2005; MENDONÇA et al., 2005; LEAL et al., 2012). As principais alterações hematológicas observadas são trombocitopenia, anemia normocítica e/ou normocrômica e o desvio nuclear de neutrófilos à esquerda leve e eosinopenia absoluta, leucocitose ou por ação de outra infecção concomitante, linfopenia relativa e monocitose absoluta, o número de leucócitos comumente varia durante a fase aguda, podendo diminuir em decorrência da indução ao sequestro destes por mecanismos imunológicos, o número de monócitos pode variar consideravelmente, sendo a monocitose um achado frequente e indicativo da possibilidade de erliquiose, mesmo antes da observação de mórulas (BIRCHARD; SHERDING, 2003; MOREIRA et al., 2003; MORAIS et al., 2004; HARIKRISHNAN et al., 2005; ALBERNAZ et al., 2007; TENÓRIO et al., 2007;

NAKAGHI et al., 2008; FABISIAK, 2010; MIRANDA et al., 2011; LEAL et al., 2012; SILVA et al., 2012). Os parâmetros bioquímicos nas infecções por estes agentes incluem elevação dos níveis séricos de bilirrubina sem icterícia, aumentos valores das enzimas ALT, FAL e GGT, provavelmente ocorreram por esplenomegalia e hepatomegalia, atividade de FAL também pode ter seu valor aumentado devido a estresse sistêmico (ALMOSNY; MASSARD, 2002; HARIKRISHNAN et al. 2005; NAKAGHI et al., 2008; LEAL et al., 2012).

O diagnóstico é com base nos resultados laboratoriais principalmente quando são observadas anemia, podendo ser consequência de hemólise, monocitose e trombocitopenia e hiperproteinemia, associados ao exame clínico onde se observa comumente quadros de febre, letargia, anorexia, hematúria e esplenomegalia (MORAIS et al., 2004; CARLOS et al., 2007; MIRANDA et al., 2008; SANTARÉM et al., 2008; LEAL et al., 2012). O exame definitivo é com a observação dos agentes nos esfregaços sanguíneos, concentrado de leucócitos e plaquetas e esfregaços preparados a partir de gota sanguínea pela perfuração da orelha. Os achados laboratoriais, assim como o histórico e o exame clínico apenas sugerem o diagnóstico, porém a visualização dos parasitos, ou a demonstração dos seus anticorpos ou antígenos e a utilização da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) confirmam o diagnóstico (MIRANDA et al., 2008; MUNDIM et al., 2008; MIRANDA et al., 2011; LEAL et al., 2012; SILVA et al., 2012). O tratamento específico é na utilização de antibiótico de ação intracelular para *A. platys*, *E. canis*, *M. canis*, *H. canis*, a doxiciclina na dose de 5mg/kg a cada 12 horas durante 21 dias, para as espécies de *Babesia* utiliza-se o imidocarb na dose de 5mg/kg em aplicação subcutânea, com repetição da dose após 15 dias (NEER et al., 2002, MORAES et al., 2004, SOUZA et al., 2004; RAMSEY 2011; LEAL et al., 2012).

A leishmaniose visceral (LV) constitui um grave problema de saúde pública, com grande incidência nos cães. O agente etiológico da leishmaniose visceral é a *Leishmania (Leishmania) chagasi* (CHAGAS et al., 1937; CUNHA; CHAGAS, 1937). Não há sinais clínicos característicos para a leishmaniose canina que possam ser usados como um marcador clínico específico para infecção, a enorme variedade de sinais clínicos não específicos torna as técnicas laboratoriais indispensáveis para a obtenção de um diagnóstico preciso (AGUIAR et al., 2007, DIAS, 2008). No Brasil, a LVC é uma doença de notificação compulsória, não sendo permitido pelo Ministério da Saúde o tratamento dos cães sob o risco de se manterem transmissores em potencial da doença para os seres humanos, pois não eliminam os parasitos (KOUTINAS et al.,

2001), além de produzirem formas resistentes, com a necessidade de novos protocolos multidrogas (LAMOTHE, 1999). Os vetores da leishmaniose visceral são insetos denominados flebotomíneos, *Lutzomyia longipapis*, *L. cruzi* e *L. forattinii*, (GALATI, 1997; WHO, 2010; MISSAWA et al., 2010). A profilaxia é feita com a utilização de coleiras impregnadas com deltametrina a 4% e produtos “pour on”, vacinas podem ser utilizadas, porém é necessário testar o cão antes da vacinação para a presença de anticorpos da *L. chagasi*, o protocolo indicado é aplicar três doses, intervaladas de 21 dias, a partir de quatro meses de idade, revacinar anualmente com uma dose a contar da data da 1ª dose (BORJA-CABRERA et al., 2002; CAMARGO-NEVES et al., 2004, BRASIL, 2006; WHO, 2010). A enorme variedade de sinais clínicos não específicos torna as técnicas laboratoriais indispensáveis para a obtenção de um diagnóstico preciso, o valor da visualização da forma amastigota do parasita por exame microscópico de aspirados de tecidos, principalmente em macrófagos é definitivo e apesar da especificidade da microscopia ser elevada, a sua sensibilidade varia, sendo maior para o baço do que para a medula óssea, a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) e a sorologia através do ensaio imunoenzimático indireto (ELISA) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI) confirmam o diagnóstico, porém quando se trata de animais assintomáticos estes testes são incompetentes para detecção dos anticorpos (BIRCHARD; SHERDING, 2003, ETTINGER; FELDMAN, 2004; SILVA et al., 2005; KRAUSPENHAR et al., 2007; ASSIS et al., 2010; QUEIROZ et al., 2010; WHO, 2010).

A dirofilariose pela *Dirofilaria immitis*, zoonose transmitida por mosquitos hematófagos *Aedes taeniorhynchus*, *Aedes scapularis*, *Culex quinquefasciatus* (LABARTHE; GUERRERO, 2005). Seus hospedeiros naturais são canídeos e felídeos domésticos e selvagens nos quais as larvas infectantes do terceiro estágio migram para os tecidos subcutâneos ou subseroso, sofrendo duas mudas durante os meses seguintes e, após a quinta muda, a forma adulta jovem chega até o coração com um período pré-patente é de no mínimo, seis meses (HOCH; STRICKLAND, 2008; LEÓN, 2010; AHS, 2012). É observada em todas as faixas etárias a partir de um ano de idade, o risco aumenta com a idade e principalmente os cães, de raça de médio e grande porte, com pelos curtos são mais afetados (FERNANDES et al., 1999; ALMEIDA et al., 2001; VEZZANI et al., 2011; AHS, 2012;). Os sinais clínicos podem estar ausentes e quando observados, dependem da gravidade da doença e da sensibilidade do hospedeiro, podem ser observados perda de peso, diminuição da tolerância ao exercício, letargia, tosse, dispneia, cianose, síncope e distensão

abdominal por ascites e ou hepatoesplenomegalia, a ausculta cardíaca pode estar alterada, no lado direito sugerindo um sopro no coração devido a insuficiência da tricúspide, em casos graves, a fibrilação prematura e arritmias ventriculares podem estar presentes, distensão da veia jugular, e ascite associadas a insuficiência cardíaca congestiva do lado direito (LABARTHE, et al., 1997; ALMEIDA et al., 2001; ETTINGER; FELDMAN, 2004; HOCH; STRICKLAND, 2008; AHS, 2012). Para o diagnóstico, os métodos diretos são eficientes, observação das microfilárias circulantes são visualizadas em estirões sanguíneos ou teste de Knott modificado para a detecção de microfilárias, nos métodos indiretos, detectam-se antígenos do helminto adulto ou anticorpos por meio de testes sorológicos ou testes de imunodiagnósticos, como o de ELISA, exames de imagens são úteis, radiografias de tórax e a visualização ultrassonográfico de vermes também podem validar os resultados do teste diretos e de antígeno negativo, quando não há pelo menos uma fêmea adulta parasitando o hospedeiro (LABARTHE, et al., 1997; ALMEIDA et al., 2001; HOCH; CARLOS et al., 2007; HOCH; STRICKLAND, 2008; VEZZANI et al., 2011; AHS, 2012). A profilaxia é durante toda a vida do animal, deve se iniciar na oitava semana de vida, antes de iniciar o protocolo de profilaxia escolhida, devem-se testar os cães com mais de sete meses de idade. Atualmente há várias drogas disponibilizadas comercialmente, todas classificadas como lactonas macrocíclicas: ivermectina, milbemicina oxima, moxidectina, e selamectina, devem ser administradas conforme o peso do animal a cada 30 dias, podendo se associado a repelentes dos vetores. Algumas raças como os Collies e outros cães deficientes em P-glicoproteína são sensíveis as lactonas macrocíclicas (BIRCHARD; SHERDING, 2003; BLAGBURN et al., 2011; RAMSEY, 2011; AHS, 2012). O tratamento dos parasitos adultos da *Dirofilaria immitis* é composto por um protocolo a base de doxiciclina na dose de 20 mg/kg a cada 24 horas ou 10 mg/kg a cada 12 horas, durante 30 dias associado a ivermectina na dose de 6 mcg/kg mensal durante 24 semanas, a cada 3 e injeção intramuscular de dicloridrato melarsomine na dose de 2,5 mg/kg, total de duas aplicações com 24 horas de intervalo, mudanças no protocolo são indicadas em caso de infecções graves (KRAMER et al., 2011; AHS, 2012).

As neoplasias mais frequentes foram os tumores mamários (TM), acometem principalmente fêmeas que machos, este com baixa frequência, também desenvolvem TM, podem ser benignos ou malignos e se apresentam na relação de 1:2, respectivamente, podem estar associados histologicamente a mais de um tipo de TM, sendo os carcinomas em tumores mistos o tipo histológico predominante (OLIVEIRA FILHO et al., 2010; TORÍBIO et al., 2012). As

fêmeas idosas com mais de 9,5 anos tem mais neoplasias malignas que as adultas, e o carcinoma simples são o mais prevalente, as metástases para linfonodos ocorrem com maior frequência do que para órgãos outros. O efeito protetor conferido pela castração desaparece se a mesma for realizada após os dois anos e meio de idade, ou após o terceiro ciclo estral, e são fatores de risco a manutenção da função reprodutiva, obesidade, dietas com base em carne bovina e suína e pobre em frango, em vez dos alimentos comerciais. O diagnóstico tardio implica em tumores maiores que cinco centímetros, estádios mais avançados, caráter infiltrativo e conseqüentemente, piores prognósticos. Os TM em cadelas não apresentam características de histórico reprodutivo e de exame clínico que auxiliem o diagnóstico diferencial, sendo a citologia, histopatologia e imunohistoquímica os meios para a conclusão do diagnóstico e a última podendo ser utilizada para prognóstico (ALENZA et al., 2000; OLIVEIRA FILHO et al., 2010; FELICIANO et al., 2012; TORÍBIO, et al., 2012). Para a escolha da droga quimioterápica, deve-se considerar: classificação histopatológica do tumor, classificação de acordo com o sistema TNM (tumor-nódulo-metástase), estado geral do animal e os efeitos colaterais que podem decorrer da aplicação dos fármacos, como mielossupressão e toxicidade gastrointestinal. Os principais quimioterápicos antineoplásicos mamárias são a doxorrubicina, ciclofosfamida, 5-Fluorouracil, associados aos efeitos citotóxicos pela combinação de piroxicam e deracoxib para o tratamento de carcinoma mamário canino (SORENMO, 2003; CIRILLO, 2008; ÜSTÜN ALKAN et al., 2012).

A segunda neoplasia mais frequente é o linfoma canino, principal neoplasia de origem hemolinfática, tem elevada incidência na população canina mundial, o que certamente contribui para o fato de que é a neoplasia mais comumente tratada em cães (HOSKINS, 2004), ocorre em animais jovens a idosos, um a 13 anos, observando-se maior frequência entre 5,9 e 6,2 anos (SEQUEIRA et al., 1999; OCARINO et al., 2005; MORENO; BRACARENSE, 2007), as raças mais acometidas são o Pastor Alemão, Boxer e Rottweiler. A forma mais frequente é a multicêntrica, a tímica e a digestiva são menos frequentes (SEQUEIRA et al., 1999; CUNHA et al., 2011) e os sinais clínicos mais observados são a linfadenomegália, perda de peso, anorexia e referente ao órgão ou sistema acometido pelo linfoma primário (CARDOSO et al., 2005; OCARINO et al., 2005; DE CÁPUAL et al., 2011). As principais alterações hematológicas são anemia normocítica normocrômica, trombocitopenia e leucocitose, associadas às síndromes paraneoplásicas, a remissão completa da doença ocorre em mais de 1/5 dos cães e a influência da anemia no prognóstico dos animais é um parâmetro importante no prognóstico. O tratamento é

com base em protocolo de Madison-Wisconsin, que inclui sulfato de vincristina (0,75mg m⁻², via intravenosa), L-asparaginase (400UI kg⁻¹, via intramuscular), ciclofosfamida (250mg m⁻², via oral), doxorrubicina (30mg m⁻², via intravenosa) e prednisona, administrada nos primeiros 30 dias de tratamento, em doses semanais decrescentes via oral (GARRETT et al., 2002; DE CÁPUAL et al., 2011).

Os principais tumores em vísceras parenquimatosas são os hepáticos malignos primários (THMP), se apresentam na forma de carcinomas (colangiocarcinomas, carcinomas hepatocelulares, hepatocolangiocarcinoma) e os sarcomas (hemangiossarcomas) e acomete principalmente cães idosos das raças Pastores Alemães e Boxer (FROES, 2004; ALOIA et al., 2012; FLORES et al., 2013). Metástases extra-hepáticas ocorrem mais frequentemente nos colangiocarcinomas e carcinomas hepatocelulares atingindo principalmente pulmões, linfonodos e peritônio. Pelo menos 1/3 de cães idoso sem manifestação clínica apresentam imagem ultrassonográfica sugestiva de neoplasia hepática (SEOANE, 2012; FLORES et al., 2013). Colangiocarcinomas são altamente metastáticos, muito mais metastáticos do que carcinomas hepatocelulares, e as principais metástases ocorrem em pulmões, linfonodos e cavidade abdominal, morte súbita pode ocorrer e os sinais mais frequentemente observados são ascite e icterícia, anorexia, apatia, sedentarismo, perda de peso, polidipsia, vômitos e dor abdominal (MOROZ; SCHWEIGERT, 2007; BHATTACHARYA et al., 2012; FLORES et al., 2013). O tratamento cirúrgico com a ressecção hepática parcial (lobectomia) deve ser considerada como terapia de eleição, terapias não cirúrgica só devem ser usadas onde a cirúrgica não é possível, com a opção da radioterapia associada a radiofármacos (SLATTER, 1998; RYDER, 2003; BRUIX; SHERMAN, 2005; BOJRAB, 2005; FOSSUM, 2005; STRIGARI et al., 2010). A forma de diagnóstico definitivo é através da citologia, seguido da histopatologia e histoquímica, vários métodos de coloração, incluindo Wright, May-Grünwald-Giemsa, Azul NewMethylene e Papanicolau e métodos de coloração histológicas como Hematoxilina e Eosina, Van Gieson, Sudão, Azul de Toluidina e Ácido Periódico de Schiff são utilizados, o que permite o diagnóstico específico, porém o método de Wright é o método de coloração mais eficiente (MAGALHÃES et al., 2001; DE NARDI et al., 2004; FELICIANO et al., 2012; FLORES et al., 2013). O método bastante utilizado na clínica é a punção aspirativa com agulha fina, melhor técnica para obtenção de amostras para o diagnóstico, porém a histopatologia possui uma maior eficácia, além disso, deve-se ter atenção ao tipo de neoplasia e localização, os lavados são eficientes para coleta de

material, porém podem não diferenciar neoplasia primária ou metastática (FERIAN et al., 2006). Citologia não é adequada para o diagnóstico de neoplasias mamárias devido à grande variação de morfológicas em diferentes áreas, assim como impressão em lâmina não é recomendável para avaliar tumores mesenquimais e deve ser substituído por citologia esfoliativa (MAGALHÃES et al., 2001). Além dos exames específicos, exames de imagem são fundamentais para um auxílio no diagnóstico e prognóstico, radiografia, ultrassonografia, tomografia computadorizada e ressonância magnética são fundamentais inclusive como método auxiliar na escolha do tratamento, onde se evidenciam as estruturas acometidas, e a escolha pela cirurgia associado ou não a quimioterapia (MAGALHÃES et al., 2001; BLEVINS, 2002; DE NARDI et al., 2004; JUNIOR et al., 2013).

A neoplasia intracraniana é uma causa comum de disfunção neurológica em animais de meia idade e idosos, (BIRCHARD; SHERDING, 2003; ETTINGER; FELDMAN, 2004), Os mais frequentes são meningiomas, astrocitomas, oligodendrogliomas, tumores do plexo coróide, linfomas do sistema nervoso, os menos frequentes são os glioblastomas, tumores neuroectodérmicos primitivos, sarcomas histiocítica, hamartomas vasculares, a maioria se localizam no telencéfalo, maior prevalência estatisticamente é observada em cães idosos e com peso corporal acima de 15 Kg (SNYDER et al., 2006; SONG et al., 2013). Nas doenças neurológicas, meningoencefalite de etiologia desconhecida, discopatias, epilepsia idiopática, hidrocefalia, foram as mais frequentes, com atenção para a elevada frequência em Dachshunds e Pastores Alemães associados a doenças da medula espinhal (MOORE et al., 2001; FLEMING et al., 2011; JEON et al., 2012), enfarte cerebelar e cistos aracnóides devem ser incluídos no diagnóstico diferencial de qualquer cão com alteração aguda independentemente da gravidade dos sinais clínicos (VERNAU et al., 1997; BERG; JOSEPH, 2003). A maior frequência da doença neurológica ocorre até os quatro anos, declina até os 10 anos e torna-se mais frequente após os 10 anos de idade (FLEMING et al., 2011). A evolução dos sinais clínicos nas doenças do SNC, incluindo as neoplasias, que variam de uma evolução aguda a lenta. Os sinais neurológicos principais em cães foram alteração do nível de consciência, caracterizada principalmente por sonolência, hiperestesia espinhal, desequilíbrio, inclinação da cabeça, episódios de vômito, convulsões, paresia, ataxia, mioclonia, hipermetria, demência ou andar em círculos e nistagmo, sendo a convulsão a manifestação mais frequente nas neoplasias (VERNAU et al., 1997; BERG; JOSEPH, 2003; GAMA et al., 2005; SNYDER et al., 2006; LITSTER et al., 2012; SANTOS et

al., 2012; KEYERLEBER et al., 2013). O primeiro teste diagnóstico é através da coleta de líquor, sua análise quanto ao aspecto, pH, densidade e celularidade e mensuração da glicose, assim como testado para presença de antígeno ou anticorpos pelo ELISA, exames de imagens, através de tomografia computadorizada e ressonância magnética as quais oferecem um diagnóstico rápido eficiente, que aliado a biopsia cerebrais, permitem diagnóstico preciso com a possibilidade da melhor escolha de tratamento, seja cirúrgico e ou quimioterápico ou conservador, conforme a indicação, a mielografia, ainda é um exame complementar bastante utilizado principalmente nos cães com suspeita de compressão medular (VERNAU et al., 1997; BERG; JOSEPH, 2003; GAMA et al., 2005; SANTOS et al., 2012; LITSTER et al., 2012; KEYERLEBER et al., 2013). Tratamento das doenças cerebrais e principalmente das neoplasias são determinadas pelas manifestações clínicas, o fenobarbital na dose de 2,5 mg/kg a cada 12 horas, com possibilidade de redução da dose para 1,1 mg / kg, podendo ser associado a prednisona na dose de 0,5 mg/kg a cada 12 horas durante, se reduzindo a dose gradativamente. Em caso de moderado ou grave edema cerebral, hidrocefalia obstrutiva, ou efeito compressivo do tumor se utiliza o manitol a 20% nas doses de 0,45g a 1g/kg através de acesso venoso, como uma taxa de infusão constante de cerca de 20 minutos seguido por 0,75 mg/kg de furosemida. A ressecção cirúrgica dos tumores intracranianos quando possível é a melhor opção de tratamento e pode ser em combinação com radioterapia (EVANS et al., 1993; RAMSEY, 2011; ROSSMEISL et al., 2013).

O trauma é considerado uma importante causa de encaminhamento de cães ao atendimento médico veterinário em todo o mundo (BONNETT et al., 1997; BONNETT et al., 2005), é o causador de lesão tecidual que ocorre de forma aguda como resultado de violência ou acidente, responsável por iniciar alterações no eixo hipotalâmico-hipófise-adrenal, imunológicas e respostas metabólicas com o objetivo de restaurar a homeostase, conseqüentemente lesão tecidual, hemorragia, dor e medo são os principais componentes de qualquer evento traumático (MUIR, 2006). Os acidentes ou traumas com cães por distúrbios causados por agentes físicos são mais frequentes em cães jovens e adultos, a idade é um fator de proteção, trauma por atropelamento não estão relacionados nas principais causas de cães senis em atendimento médico veterinário, frequência de morte é maior em cães com menos de um ano de idade e declina acentuadamente depois disso (FLEMING et al., 2011; AGUIAR, 2012), podem deixar sequelas com condição inadequada de qualidade de vida, o que inclui a eutanásia como alternativa para o

proprietário. Dentre os traumas, os mais comuns são decorrentes de atropelamento por veículo automotivo, de briga entre animais, de obstrução gastrointestinal, e por arma de fogo, onde o tórax é a região anatômica mais comum atingida e a principal causa de morte, seguido das extremidades e ferimento na cabeça, cães com único ferimento nos membros tem maior probabilidade de sobreviver ao contrário de cães com múltiplos ferimentos (BENTUBO et al., 2007; FIGHERA et al., 2008a; TRAPP et al., 2010; BAKER et al., 2013). A maioria dos cães sofre trauma em decorrência de atropelamento por veículo automotivo, sugerindo ausência da posse responsável por parte dos proprietários. O atropelamento contribui significativamente para as estatísticas de morte em cães, As lesões mais frequentes incluem traumatismo espinhal-medular, ruptura de órgãos parenquimatosos, traumatismo crânio encefálico, neste caso a incidência de convulsões precoces e tardias podem estar relacionadas, outras lesões são: ruptura de órgãos ocos, fratura de costelas com laceração de órgãos parenquimatosos e ruptura de diafragma com deslocamento de vísceras abdominais para a cavidade torácica (FIGHERA et al., 2008b; TRAPP et al., 2010; STEINMETZ et al., 2013), essas alterações predis põem o animal a uma insuficiência do organismo pela resposta inflamatória sistêmica com infecções e disfunção de múltiplos órgãos (RABELO; CROWE, 2005; MUIR, 2006). O tempo de internação é inversamente proporcional a chance de sobrevivência, as taxas de sobrevivência são bastante elevadas quando de 24 horas de internação e diminuiu progressivamente com a hospitalização (RABELO, 2008), os parâmetros laboratoriais e clínicos relacionados com a sobrevivência são: idade, aspecto e coloração das mucosas, frequência cardíaca, frequência respiratória, perfis hematológicos, hemogasométricos, perfis renal com mensuração de ureia e creatinina, fosfatase alcalina, lactato, número de doenças concomitantes, a escala de consciência (RABELO, 2008). O atendimento segue uma abordagem algorítmica para o atendimento ao paciente para aperfeiçoar a terapia e para melhorar o resultado, o método ABCDE, da língua inglesa, A de vias aéreas, B de respiração e ventilação; C de circulação com controle da hemorragia; D de incapacidade, estado neurológico; E de Exposição e controle do ambiente (temperatura). Este protocolo surgiu porque se observou que o trauma mata seguindo uma cronologia previsível, a obstrução das vias aéreas mata mais rapidamente do que a perda da capacidade de respirar, que mata mais rapidamente do que a redução do volume sanguíneo circulante, assim como a preservação do SNC é fundamental para manutenção da vida, deve-se iniciar a estabilização dos sinais vitais e a identificação de lesões que comprometem a vida do paciente. Essa sequência fundamentalmente protege o

cérebro da hipóxia, da hipoventilação e da hipotensão, fatores determinantes do mau prognóstico (KOVACIC, 1994; RHODES; BENNETT, 2004; PLATT, 2005; RABELO; CROWE, 2005; RABELO et al., 2010). Portanto, atualmente, é cada vez mais reforçado o conceito de que a abordagem ao doente deve ser sistematizada e obedecer aos protocolos de urgência básicos, dando total prioridade ao controle das vias aéreas, da boa respiração e da ventilação e à correção dos distúrbios circulatórios. Além da abordagem clínica emergencial, devemos nos concentrar em manobras específicas, para garantir o suporte integral ao sistema nervoso central, onde a escala de coma de Glasgow pediátrica modificada para cães é ferramenta segura para avaliação de alterações neurológicas de cães (RHODES; BENNETT, 2004; PLATT, 2005; RABELO; CROWE, 2005; RABELO, 2008; ANDRADE et al., 2010; NELSON; COUTO, 2010).

A terapia deve ser individualizada, sob medida para cada paciente, reavaliando e reformulado constantemente de acordo com as mudanças no *status* do paciente, sua condição volêmica, eletrolítica, ácido-base, oncótica e condições de morbidade, todos os pacientes devem ser avaliados quanto a fluidoterapia e risco de sepses (PLATT, 2005; RABELO; CROWE, 2005; NELSON; COUTO, 2010; DAVIS et al., 2013) assim como protocolos de controle da dor, sedação e anestesia devem ser inseridos obrigatoriamente no paciente traumatizado (HELLYER et al., 2007).

Doenças degenerativas em cães, devido ao comprometimento da qualidade de vida é a responsável pelo número expressivo de indicação para eutanásia (TRAPP et al., 2010; SANTOS et al., 2011), a doença do disco intervertebral ou discopatia é a mais frequente nas lesões de coluna, ocasionadas pela protrusão (Hansen II) ou extrusão (Hansen I) de material do disco intervertebral para o interior do canal vertebral com subsequente compressão da medula espinhal, determinando sintomatologia clínica, sua ocorrência varia com a idade e raça, sendo essas características associadas aos tipos de crescimento ósseo, cães podem ser divididos em condrodistróficos (CD) e de não condrodistróficos (ND), de acordo com sua aparência física. Nas raças CD, a ossificação dos ossos longos é interrompida, resultando em extremidades em forma de arco curto, esta característica é fortemente ligada à discopatias (BRAY; BURBIDGE, 1998; DEWEY, 2006; BRISSON, 2010; MACHADO, et al., 2012). As raças CD (Basset Hound, Beagle, Teckel Padrão e Miniature, Bulldog Inglês, Bulldog Francês, Cocker Spaniel Americano, Bichon Frise, Jack Russell Terrier, Pug, Poodle, Cavalier King Charles Spaniel, Shih Tzu, Papillion e Spaniel Tibetano (BERGKNUT et al., 2012), sendo a raça Teckel a mais acometida,

Teckel miniatura mais acometido do que o Teckel padrão, nas raças de grande porte o Doberman é a mais acometida e frequência aumenta com a idade (BERGKNUT et al., 2012; MACHADO, et al., 2012). Normalmente apresentam ruptura destes discos com perda de substância gelatinosa levando a compressão medular, a região toracolombar da medula espinhal é a mais afetada em cães de meia idade na faixa de 5 anos, porém sinais de degeneração já podem ser observados antes de um ano de idade, nas raças ND a partir dos 5 anos (DEWEY, 2006; BERGKNUT et al., 2012; MACHADO, et al., 2012). A degeneração é observada comumente em exames de imagens onde não há manifestação clínica, degeneração não é sinônimo de doença, porém a manifestação com a presença de sinais clínicos confirma a doença (BRAY; BURBIDGE 1998). No entanto, ND e principalmente, cães de raças grandes, muitas vezes também desenvolvem a doença, principalmente os velhos, traumas e "desgaste" são as principais causas. Nos CD o fator genético é o mais importante (BRAY; BURBIDGE 1998).

O suspeito clínico é baseado na história clínica, no exame físico com atenção a avaliação neurológica, apresentando manifestação dolorosa de leve a intensa, automutilação, ataxia, paresia, perda da propriocepção, hiperestesia, claudicação, paralisia, ausência de dor profunda e óbito (FILHO et al., 1999; BRISSON, 2010; SANTOS et al., 2011), deve se ter atenção a lesões com progressão cranial da diminuição do reflexo cutâneo do tronco, pois são compatíveis com mielomalácia hemorrágica progressiva (MHP), afecção irreversível, progressiva e fatal devido a paralisia respiratória em decorrência da necrose aguda isquêmica e progressiva do parênquima da medula espinhal, levando à liquefação da mesma, normalmente esta associada a extrusão do disco intervertebral, trauma medular ou embolismo fibrocartilaginoso, a raça Teckel é a mais acometida (OKADA et al., 2010; ZILIO; ARIAS, 2013).

O diagnóstico definitivo é através de exames de imagens, a radiografia laterolateral e ventrodorsal deve ser realizada sob anestesia geral para diminuir o movimento, garantir o bom posicionamento com conforto ao animal (FILHO et al., 1999; DEWEY, 2006; BRISSON, 2010; MACHADO, et al., 2012), devido a suas limitações esta deve ser associada a mielografia com contraste lipossolúvel na dose 0,3 a 0,5 mL/kg no interior do espaço subaracnóide, modalidade de imagem padrão para o diagnóstico de extrusão em cães (FILHO et al., 1999; CHERRONE et al., 2004; BRISSON, 2010), a análise do líquido cefalorraquidiano (LCR) é por vezes necessária, principalmente antes da mielografia, descartando possíveis diagnósticos diferenciais (CHERRONE et al., 2004; BRISSON, 2010). A tomografia computadorizada (TC) é uma

ferramenta de diagnóstico sensível e não invasivo que pode ser usado como complemento a mielografia ou como único procedimento de diagnóstico (BRISSON, 2010). A ressonância magnética (MRI) é o melhor método de diagnóstico, sua concordância com os achados cirúrgicos é elevada o que melhora a capacidade de diagnóstico e escolha da melhor opção terapêutica e cirúrgica (CHERRONE et al., 2004; BRISSON, 2010). O tratamento cirúrgico é indicado principalmente nos cães onde a dor profunda está preservada, porém recidivas podem ocorrer (CHERRONE et al., 2004). Fisioterapia, administração de analgésicos, relaxantes musculares, aliado ao confinamento atende mais de 50% dos casos (BRISSON, 2010; SANTOS et al., 2011), gastroenterite hemorrágica é a causa mais frequente de morte em pacientes devido as reações adversas da terapêutica utilizada assim como infecções de vias urinárias devido a retenção urinária por ausência de estímulo da micção (SANTOS et al., 2011).

A doença ortopédica degenerativa mais prevalente nos cães é a displasia coxofemoral, seguida da displasia de cotovelo, causas mais frequentemente diagnosticadas nas claudicações no cão (TRAPP et al., 2010; DE SOUZA, et al., 2011; LEWIS et al., 2013; LOTSIKAS et al., 2013), doença de caráter irreversível, poligênico, multifatorial e extremamente complexa, que resulta em degeneração da articulação. Além da hereditariedade e poligenia, a manifestação e desenvolvimento são dependentes de fatores intrínsecos e extrínsecos, porte físico, estrutura e conformação corpórea, disparidade no desenvolvimento entre músculo e osso, taxa elevada de crescimento, nutrição excessiva ou inadequada, distrofia no músculo pectíneo, insuficiência da massa muscular pélvica, excesso de atividade física em cães jovens, manejo ambiental e aspectos hormonais, sendo a obesidade e a raça os fatores essenciais para sua manifestação (FRIES; REMEDIOS, 1995; BOJRAD, 1996; KIRKBY; LEWIS, 2012), presente com mais frequência a partir dos dois anos, porém pode se manifestar em animais muito jovens, com três meses de idade e aumentando com a idade, acometendo um grande número de raças, porém com maior prevalência no Pastor Alemão, Rottweiler, Labrador, Husky Siberiano (LEWIS et al., 2013), os cães sem raça definida também apresentam a doença (DE SOUZA, et al., 2011). Os animais afetados por esta doença nascem com articulações normais, mas o genótipo displásico associado a fatores ambientais adversos contribuem para subluxações e o aparecimento da artrose (GINJA et al., 2005). O excesso de cálcio e vitamina D contribui para a displasia do quadril em indivíduos geneticamente predispostos e deve ser evitados (FRIES; REMEDIOS, 1995). A profilaxia ou controle é com base na seleção dos reprodutores através da

análise genética, é uma das mais graves doenças hereditárias (DUAN et al., 2013; LEWIS et al., 2013), no entanto outras formas de se evitar devem ser aplicadas pois o controle genético não é eficiente (BELLUMORI et al., 2013; LEWIS et al., 2013). A criação seletiva de apenas cães normais com ninhada normais e pais e avós é o método recomendado de reduzir a incidência na população em geral (FRIES; REMEDIOS, 1995).

É um distúrbio evolutivo estando associado à osteoartrite, comprometendo a mobilidade da articulação, dor e claudicação em graus variáveis com sinais clínicos variam desde dor intermitente até a incapacidade de utilizar o membro afetado (BOJRAD, 1996; LEMOS et al., 2008). Para um diagnóstico correto é necessário associar exame clínico com radiografia coxofemoral, de preferência sob sedação (LEMOS et al., 2008).

O tratamento é multifatorial, controlando ou corrigindo todos os fatores que contribuem para a degeneração articular, definido de acordo com o grau de alterações que o animal apresenta, tratamento clínico ou cirúrgico, sempre associado à fisioterapia como método de reabilitação do paciente e o controle da dor (ARIAS et al., 2004; HELLYER et al., 2007; LEMOS et al., 2008), dentre as técnicas cirúrgicas a desnervação acetabular refere-se a um procedimento cirúrgico utilizado quando a osteoartrose esta associada, é eficaz no alívio da dor, na reabilitação muscular após a melhora na capacidade de exercitar-se e na redução da instabilidade, sendo motivo de satisfação para os proprietários (MINTO et al., 2012; ROCHA et al., 2013) assim como a colocação de prótese total da articulação coxofemoral em cão, além de diversas outras técnicas cirúrgicas já descritas e através de terapia com célula tronco (SLATTER, 1998; SOUZA; TUDURY, 2003; ARIAS et al., 2004; BOJRAB, 2005; FOSSUM, 2005; GANGJI; HAUZEUR, 2005; MINTO et al., 2008).

A radiografia tornou-se o método mundialmente aceito para o diagnóstico e monitorização do tratamento da displasia do quadril, embora outras modalidades de diagnóstico como tomografia computadorizada, ultrassonografia, ressonância magnética e técnicas moleculares são utilizados (GINJA et al., 2005), porém há a necessidade de consenso para melhorar a precisão da avaliação do quadril (CHALMERS et al., 2013). Existem diferentes técnicas para avaliação radiográfica, as mais usadas são as desenvolvidas pela Orthopedic Foundation for ANIMALS-EUA (OFA), pela Universidade da Pensilvânia-EUA (PennHip), pelo British Veterinarian Association Inglaterra (BVA) e o Método de Norberg (HD). Para o atestado definitivo os animais devem possuir idade superior a 12 meses pelo BVA e pelo Método de Norberg, e idade

superior a 24 meses pela OFA. As fêmeas devem ser radiografadas com pelo menos 30 dias antes ou após o cio, pois a influência hormonal pode causar uma falsa impressão de sub-luxação (SOUZA; TUDURY, 2003).

Estima-se que aproximadamente 10% dos animais que recebem atendimento de rotina médico veterinário têm doença cardíaca, a insuficiência cardíaca é a terceira causa de doença degenerativa nos cães e a doença valvular cardíaca crônica ou endocardiose (DVCC) é a mais comum nos cães, respondendo por cerca de 3/4 dos casos das doenças cardíacas, e pelo seu carácter de progressão crônico, tem um impacto negativo na qualidade de vida dos cães doentes (ALMEIDA et al., 2006; ATKINS et al., 2009; TRAPP et al., 2010; BOTTE, 2012; DANK et al., 2012). A endocardiose com comprometimento da válvula mitral é a mais comum nos cães, principalmente com idade avançada e de pequeno porte, seguida pela miocardiopatia dilatada (CMD), endocardite, miocardite, cardiopatias congênitas, miocardite associada à endocardite, miocardiopatia hipertrófica (MCH), neoplasias e infarto (SPAGNOL et al., 2004; GONÇALVES, 2010), nas neoplasias, as primárias no coração são observadas com uma certa frequência em cães, com maior frequência em machos da raça Boxer, com idade média de 9,7 anos, as neoplasias primárias do coração diagnosticadas com mais frequência são hemangiossarcoma e mixoma e como primárias da base do coração o quimiodectoma e o carcinoma de tireoide ectópica. Nas neoplasias metastáticas, a frequência foi maior em fêmeas, em cães da raça Rottweiler com idade média foi de 7,5 anos, sendo o linfoma de células T a neoplasia metastática de maior ocorrência (MESQUITA, et al., 2012).

A doença valvular cardíaca crônica CVHD afeta mais comumente a atrioventricular esquerda ou válvula mitral, embora, em cerca de 30% dos casos, a válvula atrioventricular direita (tricúspide) é também envolvida assim como a válvula aórtica, porém infecções concomitantes são comuns, mitral e tricúspide, tricúspide e aórtica (CAVAGUCHI et al., 2010; GONÇALVES, 2010). A degeneração valvular ocasiona regurgitação, determinando sobrecarga de volume e dilatação do átrio esquerdo quando a válvula mitral é acometida, com conseqüente insuficiência cardíaca congestiva (ICC) esquerda, ou mesmo hipertensão pulmonar secundária e ICC direita nos casos mais graves (CHAMAS et al., 2011; FIGUEIREDO, 2012). A hipertensão pulmonar em cães mais velhos é observada comumente se manifestando por dispneia e edema pulmonar, responsiva ao tratamento na maioria das vezes, a obesidade pode ser um importante fator contribuindo ou exacerbando a dispneia (FONFARA et al., 2011). Em relação à faixa etária dos

cães acometidos, a idade mais frequente é na faixa dos 11 anos, variando de 5 a 18 anos de idade. As raças de cães mais frequentemente acometidas são aquelas de pequeno e médio porte, observando-se a seguinte frequência de ocorrência: Poodle, SRD, Pinscher, Cocker Spaniel, Teckel, Lhasa Apso, Maltês, Pastor Alemão, Rottweiler, Fila Brasileiro, maior predisposição dos machos (CAVAGUCHI et al., 2010; CHAMAS et al., 2011; FIGUEIREDO, 2012). A endocardiose ou degeneração valvular mixomatosa em cães de raças pequenas geralmente é de evolução lenta, com a maioria dos cães expressando apenas uma ausculta alterada, o que é característico na regurgitação sem, porém ocorrer manifestação clínica de insuficiência cardíaca, quando cães de raças de grande porte são acometidos, a evolução da doença parece ser mais rápida, não está descartado um componente hereditário em algumas raças (ATKINS et al., 2009).

A endocardite bacteriana (EB), inflamação séptica do endocárdio valvular e/ou mural, doença de diagnóstico difícil devido ao quadro clínico inespecífico, de baixa prevalência em cães, porém com alta morbidade e mortalidade, os cães adultos machos de médio a grande porte são descritos como os mais predispostos, principalmente em cães de raça, sendo Pastor Alemão e Fila Brasileiro as raças mais acometidas tendo a principal consequência o infartos em múltiplos órgãos e tecidos, sendo o rim e o baço os órgãos mais afetados, a idade média dos animais afetados é de 8,2 anos (ETTINGER; FELDMAN, 2004; SPAGNOL et al., 2004; SPAGNOL et al., 2006; CAVAGUCHI et al., 2010), os principais sinais clínicos são apatia, hiporexia, hipertermia, esplenomegalia, dispneia, desidratação, disúria e ausculta de sopro cardíaco (GONÇALVES, 2010). A colonização microbiana acarreta ulceração do endotélio valvular e exposição do colágeno subendotelial, que estimula a agregação plaquetária e a ativação da cascata de coagulação com a formação de vegetações nas laminas valvulares, resultando em insuficiência cardíaca (SPAGNOL et al., 2006; FIGHERA et al., 2007; ATKINS et al., 2009). Na maior parte dos casos a infecção autógena é identificada, a origem da infecção bacteriana usualmente são lesões cutâneas ulceradas e inflamadas, a doença oral nos cães traduzida pela periodontite também é fator importante como origem da endocardite, sendo os mais frequentemente isolados *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Acinetobacter* spp. e *Hafnia* spp., a coleta e processamento adequados da amostra de sangue são importantes para o diagnóstico, no entanto, falsos resultados podem ocorrer no caso da *Bartonella* spp. pois resultam em hemoculturas negativas, exigindo exames específicos como PCR ou sorologia (GIOSO, 2003; SPAGNOL et

al., 2006; CAVAGUCHI et al., 2010; GLICKMAN et al., 2011; VENTURA; DE OLIVEIRA, 2013; OLIVEIRA, 2013).

O agravamento da doença cardíaca na maioria das vezes tem como consequência a fibrilação atrial (FA), doença cardíaca estrutural que é caracterizada por arritmia, as doenças mais frequentes observadas na FA são cardiomiopatia dilatada e endocardiose de mitral e os cães de raças grandes e gigantes são mais acometidos, assim como machos, havendo uma representatividade da raça Fila Brasileira, a frequência da FA aumenta com a idade com média de 9,5 anos, os animais com FA e CMD tem idade média significativamente mais baixa (7,57 anos) do que aqueles com doença valvular mitral crônica (12,23 anos) (ALMEIDA et al., 2006).

A miocardiopatia dilatada (MCD) é a segunda doença mais diagnosticada de todas as doenças cardíacas, ocorrendo em cães adultos de grande porte, as endocrinopatias também podem ter como consequência a MCD, podendo ser responsável pela morte súbita, principalmente nos machos na faixa etária entre 1 e 6 anos, em animais de raça sendo a mais acometida o Pastor Alemão (GONÇALVES, 2010).

A insuficiência cardíaca é classificada de acordo com sua manifestação clínica, podendo ser assintomática até manifestações leves de tosse a graves como cianose, síncope até o choque cardiogênico, e esses sinais incluem o paciente frente a sua classificação no protocolo de manejo alimentar, exercícios físicos e terapia específica indicada, considerando que idade e sexo afetam a mortalidade cardíaca em certas raças de cães (BIRCHARD; SHERDING, 2003; ETTINGER; FELDMAN, 2004; EGENVALL et al., 2006; ATKINS et al., 2009; FRANCO et al., 2011). Ressalta-se a importância da avaliação cardiológica periódica dos cães buscando diagnosticar precocemente essa prevalente doença, o diagnóstico é baseado na anamnese, auscultação cardíaca, eletrocardiografia, exames laboratoriais onde as alterações laboratoriais mais observadas são inespecíficas, porém anemia, leucocitose ou pancitopenia, fosfatase alcalina e creatinina elevadas e trombocitopenia (ETTINGER; FELDMAN, 2004; CAVAGUCHI et al., 2010; ATKINS et al., 2009). A radiografia torácica também oferece auxílio diagnóstico, sendo o exame padrão ouro a ecocardiografia, importante ferramenta no diagnóstico e acompanhamento da progressão da doença (BIRCHARD; SHERDING, 2003; ETTINGER; FELDMAN, 2004; ATKINS et al., 2009; CHAMAS et al., 2011; BOTTE, 2012; FIGUEIREDO, 2012). Doenças cardíacas são fatores de riscos para insuficiências em outros órgãos, os indivíduos com insuficiência renal crônica estão expostos a um aumento da morbidade e mortalidade, como

resultado de eventos cardiovasculares, prevenção e tratamento de doenças cardiovasculares são as principais considerações no tratamento de indivíduos com doença renal crônica (SCHIFFRIN et al., 2007).

Outras doenças degenerativas que se manifestam normalmente com a idade tem na insuficiência renal e hepática as suas principais representantes (FIGHERA et al., 2008; TRAPP et al., 2010; AGUIAR, 2012), são causadas mais frequentemente por infecções e drogas, além disso, os processo patológico envolvido nas doenças hepáticas e renais vão depender e determinar pela extensão da lesão a recuperação do órgão caracterizando uma doença aguda ou dano permanente tendo como consequência doença crônica, que no caso do fígado frequentemente começa com necrose seguida por infiltração por linfócitos ou macrófagos que causam fibrose e cirrose, por causa infecciosas, inflamatórias, fatores hereditários e autoimune, onde as doenças virais e bacterianas como hepatite canina infecciosa e a leptospirose respectivamente são as mais frequentes, cursando com a hepatite, que podem ter como consequência a insuficiência hepática crônica e no caso da leptospirose, também responsável pela insuficiência renal crônica (HARDY, 1985; GOLDSTON; HOSKINS, 1999; WATSON, 2004; POLDERVAART et al., 2009; OLIVEIRA, 2011; POLZIN, 2013).

A doença renal crônica (DRC) afeta vários sistemas do corpo e se apresenta com uma grande variedade de manifestações clínicas, com progressão lenta desde que manejo e tratamento sejam instituídos adequadamente, porém devido a uma etiologia múltipla: distúrbios imunológicos, amiloidose, neoplasia, inflamação, infecção e obstrução do fluxo urinário foram reconhecidos como possíveis causas para a instalação da doença renal crônica em cães (GOLDSTON; HOSKINS, 1999; POLZIN, 2011), alguns fatores de riscos são importantes, como a presença da doença periodontal onde há associação significativa entre a gravidade da doença periodontal e a incidência de DRC ao longo do tempo, inclusive para outras doenças sistêmicas associadas com inflamação (GLICKMAN et al., 2011; O'NEILL et al., 2013), outras importantes alterações orgânicas como a hipertensão, dislipidemia e diabetes são causas de doença renal, juntas, são os principais fatores de risco para o desenvolvimento de disfunção renal assim como a endocardiose de mitral. A prevenção e tratamento das doenças cardiovasculares são as principais considerações no tratamento de indivíduos com doença renal crônica e o prognóstico é dependente da extensão e tempo da lesão (JACOB et al., 2003; ETTINGER; FELDMAN, 2004; SCHIFFRIN et al., 2007; CHETBOUL et al., 2012; POLZIN, 2013).

Os fatores responsáveis pela instalação da DRC geralmente são determinados pelo desenvolvimento de alterações crônicas, principalmente a fibrose, e das adaptações compensatórias que ocorreram nos rins de pacientes com DRC e, portanto, o diagnóstico precoce é fundamental para se conhecer a etiologias e trata-la. A maioria dos cães tem idade superior a sete anos, com uma maior frequência nos animais mais velhos acima de 10 anos, cães jovens são acometidos, porém conforme a idade aumenta o risco de desenvolver a doença, com prevalência maior nos machos e cães de raça definida, Cocker Spaniel e Boxer são os mais acometidos (ETTINGER; FELDMAN, 2004; NOTOMI et al., 2006; GUIDI et al., 2012; O'NEILL et al., 2013), manifestações como alterações no apetite, episódios de vômito, apatia, poliúria, polidipsia são as principais sinais clínicos observados (ETTINGER; FELDMAN, 2004; NOTOMI et al., 2006; O'NEILL et al., 2013). Anemia do tipo não regenerativa e hiperfosfatemia são as alterações mais frequentes observadas, além daquelas observadas no exame de urina, onde a densidade urinária baixa é o parâmetro mais frequentemente observado (NOTOMI et al., 2006; O'NEILL et al., 2013). Exame de imagem através da ultrassonográfico é útil e importante no diagnóstico da doença renal, aumento de ecogenicidade, redução do tamanho, contorno irregular e a diminuição ou ausência do limite córtico-medular caracterizam e confirmam o diagnóstico de nefropatia crônica em cães (NOTOMI et al., 2006).

O diagnóstico da DRC baseia-se em estabelecer a perda da função renal devido à doença renal primária (ETTINGER; FELDMAN, 2004; POLZIN, 2013). O tratamento tem como objetivo atacar a causa da doença primária, diminuir ou evitar a perda progressiva da função renal, melhorar os níveis de marcadores renais, manter uma nutrição balanceada e adequada, tratar deficiências hormonais e doenças concomitantes, pois estas aceleram e promovem complicação frequente na doença renal (GOLDSTON; HOSKINS, 1999; BIRCHARD; SHERDING, 2003; JACOB et al., 2003; ETTINGER; FELDMAN, 2004; SCHIFFRIN et al., 2007; CHETBOUL et al., 2012; POLZIN, 2013).

Hepatite crônica é comum em cães, com uma diversidade de apresentação, sendo observada pela consequência de um grupo diverso de doenças, resultando em um quadro clínico comum (HARDY, 1985), sendo a idade um fator de risco, onde os idosos e adultos são os mais acometidos, porém pode acometer cães jovens, os sinais clínicos presentes são: anorexia, apatia, diarreia, distúrbios neurológicos, vômito, coagulopatias, hipotermia, dor abdominal, icterícia, febre e ascite (WATSON, 2004; INKELMANN et al., 2007; SILVA et al., 2007; OLIVEIRA,

2011) onde as causas são por neoplasias, lesões degenerativas, distúrbios circulatórios, lesões inflamatórias e por acúmulo de cobre, sendo os tumores os mais prevalentes seguidos de cirrose hepática e os sinais clínicos observados com maior frequência são icterícia e ascite (DA SILVA, 2005), sendo a ascite um indicador de prognóstico negativo significativo em cães (RAFFAN et al., 2009). Na maioria dos casos de hepatite canina, a etiologia é desconhecida, para o diagnóstico definitivo é necessário a histopatologia, através de biópsias hepáticas realizadas tanto por via percutânea com orientação do ultrassom ou por laparotomia exploratória (SHIH et al., 2007), se identificando a etiologia e o prognóstico, mais favorável quando a doença primária é diagnosticada na fase aguda (HARDY, 1985; POLDERVAART et al., 2009). O tratamento é principalmente de suporte, com uma abordagem terapêutica atendendo as necessidades particulares de cada paciente, dedicado as diversas patologias hepáticas (GOLDSTON; HOSKINS, 1999; WATSON, 2004; BRUNETTO et al., 2007) com exceção do tratamento da doença de armazenamento de cobre em algumas raças caninas, onde a adequada dieta com baixa concentração de cobre ou a utilização de quelantes de cobre associado ao aumento da ingestão de zinco aliado a utilização do ácido ursodesoxicólico, amplamente utilizado na prática clínica em cães com hepatite crônica (WATSON, 2004).

Com o aumento da longevidade nos cães, outras doenças ocorrem, sendo as endocrinopatias uma das mais importantes, são observadas a partir dos 2 anos com uma elevação da frequência após os 10 anos, podem estar associados a mais de um distúrbio endócrino, onde o sexo masculino é mais acometido, a média de idade é de 7,9 anos, a raça mais frequentemente acometida é a Schnauzer, e mais de 80% dos cães costumam ter dois distúrbios e com cerca de 20% com três distúrbios. As combinações mais comuns de distúrbios incluíram diabetes mellitus com hiperadrenocorticismo; hipoadrenocorticismo com hipotireoidismo e mellitus com hipotireoidismo (BLOIS et al., 2011), sendo a endocrinopatia mais frequente quando única nos cães o hipotireoidismo. Os sinais clínicos devem ser considerados assim como as informações de idade, condição reprodutiva e predisposição racial, aliado aos testes laboratoriais e possíveis exames de imagem (EPSTEIN et al., 2005). Importante ressaltar que sinais clínicos diversos podem ser manifestados pela doença endócrina, com uma variedade de manifestações clínicas, inclusive alterações neurológicas, onde os défices neurológicos podem ser a única manifestação de hipotireoidismo (GOLDSTON; HOSKINS, 1999; EPSTEIN et al., 2005; OLIVEIRA et al., 2007; LOHI et al., 2012), além disso, muitas doenças endócrinas apresentam caráter de urgência

com sinais e sintomas inespecíficos, muitas das vezes precipitadas por doenças concomitantes, tornando ainda mais difícil a identificação precoce, o manejo e tratamento adequado (KOENIG, 2013).

Alterações prostáticas são comuns em cães adultos, sugerindo que exame da próstata em cães deva ser realizado de forma rotineira na clínica, mesmo na ausência de sinais clínicos (OLIVEIRA et al., 2007). Doenças hematopoiéticas é relativamente menos frequente (FLEMING et al., 2011), outras patologias também são frequentes nos cães, pneumonia e doenças pulmonares com atenção para a torção de lóbulo pulmonar (DANK et al., 2012). As doenças inflamatórias, doenças imunomediadas, onde a anemia hemolítica imunomediada (AHIM) é o tipo mais comum de doença imunomediada se refletindo na causa mais comum de anemia em cães, a doença é mais comum em fêmeas de meia-idade, especialmente Cocker Spaniel Americano. Os sinais clínicos estão associados com a anemia severa, apesar de inúmeras opções terapêuticas, os índices de mortalidade permanecem elevados (LEITE et al., 2011; TAKAHIRA; MORAES, 2013), outras doenças imunomediadas tem como manifestação apenas febre, que deve ser investigada e se possível iniciar o tratamento somente após o diagnóstico da febre, pois o tratamento empírico aumenta significativamente o tempo de diagnóstico (BATTERSBY et al., 2006).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 LOCAL DE DESENVOLVIMENTO

3.1.1 Animais de estudo

As amostras foram utilizadas a partir de coletadas no Centro de Terapia e Emergência Veterinária Ltda (CTI Vet. Clínica 24 horas), situado na Avenida das Américas, 3939 bloco 2 loja I, na Barra da Tijuca, município do Rio de Janeiro, RJ. Estabelecimento referência em atendimento clínico, cirúrgico e diagnóstico, em todo animal atendido na rotina clínica. Todos os animais do estudo possuíam responsáveis e acompanhamento médico veterinário de rotina, todas as coletas foram realizadas com o objetivo de diagnóstico, monitoração orgânica e metabólica, independente de sexo, raça, idade, assim sendo, com o objetivo de diagnóstico e tratamento compatível, foram utilizados os exames complementares pertinentes a cada caso, esgotando todos os recursos de diagnóstico disponíveis. Este trabalho atendeu aos princípios básicos para pesquisa envolvendo o uso de animais, de acordo com os princípios éticos e do bem estar animal, atendendo a Resolução 714 de 20 de junho de 2002 do Conselho Federal de Medicina Veterinária, protocolo nº 270/2012-Comissão de Ética-PRPPG/UFRRJ (Anexo 1).

3.1.2 Avaliação clínica e conduta clínica

Os animais eram atendidos por médico veterinário, que preenchiam ficha clínica e de cadastro (Anexo 2 e 3), eram solicitados exames conforme a necessidade e pertinentes ao quadro clínico para obtenção do(s) diagnóstico(s), com a utilização de serviços terceirizados caso

necessário: patologia clínica, de imagem (ultrassonografia, radiografia, tomografia), biológicos (cultura, antibiograma), sorológicos (pesquisa de antígeno ou anticorpo), dosagens hormonais, anatomopatológico (citológico, histopatológico), além de contar com o diagnóstico terapêutico, com objetivo de tratamento eficaz, clínico e/ou cirúrgico.

3.1.3 Determinação do número de amostras e aplicação do questionário

O cálculo da amostra foi realizado pelo programa EPI INFO 2003 (www.cdc.gov), baseado nos estudos de Dias et al. (2004) e Pinto (2005). Chegou-se ao cálculo mínimo de 238 amostras com frequência esperada de 10% e admitindo-se um erro de 5% com Intervalo de Confiança de 99%. Porém, foi utilizado neste trabalho um total de 402 amostras coletadas por conveniência. O histórico dos cães utilizados nesta pesquisa encontra-se nos anexos 2 e 3.

3.1.4. Coleta, processamento e análise das amostras.

As amostra de sangue foram coletadas da veia jugular direita ou esquerda, em seringa descartável, com agulha 25 x 7 mm. A seguir, 2 a 3 mL, conforme volume total da coleta, foram acondicionados em tubo de ensaio pediátrico com ácido etilenodiaminotetracético (anticoagulante-EDTA), e o restante em tubo de ensaio seco com capacidade para 10 mL, sem anticoagulante. Com o material da própria seringa foram feitos dois estiraços sanguíneos corados utilizando conjunto para coloração rápida em hematologia^a As amostras de sangue foram processadas, com a utilização de aparelho automático^b para leucometria e eritrograma. Para separação dos elementos figurados e plasma foi confeccionado microhematócrito e utilizado a microcentrifuga^c, assim como a confecção de dois estirões de concentrado de plaquetas e leucócitos em lâminas de vidro, obedecendo à mesma técnica de fixação, desidratação e coloração para o estiraço sanguíneo, ambos observados em microscópio binocular^d para contagem específica de leucócitos, morfologia dos elementos figurados e presença de hematozoários. Foi utilizado um refratômetro clínico manual^e para mensuração da proteína plasmática total.

As amostras sem anticoagulante foram centrifugadas^f a 350 X g por 10 minutos, para separação do soro para exames necessários pertinente ao diagnóstico e monitoração laboratorial, as sobras foram acondicionadas em criotubos de 2,5 mL, identificadas e armazenadas a temperatura de -20° C até a realização da RIFI e mensuração da albumina e globulina.

3.2 ANÁLISES LABORATORIAIS

3.2.1 Processamento do soro sanguíneo

As sobras dos soros foram levados ao Laboratório de Coccidios e Coccidioses (LCC) – Projeto Sanidade Animal (Embrapa/UFRRJ), Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. BR-465 km7, Bairro Ecologia, Seropédica, RJ, em uma caixa isotérmica para pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii*, utilizando o teste de reação de imunofluorescência indireta (RIFI).

Para a determinação das frações de proteína foi utilizando o método colorimétrico através de reagentes específicos^g e leitura em analisador semi-automático^h, para albumina (g/dL) e globulina (g/dL), conforme orientação do fabricante.

3.2.2 Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

A avaliação sorológica para *Toxoplasma gondii* foi através da técnica de Reação de Imunofluorescência Indireta com base em Coelho (1996) e Leno (2005).

3.2.2.1 Antígeno de *Toxoplasma gondii* utilizado

O material utilizado como antígeno, sepa RH de *T. gondii*, foi gentilmente sedido pelo Prof. Dr. George Rego Albuquerque da Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC), Ilhéus, BA.

3.2.2.2 Preparo das lâminas para reação de Imunofluorescência Indireta

As suspensões de taquizoitos obtidas foram acondicionadas em tubo Falcon e adicionado ácido etilenodiaminotetracético (anticoagulante-EDTA) a 5%, com objetivo de evitar o agregação dos taquizoitos e adicionado formol a 5%, para promover a fixação e conservação (COELHO, 1996). Estas suspensões foram submetidas a centrifugação de 350 x g por cinco minutos, o sobrenadante rico em taquizoitos, foi quantificada por hemocitometria, com auxílio de câmara de Neubauer espelhada Improved, até se chegar a uma suspensão de 30 a 50 taquizoitos por campo óptico com objetiva de 40X. A solução pronta foi, com auxílio de pipeta própria de 10µl, aplicada a lâmina de vidro de microscopia para reação de imunofluorescência indireta^j, com 20 poços de 26x76mm cada, com espessura da lâmina de 1,0 a 1,2 mm e imediatamente aspirado o excesso, o suficiente para inserir de 30 a 50 taquizoitos por campo óptico, As lâminas pós-fixadas por secagem natural, foram imersas em metanol por cinco minutos para desidratação, embaladas em papel de alumínio e mantidas a -20°C, até a realização do exame (COELHO, 1996; UENO, 2005).

3.2.2.3 Diluição dos soros caninos

Os soros dos cães, incluindo os controles positivo e negativo, foram diluídos a 1:16 em PBS, com a confecção de 32 µL de cada respectivo soro. Em seguida 10 µL das respectivas amostras previamente diluídas foram instilados nos poços da lâmina de RIFI, já previamente sensibilizada com antígeno, taquizoitos de *T. gondii*. As lâminas foram incubadas em câmara úmida em estufa^k a 37° C por 30 minutos, posteriormente são lavadas em PBS com auxílio de agitador de Kline^l em velocidade moderada, durante cinco minutos, desprezar o PBS e repetir o procedimento. Secar as lâminas em estufa^k a 37° C por tempo suficiente para receber a solução de conjugado.

3.2.2.4 Preparação do conjugado

O conjugado anti-cão^m foi diluído conforme o fabricante, a 1:32 em PBS pH 7,2 contendo azul de Evans a 0,5%, instilar 10 µL nos respectivos poços já secos das lâminas, incubar em estufa^k a 37° C em câmara escura e úmida por 30 minutos, posteriormente lavadas em PBS com auxílio de agitador de Kline^k em velocidade moderada, durante cinco minutos, desprezar o PBS e repetir o procedimento. Secar as lâminas em estufa^k a 37° C por tempo suficiente para secagem. Todo o procedimento deve ser em ambiente protegido de luz.

3.2.3 Leitura da Reação de Imunofluorescência Indireta

A leitura foi feita em microscópio binocular de fluorescênciaⁿ com aumento de 400X, sendo considerados positivos os animais em que o respectivo poço apresentavam taquizoítos com fluorescência periférica total (Figura 1) e homogênea e negativo os poços que apresentavam taquizoítos com fluorescência parcial ou apical (Figura 2), esses resultados eram validados com os respectivos controles positivo e negativo.

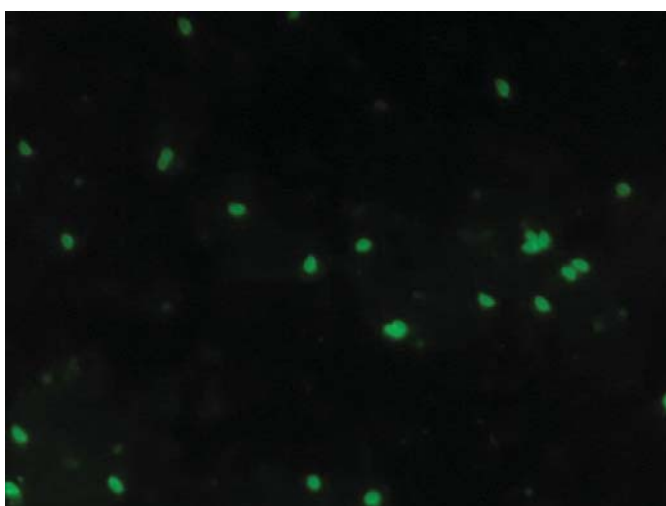


Figura 1. Taquizoítos de *Toxoplasma gondii* com fluorescência periférica total ao RIFI. Obj. 40 X.

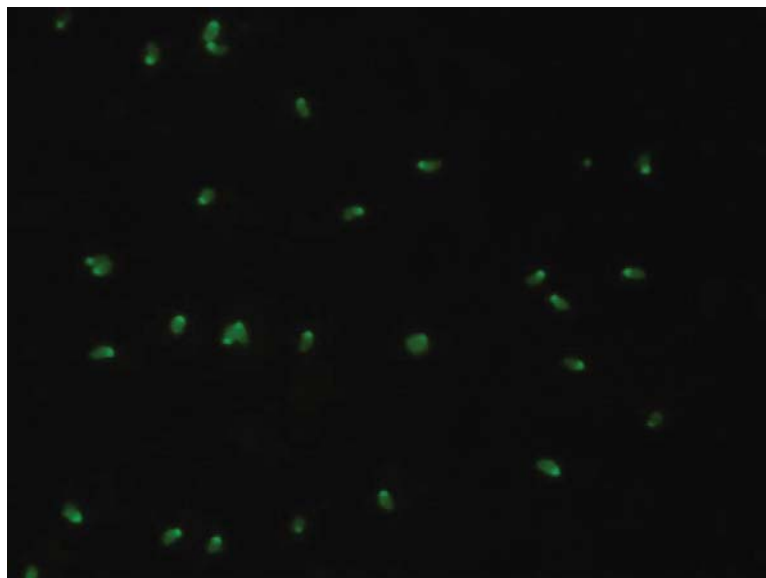


Figura 2. Taquizoitos de *Toxoplasma gondii* com fluorescência parcial ou apical ao RIF1. Obj. 40 X

3.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para verificar a associação entre as variáveis estudadas, foram utilizados os testes estatísticos do Qui-quadrado (χ^2) e o exato de Fisher segundo Sampaio (2002).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 A REAÇÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA COMO TESTE DE DIAGNÓSTICO

A RIFI tem boa especificidade e sensibilidade, com a vantagem de ser prática e segura na rotina laboratorial, recomendada para utilização no imunodiagnóstico da toxoplasmose (KELEN et al., 1962; SILVA et al., 1997) com larga utilização (GUIMARÃES et al., 2009), com a facilidade de se utilizar o plasma para pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* como material alternativo (NAVARRO et al., 1997). A sua escolha se baseou na eficiência e na credibilidade (Tabela 1), apesar da utilização do Ensaio Imunoenzimático (ELISA) para anticorpos IgG e IgM ser prático, porém devido ao grupo de cães estudado apresentarem co-morbididades inflamatórias, com a possibilidade de resultados falso-positivos para IgM em pacientes portadores de processos inflamatórios crônicos como o fator reumatoide e anticorpos antinucleares, limitadores na utilização dessa técnica (CAMARGO et al., 1977) além de ser desaconselhável por apresentar pouca confiabilidade nos resultados obtidos (UCHÔA et al., 1999).

Dos 402 cães, 42 cães (10,44%) foram sororreagentes para *T. gondii* (Figura 3), onde a frequência foi baixa se compará-los com estudos previamente observados no Brasil (Tabela 1). Na procura pelo serviço médico veterinário, a frequência de sororreagentes para *T. gondii* foi de 17,7% (MINEO et al., 2004), de 21,08% (PLUGGE et al., 2011) e de 60,7% dos animais observados (GUIMARÃES et al., 2009) e bem próximo a um estudo modelo, onde 13,2% dos 448 cães examinados foram sororreagentes para este agente etiológico (AHMED, et al., 1983), superior aos 8,15% observados quando títulos maiores ou iguais a 64 são utilizados (DA SILVA et al., 2009), porém quando se compara com animais domiciliados e sem qualquer manifestação da doença, os resultados observados neste trabalho foram o dobro dos descritos em São Paulo (5,2%) porém com a utilização do MAT e ponto de corte 1:64 (SOUZA et al., 2003) e muito a

baixo dos observados em cães saudáveis (52,7%) sem sinais clínicos de doença (CABRAL et al., 1998), e no Rio Grande do Sul, com 3,10%, utilizando o HAI com ponto de corte 1:64 (CHAPLIN et al., 1980), provavelmente a influência do teste utilizado assim como o ponto de corte influenciaram os resultados devido aos falsos negativos.

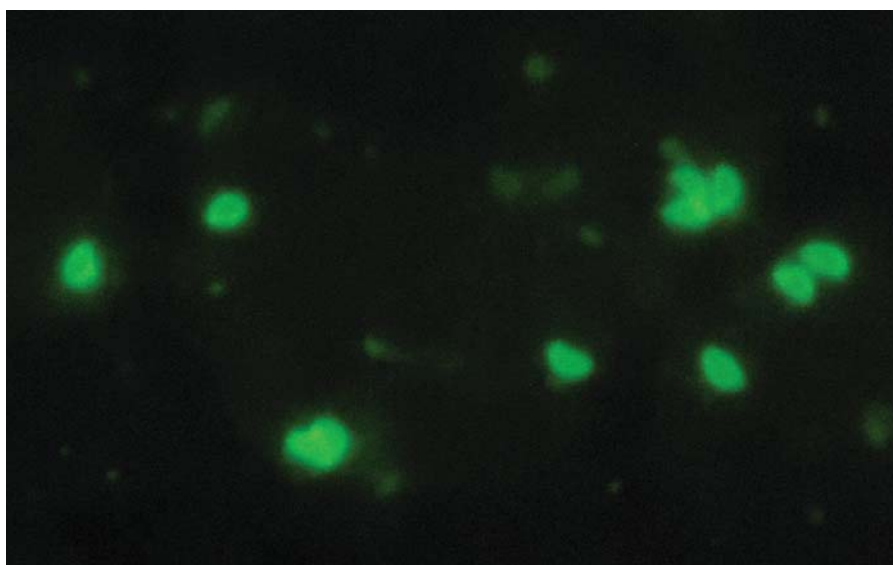


Figura 3. Resultado positivo para presença de anticorpo anti-*Toxoplasma gondii* pela RIFI. Obj. 40 X.

4.2 O CÃO E A POSITIVIDADE PARA *Toxoplasma gondii* NO RIO DE JANEIRO

Os resultados encontrados sofreram influência pelas condições de vida e manejo, referentes aos hábitos alimentares, moradia, saneamento básico, contato com outros animais, nível social, conhecimento de educação preventiva de seus donos, além da presença ou não de sinais clínicos semelhantes à toxoplasmose conforme já descrito (VARANDAS et al., 2001; MEIRELES et al., 2004; CADEMARTORI et al., 2005; ORTOLANI et al., 2005).

Tabela 1. Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em cães no Brasil através da RIFI

Estado/Cidade	Número de amostras	% de positivos	Ponto de corte	Número com titulação final de:					Referências
				2 - 8	16	32	64	128	
Pará:									
Santarém	129	69,8	16	≥					Valadas et al., 2010
Bahia:									
Salvador	225	63,55	16						Barbosa et al., 2003
Paraná:									
Paraná		45,7							Reis et al., 2004
Londrina (UEL-HV)	254	76,0	16	40	44	109			Freire et al., 1992
Londrina	312	23,40	16	27	27	19			Navarro et al., 1997
Jaguapitã	189	84,1	16	50	61	48			Garcia et al., 1999
Urbana		61,9							Souza et al., 2001
Rural		46,28							Carletti et al., 2002
		68,96							Carletti et al., 2002
		45,73							Reis et al., 2004
Guarapuava	24	20,8	16		1	4			Romanelli et al., 2007
Curitiba (metropolitana)	147	58,1	≥50	17					Plugge et al., 2011
Pernambuco:									
Sertão	170	57,6	64		98				Figueiredo et al., 2008
Fernando de Noronha	31	38,7	16						Costa et al., (2012)
Paraíba:									
Campina Grande	286	45,10	16	16	23	40	28	22	Ragozo et al., 2004
Piauí:									
Terezina	530	18,0	16						Lopes et al. (2011)

Tabela 1. Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em cães no Brasil no Brasil através da RIFI (Continuação).

Estado/Cidade	Número de amostras	% de positivos	Ponto de corte	Número com titulação final de:						Referências
				2 - 8	16	32	64	128	≥ 256	
Minas Gerais:										
Belo Horizonte	243	47,3	16	1	3	4				Guimarães et al., 1992
Uberlândia	300	36,7	16							Silva et al., 2007
Uberlândia	212	59,9	16	25	17	16	26	43		Silva et al., 2002
Belo Horizonte	22	40,9	16	1	3	11				Brandão et al., 2006.
Lavras	300	60,5	16	≥18						Guimarães et al., 2009
Uberlândia	218	52,7	64	2	115					Cabral et al., 1998. Rosado et al., 2004
Santa Catarina:										
Lages	200	26,0	16	27	12	13				de Moura et al., 2009
Camburiú	200	18,5	16	9	5,5	17				de Moura et al., 2009
São Paulo:										
Araçatuba	204	36,8	16	8	5	14	48			Genari et al., 2006
Araçatuba	108	23,1	64		10	15				Bresciani et al., 2007
Botucatu	1097	27,2	16							Ullmann et al., 2008
Botucatu	47	63,8	16	30						Salata et al., 1985
Botucatu	100	18,0	16	11	11	4				Da Silva et al., 2002
Botucatu (Rural)	100	56,0	16	32	19	5				Camossi et al., 2008
Botucatu	80	32,5	16	11	11	4				De Brito et al., 2002
Botucatu	111	22,50	16	8	5	12				Da Silva et al., 2005
Botucatu		33,1								Langoni et al., 2006
Botucatu										Langoni et al., 2012

Tabela 1. Soroprevalência de *Toxoplasma gondii* em cães no Brasil através da RIFI (Continuação).

Estado/Cidade	Número de amostras	% de positivos	Ponto de corte	Número com titulação final de:					Referências	
				2 - 8	16	32	64	128		≥ 256
São Paulo:										
Jaboticabal	276	46,00	40		32	51	17	16	Domingues et al., 1998	
Jaboticabal	203	36,00	40		73				Higa et al., 2000	
Avaré									Gonzalez et al., 2010	
Campinas	657	91,0							Germano et al., 1985	
São Paulo (VT)	210	72,0	16						Ishizuka et al., 1974	
São Paulo (Rua)	1256	63,88							Ishizuka e Yasuda, 1981	
São Paulo:										
São Paulo									Sogorb et al., 1972	
São Paulo		71,90							Larson, 1976	
São Paulo									Sogorb et al., 1977	
Noroeste	295	51,19	16						Varandas et al., 2001	
São paulo									Mineo et al., 2001	
São Paulo ^a	29	82,8	16		4	11	20	9	15	Ortolani et al., 2005
São Paulo ^b	61	56,0	16							Ortolani et al., 2005
Ubatuba	204	25,5	16		52					Silva et al., 2003
Mato Grosso:										
Cuiabá										Souza et al., 2001
Jauru	61	88,5	40							Santos et al., 2009
Leste do Amazonas ^c	325									Minervino et al., 2012
Rondônia:										
Monte Negro	157	76,40	16		4	12	8	14	82	Cañon-Franco et al., 2003
		77,90								Cavalcante et al., 2004
Rio de Janeiro:										
Rio de Janeiro	402	10,44	16		16					Presente trabalho
Aldeias indígenas: ^a Krucutu; ^b Morro da Saudade e ^c Karajá, e Tapirapé										

Estudo anterior no Rio de Janeiro utilizando a reação de Sabín e Feldman resultou em 79,2% de positividade para *T. gondii* (COUTINHO et al., 1968) em comparação com o nosso estudo, com 10,44%, onde provavelmente a diferença dos resultados são decorrente da época e da região onde os estudos foram desenvolvidos, uma melhor orientação dada hoje pelos profissionais médicos veterinários quanto a alimentação, manejo e conhecimento técnico, além da oferta de serviços, principalmente com a variedade de insumos como a ração comercial, o que justificaria a discrepância de resultados, além da grande interação homem animal, o que se repetiu em estudo com resultados semelhantes aos nossos, onde se observou 18,18% dos cães positivos para *T. gondii* pela Hemaglutinação Indireta (HAI) (DE FARIA et al., 2012) e quando se compara cães sororreagentes com sinais neurológicos, dos 42 cães, 9,52% (4 cães) apresentavam convulsão, resultado bem próximo da literatura, onde 8,14% dos cães sororreagentes pela RIFI apresentavam sinais (VARANDAS et al., 2001), o que sugeriu outros agentes etiológicos associados a toxoplasmose.

4.2.1 Idade e suas consequências

A faixa etária tem importância significativa na infecção por *T. gondii*, pois quanto mais idoso o animal, mais terá chance de adquirir a infecção (Tabela 2) concordando com os resultados de vários estudos, onde a idade é um perfil crescente para positividade (CABRAL et al., 1998; GARCIA et al., 1999; DE BRITO et al., 2002; BARBOSA et al., 2003; LANGONI et al., 2006; CAMOSSO et al., 2008; DA SILVA et al., 2009; GUIMARÃES et al., 2009) e que confirma a exposição pós-natal ao agente (CAÑÓN-FRANCO et al., 2004; DE MOURA et al., 2009). No presente estudo, foi observado diferença estatisticamente significativa para a presença de anticorpos contra *T. gondii* quanto à idade, semelhante aos observados em cães com menos de um ano (14,80%) e acima de um ano (70,20%) (BARBOSA et al., 2003), justificada pela maior probabilidade dos animais adultos terem contatos prévios com este parasito o que levaria à formação de anticorpos, tornando-se este, presente de forma definitiva, sendo mais fácil a detecção nestes animais (BARBOSA et al., 2003), no entanto pelas particularidades dos animais estudados, onde a média de idade é de 7,85 anos, nossos resultados mostram uma maior frequência (76,19%) em animais acima de 10 anos, semelhantes aos observados nos cães de idade

igual ou superior a sete anos quando comparada aos cães de menor idade (COUTINHO et al., 1968).

Tabela 2. Importância da faixa etária na infecção natural por *Toxoplasma gondii* em cães.

Características	Animais		Valor de <i>p</i>	Fator de Risco	IC 95% ^a
	Sorologia ^b	Valores			
3 meses – ≤10 anos	Positiva:	10 (2) ^c	0,0052	0,3972	0,2008 to 0,7860
	Negativa:	167 (42)			
>10 – 19 anos	Positiva:	32 (8)			
	Negativa:	193 (48)			
Total		402 (100)			

^a Usando aproximação de Katz

^b RIFI

^c Valores relativos em percentagem

Outros estudos observaram maior frequência em cães a partir de um ano (AZEVEDO et al., 2005; DA COSTA et al., 2013; SILVA FILHO et al., 2013), de 2 anos ou mais de idade (ISHIZUKA et al., 1974) e aos resultados observados quando a prevalência foi de 67,02% até 1 ano; 80,45% de 1 a 7 anos; 85,13% acima de 7 anos, principalmente devido ao fato que este grupo de estudo se referia a caninos com sinais clínicos compatíveis com a toxoplasmose, o que justificaria o elevado número de positivos em todas as faixas etárias (FREIRE et al., 1992), porém em determinados estudos onde se tem uma pré-seleção, seja pela presença de um ou mais sinais neurológicos e oculares utilizando diluição de corte 1:50, não há correlação com a idade na infectividade pelo *T. gondii* (PLUGGE et al., 2011), assim como no estudo avaliado pela RIFI, que revelou 91% de positividade onde os diferentes grupos etários mostraram-se igualmente infectados, provavelmente pela significância da infecção transplacentária (GERMANO et al., 1985).

A própria velhice que significaria uma maior frequência não é observada em nosso estudo, onde se observou uma queda acentuada nos resultados de 26,19% para 7,14%, sugerindo um resultado falso negativo principalmente devido ao envelhecimento, processo lento e contínuo que envolve mudanças em diversos órgãos e sistemas, inclusive o imune, com alterações em parâmetros imunológicos que podem implicar em deficiência na soroconversão (JAROSLOW et al., 1974; BAUER, 2005) e concordando que a maior frequência de infecção ocorre em cães adultos e a menor em animais velhos (AHMED et al., 1983) pois principalmente os idosos necessitam de desafios múltiplos para ocorrer soroconversão, o que não é observado no nosso estudo pelas características ambientais (JAROSLOW et al., 1974), porém se levarmos em consideração que os animais do atual estudo recebiam antibioticoterapia com frequência, pois apresentavam diversas morbidades concomitantes, que se faziam necessárias terapias antibióticas, pode-se concluir que, com base na sensibilidade do *Toxoplasma gondii* aos antibióticos utilizados com frequência, estas co-morbidades associadas aos respectivos tratamentos seriam fator de proteção para a toxoplasmose (GREENE et al., 1985; HACKER et al., 1998; ROTHOVA et al., 1998; BIRCHARD; SHERDING, 2003; TARLOW et al., 2005; DUBEY et al., 2009; PETERSON; KUTZLER, 2011; BARBOSA et al., 2012; HOFFMANN et al., 2012; HARTMANN et al., 2013), por tanto uma barreira a infecção por *T. gondii*, justificando uma queda da frequência expressiva conforme a idade no presente estudo, além do controle das manifestações clínicas da toxoplasmose, sem um sinal específico, estes se confundem com outras doenças típicas do animal idoso e associado a ausência da soroconversão, o que dificulta o diagnóstico, sendo este subestimado devido a não utilização de outras técnicas diagnósticas (BURG et al., 1989; MÜLLER et al., 1996; BRESCIANI et al., 2001; SCHATZBERG et al., 2003; AL-QASSAB et al., 2009; DUBEY, 2010), principalmente nos animais acima de 15 anos, o que significaria uma maior frequência, não observada em nosso estudo, de 26,19% para 7,14% (Tabela 3). Por se tratar em sua maioria de cães senis, onde 15,17% dos cães tinham idade superior a 15 anos e com doenças concomitantes, sejam elas agudas ou crônicas, ainda com a possibilidade dessas doenças serem responsáveis por imunossupressão, fator este responsável por facilitar a susceptibilidade para *T. gondii*, fato este, já assinalado por outro estudo (PAULAN et al., 2013), pois além da co-infecção ser capaz de agravar a condição clínica do paciente, pela ação patogênica dos parasitos (HARIKRISHNAN, 2005; LEAL et al., 2012), não foi observado no presente trabalho, pois as enfermidades clínica não foi observada no nosso estudo, a

sororreação foi diagnosticada concomitantemente nos cães e, apenas 10,44% tiveram sororreação para *T. gondii*, que associado ao estresse do paciente causado pela condição mórbida mais frequente em animais velhos, onde normalmente aumenta o número de casos positivos, não observado no presente trabalho e concordando com estudo semelhante que observou a maior frequência de infecção em cães adultos jovens, até 4 anos de idade e a menor em animais mais velhos (AHMED et al., 1983).

Tabela 3. Importância da Idade na infecção natural de *Toxoplasma gondii* em cães

Faixa etária em anos	Sorologia		χ^2	Valor de <i>P</i>
	Positiva	Negativa		
≤1	1	25		
>1 – ≤4	2	54		
>4 – ≤8	7	88		
>8 – ≤10	10	50	4,542	0,0331
>10 – ≤12	8	50		
>12 – ≤15	11	61		
>15	3	32		

4.2.2 Moradia

O local do estudo esta localizado em área urbana, porém como estabelecimento referência atende pacientes de diversas áreas do estado do Rio de Janeiro, escolhemos subdividir em área urbana e periferia (Tabela 4), a localização de áreas com características de periferia representam sítios e fazendas onde os animais terão maior chance de ingerir água contaminada com oocistos esporulados, caça ou mesmo carne com cistos originados de animais de produção quando forem dadas cruas aos animais, refletindo maior oportunidades de ingerir formas infectantes de *T. gondii* (DE SOUZA et al., 2003).

Tabela 4. Importância da localização na infecção natural por *Toxoplasma gondii* em cães.

Características	Animais		Valor de <i>p</i>	Fator de Risco	IC 95% ^a
	Sorologia ^b	Valores			
Urbano	Positiva:	39 (10) ^c	0,0571	0,2977	0,1127 - 0,7861
	Negativa:	354 (88)			
Periferia	Positiva:	03 (1)			
	Negativa:	06 (1)			
Total		402 (100)			

^a Usando aproximação de Katz

^b RIFI

^c Valores relativos em percentagem

Nossos resultados com *P* igual a 0,0571, são inferiores aos observados, tanto na área urbana como na periferia em estudos anteriores, com ocorrência nos cães rurais e urbanos de 34,3% (46 dos 134 cães) e 19,7% (219 dos 1110 cães) respectivamente (DE SOUZA et al., 2003) e de 46,82% (125/267) de cães soropositivos, respectivamente na zona urbana, na periferia, a prevalência de animais positivos foi 68,96% (20/29) dos cães (CARLETTI et al., 2002) e 47,30% (GUIMARÃES et al., 1992), provavelmente, o baixo número de animais proveniente da periferia justificaria a baixa ocorrência, pois existe associação entre cães positivos para *T. gondii* e a presença em ambiente de terra ou gramado, justificando o fator de Risco observado de 0,2977, quando comparados aos mantidos em ambiente cimentado (BRESCIANI et al., 2007), contribuindo ainda para os baixos números observados a assistência veterinária rotineiramente com orientação alimentar através de ração e provavelmente, acesso restrito à rua, já que o livre acesso representa fator de risco para infecção com *T. gondii* (CAÑÓN-FRANCO et al., 2004;

GUIMARÃES et al., 2009) assim como o constante contato com pequenos animais, principalmente aves e roedores comuns em sítios e fazendas (DE BRITO et al., 2002). Observando a frequência existente apenas nos animais da periferia do presente estudo, observamos 33,3% de positividade, semelhante aos observados em outros estudos (CARLETTI et al., 2002; DE SOUZA et al., 2003).

A moradia em apartamento é significativo fator de proteção em relação ao habitat diferente de apartamento (Tabela 5). A moradia diferente de apartamento se refere ao habitat onde oferece ao animal a possibilidade de ter um espaço onde à comida e água, servidas como alimentação favorece a infecção, pois animais, tais como pequenos roedores e pássaros, que vem a procura de comida e água, podem servir de presa e com isso favorecer a infecção por carnivorismo, pela ingestão de cistos de *T. gondii*, porém a frequência observada (10,44%), inferior a outros estudos com cães domiciliados (25,4%) (SILVA et al., 2010), 57,1% (FERNANDES; BARBOZA, 1972) (58,8 %) (CANON FRANCO et al., 2004), 63,80 % (ISHIZUKA; YASUDA, 1981), se explicaria pelo cuidado e manejo desses animais pelo responsável, se traduzindo na presença da assistência veterinária de rotina concordando com outros estudos (MINEO et al., 2004), além do acesso restrito à rua, já que o livre acesso representa fator de risco para infecção com *T. gondii* conforme outras conclusões (CAÑÓN-FRANCO et al. 2004; CAMOSSO et al., 2008; GUIMARÃES et al., 2009; DA SILVA et al., 2010) e havendo diferença significativa entre cães domiciliados e errantes quanto à presença de anticorpos contra *T. gondii*, onde 21,08% foram positivas para *T. gondii*, resultados em dobro em relação ao presente estudo, explicado pela presença de sinais neurológicos, compatíveis com toxoplasmose (PLUGGE et al., 2011).

4.2.3 Presença de outras espécies animais

Observa-se que quando vários animais habitam o mesmo espaço, haverá chance de contaminação entre espécies (Tabela 6), principalmente com a presença do gato, esta coabitação é significativa para a positividade da toxoplasmose já relatada em outros trabalhos (DUBEY; BEATTIE, 1988; BARBOSA et al., 2003; AZEVEDO et al., 2005; CAMOSSO et al., 2008; DE MOURA et al., 2009; PAULAN et al., 2013), ou mesmo dentro da mesma espécie, sendo um fator de risco a ser considerado (Tabela 6), a possibilidade de infecção poderá ocorrer, muitas das

vezes por coprofagia, ou ingerir passarinho e camundongos, estes considerados um praga em ambientes concordando com estudos anteriores (DE BRITO et al., 2002), além da xenosmofilia, hábito de lamberem-se uns aos outros e por carnivorismo com a ingestão de pássaros e pequenos roedores (FRENKEL; PARKER, 1996).

Tabela 5. Importância da habitação na infecção natural de cães por *Toxoplasma gondii*.

Características	Animais		Valor de <i>p</i>	Fator de Risco	IC 95% ^a
	Sorologia ^b	Valores			
Apartamento	Positiva:	19 (6,71) ^c	0,0005	0,3474	0,1967-0,6135
	Negativa:	264 (93,29)			
Outros	Positiva:	23 (23,95)			
	Negativa:	96 (76,05)			
Total		402 (100)			

^a Usando aproximação de Katz

^b RIFI

^c Valores relativos em percentagem

Gatos muitas das vezes podem ser responsabilizados pela transmissão feco-oral, porém quando são criados em ambientes reservados, onde a sua dieta é constituída por ração e alimentos industrializados, castrados, não há chance de transmitir a infecção (Tabela 7), associada ao hábito de não saírem para caçar e as condições higiênico-sanitárias da população em questão, de forma que fatores como saneamento básico, educação sanitária, fatores culturais e densidade de animais (TENTER et al., 2000) podem constituir-se em fatores de proteção, como no presente estudo, mesmo correlacionando com os tipos de moradias.

Tabela 6. Importância da convivência com a presença de outros animais na infecção natural por *Toxoplasma gondii* em cães.

Características	Animais		Valor de p	Fator de Risco	IC 95% ^a
	Sorologia ^b	Valores			
Presença	Positiva:	26 (6) ^c	0,0042	2,407	1,334 - 4,344
	Negativa:	136 (34)			
Ausência	Positiva:	16 (4)			
	Negativa:	224 (56)			
Total	402 (100)				

^a Usando aproximação de Katz; ^b RIFI; ^c Valores relativos em porcentagem

Tabela 7. Importância da presença de gatos na infecção natural por *Toxoplasma gondii* em cães.

Características	Animais		Valor de p	Fator de Risco	IC 95% ^a
	Sorologia ^b	Valores			
Sim	Positiva:	2 (0,50) ^c	1,000	0,7875	0,2023 - 3,066
	Negativa:	22 (5,50)			
Não	Positiva:	40 (10,00)			
	Negativa:	338 (84,00)			
Total	402 (100)				

^a Usando aproximação de Katz; ^b RIFI; ^c Valores relativos em porcentagem

4.2.4 Hábitos alimentares

A alimentação, fator importante na epidemiologia da toxoplasmose, pois cães alimentados com produtos de origem animal cru ou mal cozido tem prevalência relativamente alta de toxoplasmose do que cães alimentados com ração comercial (SHAHZAD et al., 2006), as conclusões da literatura é vasta em declarar que há associação significativa com consumo de comida caseira e água na positividade para toxoplasmose, a infecção é através de qualquer alimento com contaminação fecal, inclusive e principalmente a água contaminada com oocistos de *T. gondii* (TENTER et al., 2000; DE BRITO et al., 2002; BAHIA-OLIVEIRA et al., 2003; DE SOUZA et al., 2003; SILVA et al., 2010) não observado no nosso estudo (Tabela 8), o que sugerem, que a baixa frequência da toxoplasmose na região está relacionada com educação sanitária, medicina veterinária preventiva, alimentação comercial adequada e cozimento dos alimentos, visto que a maioria dos animais positivos não apresentou associação significativa com a ingestão de alimentos não comerciais, resultado este já observado em estudos anteriores (DA SILVA et al., 2009), porém é importante salientar que existe contaminação neste meio ambiente no qual o cão pode ter sido infectado na ocasião da alimentação com a mesma carne que serviu de consumo ao ser humano concordando com estudo anterior especialmente naqueles alimentados com ingredientes crus (BRITO et al., 2002; DE FARIA et al., 2012).

4.2.5 Gênero e suas consequências

O sexo neste estudo não foi relevante, pois os animais são criados em condições independente do sexo e expostos aos mesmos fatores (Tabela 9), semelhante a estudos onde não houve diferença significativa entre a proporção de animais positivos de acordo com o sexo (GARCIA et al., 1999; LANGONI et al., 2006; GUIMARÃES et al., 2009; PLUGGE et al., 2011), oposto aos encontrados em área urbana de Botucatu, SP com 17,3% (116/670), onde as fêmeas tiveram maior taxa de positividade para a infecção (DA COSTA et al., 2013) e ao observado em cães errantes da cidade de Salvador-Bahia, onde os machos (67,48%) e as fêmeas (58,82%) apresentaram anticorpos contra *T. gondii* e apesar do maior percentual observado nos machos, não houve diferença estatisticamente significativa (BARBOSA et al., 2003).

Tabela 8. Importância da alimentação na infecção natural por *Toxoplasma gondii* em cães.

Características	Animais		Valor de <i>p</i>	Fator de Risco	IC 95% ^a
	Sorologia ^b	Valores			
Industrializado	Positiva:	20 (5) ^c	0,6248	0,8312	0,4685 – 1,474
	Negativa:	190 (47)			
Não industrializado	Positiva:	22 (5)			
	Negativa:	170 (42)			
Total		402 (100)			

^a Usando aproximação de Katz

^b RIFI

^c Valores relativos em percentagem

Tabela 9. Importância do dimorfismo sexual na infecção natural por *Toxoplasma gondii* em cães.

Características	Animais		Valor de <i>p</i>	Fator de Risco	IC 95% ^a
	Sorologia ^b	Valores			
Machos	Positiva:	19 (5) ^c	0,2565	0,7114	0,4002 – 1,264
	Negativa:	197 (49)			
Fêmeas	Positiva:	23 (6)			
	Negativa:	163 (41)			
Total		402 (100)			

^a Usando aproximação de Katz

^b RIFI

^c Valores relativos em percentagem

4.2.6 Análises laboratoriais

Os exames complementares na clínica tem o objetivo de auxiliar o diagnóstico e acompanhar a evolução do paciente, a utilidade da determinação de alterações em perfis proteicos sanguíneos

deve ser a partir de uma interpretação genérica, pois os caracteres inespecíficos dos resultados encontrados principalmente em casos naturais conduzidos com base na anamnese e respectivas interpretações. Entre os resultados encontrados neste trabalho, pode-se observar que os valores de globulinas não são significativos ao serem correlacionados em cães soropositivos para *T. gondii* (Tabela 10), aliado ao fato dos animais estudados apresentarem outras morbidades, suas interpretações associadas ao exame clínico propriamente dito e a dificuldade pelas várias agentes etiológicas inclusive concomitantemente, principalmente em pacientes geriátricos, concordando que mudanças relacionadas na análise bioquímica do soro ocorrem com a idade (LOWSETH et al., 1990; STRASSER et al., 1993), o que exige atenção e a possibilidade de múltiplos diagnósticos (GOLDSTON; HOSKINS, 1999; GOUGH, 2007).

Os valores encontrados indicaram o aumento de proteínas a sororreação para *T. gondii*, porém não se pode afirmar que isto esteja somente associado à infecção natural por este agente etiológico (DE ABREU et al., 2001; YARIM et al., 2007), já que diversas alterações, inclusive aumento das globulinas estão relacionados a idade, doenças crônicas, explicando os resultados observados no presente estudo e semelhantes a outros (LOWSETH et al., 1990; STRASSER et al., 1997)., As doenças foram diagnosticadas e classificadas como: infecciosas, parasitárias, degenerativas, neoplásicas e outras e sua distribuição pelas faixas etárias foram concordante com a literatura consultada (DE NARDI et al., 2004; NORRIS et al., 2006; BENTUBO et al., 2007; DEZENGRINI et al., 2007; SILVA et al., 2007; FIGHERA et al., 2008a; ADAMS et al., 2010; TRAPP et al., 2010; FLEMING et al., 2011; LEAL et al., 2011b; SANTOS et al., 2012). A toxoplasmose infecção parasitária associada a outras etiologias observadas em cães de áreas urbanas no presente estudo estavam associadas à erliquiose, anaplasmose, dirofilariose, ancilostomose, dipilidiose, concordando com a literatura consultada (LABRUNA; PEREIRA, 1999; BIRCHARD; SHERDING, 2003; ETTINGER; FELDMAN, 2004; SALGADO, 2006; WHO, 2010; AHS, 2012) onde o aspecto bioquímico esta caracterizado normalmente por hiperproteinemia e hipergamaglobulinemia (DE ABREU et al., 2001; LEAL et al., 2012b) porém não observado no presente estudo. O aumento da globulina no soro em cães infectados esta relacionado com maiores títulos de imunoglobulina específica, anticorpos produzidos pelo sistema imunológico em resposta a infecção por *T. gondii* (YARIM et al., 2007), onde este coccídio estimularia a produção de imunoglobulinas, tendo como consequência a elevação das proteínas totais e as globulinas, significativo em estudo modelo (YARIM et al., 2007), esse

padrão não foi observado neste resultado (Tabela 11) devido ao fato de doenças concomitantes serem responsáveis por deficiência imunológica e perda de função de órgãos que são responsáveis pela competência do sistema imunológico, principalmente se for levado em consideração a faixa etária dos sororreagentes, onde 76,19% deles têm mais de 10 anos e segundo a literatura consultada (GOLDSTON; HOSKINS, 1999; BENTUBO et al., 2007; AGUIAR, 2012) ou como consequência de terapêutica necessária nas doenças neoplásicas ou imunomediadas conforme relatado (WEBB et al., 2005), possuem todas as características e deficiências assinaladas em cães idosos; portanto, o presente resultado foi semelhante a estudo modelo, onde alterações de proteínas do soro não tiveram significância no diagnóstico da toxoplasmose (YARIM et al., 2007).

Tabela 10. Determinação das faixas de globulina em cães sororreativos para *Toxoplasma gondii*

Diagnóstico	Sorologia		χ^2	Valor de <i>P</i>
	Positiva	Negativa		
Normoglobulinemia	5	44	0,002082	0,9636
Hipoglobulinemia	16	133		
Hiperglobulinemia	21	183		

Tabela 11. Influência da infecção natural por *Toxoplasma gondii* em relação às faixas de proteína plasmática.

Diagnóstico	Sorologia		χ^2	Valor de <i>P</i>
	Positiva	Negativa		
Normalbunemia	23	247	3,268	0,0707
Hipoalbumemia	14	87		
Hiperalbumemia	5	26		

4.2.7 Doenças concomitantes

Todos os cães sorreagentes para anti-*T. gondii* tiveram no mínimo uma doença, o que justificaria a procura pelo serviço de saúde médico veterinário e apesar do estresse causado pelas enfermidades, fator predisponente para a toxoplasmose, os resultados observados no presente estudo estiveram muito abaixo dos observados em estudo semelhante, onde 62,7% dos cães eram sorreagentes, provavelmente devido à década e a atenção médica veterinária dispensada aos cães pelos proprietários (AHMED et al., 1983).

Foram diagnosticadas doenças infecciosas (periodontite, cistite, pielonefrite, prostatite, gastrite, dermatite, enterite, otite, endocardite, conjuntivite, piometrite) em 29 cães, parasitárias em 26 (ancilostomose, dipilidiose, anaplasmose, erliquiose, dirofilariose, sarna, miiase), degenerativas (endocardiose, artrose, insuficiência renal, cardiomiopatia, microftalmia, espondiloartrose, colapso de traqueia, megaesôfago, catarata) em 20 e outras em 32 cães, constituídas de inflamatórias (bronquite, gastrite) em 10, endócrinas (hipotireoidismo, hiperadrenocorticismo e hipoadrenocorticismo) em 6, neurológicas (convulsão e hérnia discal) em 6, neoplásicas (hemangiossarcoma, osteossarcoma, lipoma) em 5, imunomediadas (AHIM e glomerulonefrite) em 4 e acidentais (torção gástrica) em 1 (Figura 4 e Tabela 12).

As infecções foram as alterações mais frequentemente observadas (Tabela 12), concordando com outros estudos, independente de soroconversão para *T. gondii* (FIGHERA et al., 2008; FLEMING et al., 2011), pelo menos com um agente etiológico, sendo as mais frequente a periodontite (Figura 5a,b), pielonefrite (Figura 5d), assim como a endocardite, provavelmente decorrentes de infecção autógenas, o que é concordante com a literatura (GIOSO, 2003; SPAGNOL et al., 2006; CAVAGUCHI et al., 2010; GLICKMAN et al., 2011; O'NEILL et al., 2013; VENTURA; DE OLIVEIRA, 2013; OLIVEIRA, 2013), além da ciniclomiose, infecção gástrica causada por *Cyniclomices guttulatus*, agente etiológico associado a um processo de gastrite (Figura 5c), concordando com estudos prévios em cães no Brasil (FLAUSINO et al., 2012; FURTADO et al., 2013). O número elevado de infecções observadas diverge de estudo semelhante, com cães adultos e idosos onde as afecções de maior ocorrência foram as neoplásicas, seguidas das degenerativas (AGUIAR, 2012).

Tabela 12. Distribuição das enfermidades entre as doenças diagnosticadas nos cães sororreativos para *Toxoplasma gondii* no Rio de Janeiro, RJ.

N.	Doenças	Número de casos	
		Absolutos (cães)	Relativos
1	Infecciosa	29	27,10
2	Parasitária	26	24,29
3	Degenerativa	20	18,69
4	Inflamatória	10	9,34
5	Endócrina	6	5,60
6	Neurológica	6	5,60
7	Neoplásica	5	4,67
8	Imunomediada	4	3,73
9	Acidentais	1	0,93
Totais		107	100,00

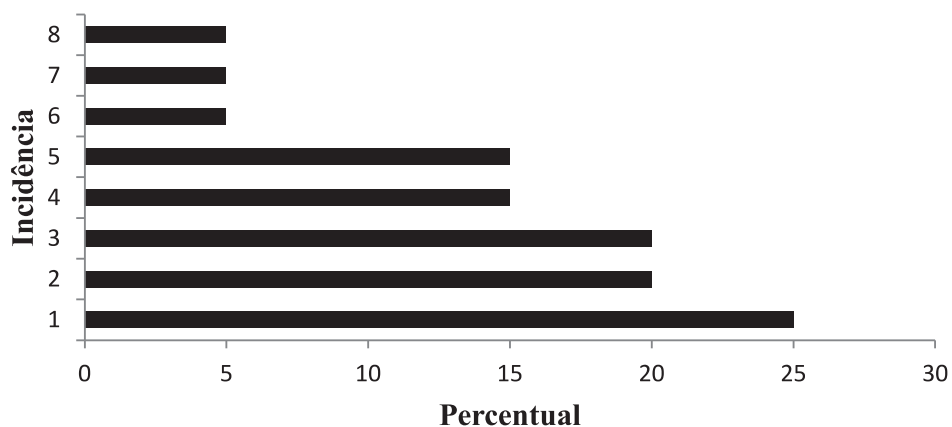


Figura 4. Incidência das Doenças Concomitantes em cães soropositivos para *Toxoplasma gondii*. **Legenda:** 1 – Infecciosas; 2 – Infecciosas + Parasitárias + Degenerativas; 3 – Infecciosas + Parasitárias; 4 – Parasitárias; 5 – Outras; 6 - Infecciosas + Parasitárias + Degenerativas + Neoplásicas + Outras; 7 – Neoplásicas e 8 - Degenerativas

Esses resultados são explicados pelo número de fêmeas no estudo e ao desconhecimento dos responsáveis sobre a importância do acompanhamento médico veterinário, profilático e manejo nas respectivas fases da vida dos cães, e provavelmente pela apresentação subclínica de grande parte das infecções ou, o não reconhecimento da periodontite como infecção, o que concorda com estudo prévio feito com proprietários de cães (DUBOC, 2009).

Doenças parasitárias (Tabela 13) ocorreram em 26 animais, sendo as mais frequentes causadas por agentes etiológicos pertencentes à família Anaplasmataceae-*lato sensu* (erliquiose, anaplasmoze) (Figura 6), parasitos gastrintestinais: *Ancylostoma caninum* (Figura 7a) e *Dipylidium caninum* normalmente associados a cães com sintomas de diarreia (DOS SANTOS et al., 2007) concordando em parte com a literatura vigente, onde as principais doenças parasitárias seriam verminoses (BENTUBO et al., 2007; FIGHERA et al., 2008a; TRAPP et al., 2010) e a dirofilariose pela *Dirofilaria immitis* (Figura 7b) conforme dados da literatura (FERNANDES et al., 1999; ALMEIDA et al., 2001; VEZZANI et al., 2011; AHS, 2012), com os sinais clínicos clássicos descritos em vários estudos anteriores (LABARTHE, et al., 1997; ALMEIDA et al., 2001; ETTINGER; FELDMAN, 2004; HOCH; STRICKLAND, 2008; AHS, 2012). Essa discordância foi no grande número de animais portadores de hemoparasitos concomitante a sororreação anti-T. gondii observada neste estudo, explicado pelo fato de quando ocorrem sinais clínicos nestes animais, na maioria das vezes, são inespecíficos e há necessidade de um diagnóstico mais preciso, com base nos resultados laboratoriais, principalmente quando é observada anemia, podendo ser consequência de hemólise, monocitose e trombocitopenia e hiperproteïnemia, associados ao exame físico onde se observa comumente quadros de febre, letargia, anorexia, hematúria e esplenomegalia (MORAIS et al., 2004; CARLOS et al., 2007; MIRANDA et al., 2008; SANTARÉM et al., 2008; LEAL et al., 2012) sendo esses sintomas inerentes há várias enfermidades observadas no cão idoso. Doenças degenerativas, em 20 animais (Tabela 14), as mais frequentes, artrose (Figura 8) e a insuficiência cardíaca (endocardiose e a miocardiopatia), sendo a endocardiose a doença mais observada no nosso estudo concordando com Atkins e Häggström (2012), com a frequência das doenças cardiovasculares aumentando com a idade do cão confirmado por estudos anteriores (STRASSER et al., 1997), o que estabelece um padrão de morbidades em cães que procuram

o serviço de saúde especializado (BENTUBO et al., 2007; FIGHERA et al., 2008a; TRAPP et al., 2010).

Tabela 13. Distribuição das patologias entre as doenças infecciosas diagnosticadas nos cães sororreativos para *Toxoplasma gondii* no Rio de Janeiro, RJ.

N.	Doenças	Número de casos	
		Absolutos	Relativos
1	Cistite	10	18,86
2	Periodontite	9	16,98
3	Pielonefrite	9	16,98
4	Otite	7	13,20
5	Prostatite	5	9,43
6	Dermatite	4	7,54
7	Enterite	4	7,54
8	Piometrite	2	3,77
9	Conjuntivite Endocardite	1	1,88
10	Gastrite	1	1,88
11	Endocardite	1	1,88
Totais		53	100,00

Tabela 14. Distribuição das doenças parasitárias diagnosticadas nos cães sororreativos para *Toxoplasma gondii* no Rio de Janeiro, RJ.

N.	Agente	Número de casos	
		Absolutos	Relativos
1	<i>Anaplasma platys</i>	22	66,66
2	<i>Ehrlichia canis</i>	7	21,21
3	<i>Ancylostoma caninum</i>	2	6,06
4	<i>Otodectes cynotis</i>	1	3,03
5	<i>Dipylidium caninum</i>	1	3,03
Totais		33	100

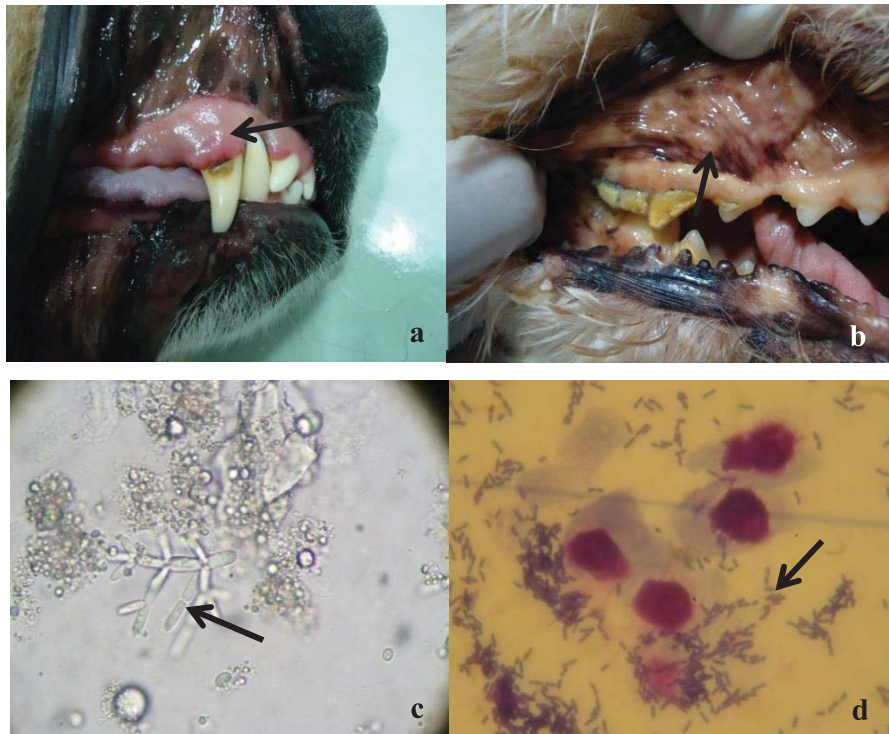


Figura 5. Periodontite (→) em dois cães (a,b), Pseudo hifas de *Cyniclomices guttulatus* (c) observado em lavado gátrico de um cão com suspeita de gastrite (→). Obj. 40X; e sedimento urinário (d) caracterizado por células de descamação e microrganismos (→) de um cão com suspeita de pielonefrite. Panótico. Obj. 100X.

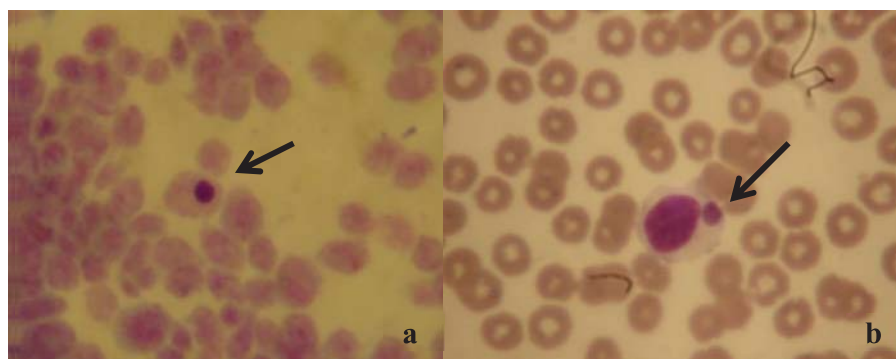


Figura 6. Presença de mórulas de *Anaplasma platys* em plaqueta (a) e *Ehrlichia canis* em mononuclear (b) de cão. Panótico. Obj. 100X.

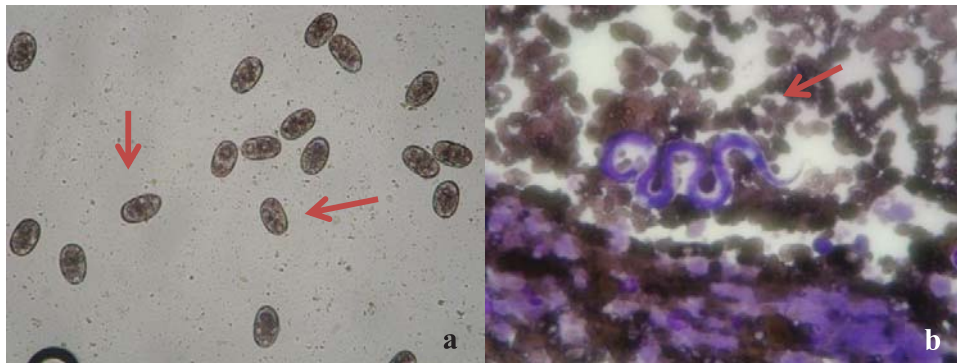


Figura 7. Ovos morulados de *Ancylostoma caninum* (a) nas fezes de cães. Solução de Sheater. Obj. 25X.; Exemplar de microfilária de *Dirofilaria immitis* (b) em estirado sanguíneo de concentrado de plaquetas e leucócitos. Panoptico. Obj. 40X.

A frequência da endocardiose observadas neste estudo é semelhante às observadas em estudos anteriores (ALMEIDA et al., 2006; ATKINS et al., 2009; TRAPP et al., 2010; BOTTE, 2012; DANK et al., 2012), endocardiose foi comum nos cães, principalmente com idade avançada e de pequeno porte, seguida pela miocardiopatia dilatada (CMD) (SPAGNOL et al., 2004; GONÇALVES, 2010).



Figura 8. Imagem radiográfica de um cão com alterações no membro locomotor posterior esquerdo caracterizada clinicamente como artrose coxofemoral (→).

Outras doenças foram diagnosticadas (Tabela 16), entre elas: doenças inflamatórias, observadas em 10 animais, com oito animais portadores de bronquite (Figura 9) e quatro animais portadores de gastrite (Figura 10), doenças neurológicas e endócrinas (hipotireoidismo, hiperadrenocorticismo e (hipoadrenocorticismo) observadas em seis animais com sinais e sintomas inespecíficos e associado a doenças concomitantes (KOENIG, 2013), concordando com a literatura que o hipotireoidismo é a doença endócrina mais observada em cães (BLOIS et al., 2011), doenças neoplásicas em cinco animais, sendo o órgão mais afetado o fígado e baço (hemangiossarcoma) (Figura 11) concordando com os observados na literatura (FROES, 2004; ADAMS et al., 2010; ALOIA et al., 2012; FLORES et al., 2013). Quando se comparou com estudo onde foram diagnosticadas a causa do óbito, as neoplásicas foram as que mais produziram o óbito (BONNETT et al., 1997; BONNETT et al., 2005), resultados divergentes dos observados no nosso estudo, porém se levarmos em consideração as neoplasias de vísceras parenquimatosas, esses seriam justificados por serem assintomáticas não havendo procura pelo serviço de saúde porém presentes em quase 80% dos cães idosos assintomáticos, podendo ser responsável pelo óbito por hemorragia aguda (SEOANE, 2012), principalmente devido ao fato do diagnóstico precoce propiciar o tratamento apropriado, porém em outros estudos, os resultados observados neste trabalho são conflitantes, onde o tumor de mama foi o mais observado (DE NARDI et al., 2004; OLIVEIRA FILHO et al., 2010; TORÍBIO, et al., 2012), provavelmente devido ao fato deste tipo de neoplasia ser mais facilmente visualizada pelos proprietário e esses buscarem atendimento veterinário precocemente. Em contrário a este fato onde quase 80% dos cães idosos sem manifestação clínica tiveram imagem ultrassonográfica sugestiva de neoplasia abdominal, o que não é percebido pelo proprietário (SEOANE, 2012; FLORES et al., 2013).

Tabela 15. Distribuição das doenças degenerativas diagnosticadas nos cães sororreativos para *Toxoplasma gondii* no Rio de Janeiro, RJ.

N.	Enfermidades	Número de casos	
		Absolutos	Relativos
1	Insuficiência Cardíaca	8	26,66
2	Displasia coxofemoral	7	23,33
3	Insuficiência Renal	4	13,33
4	Espondiloartrose	3	10,00
5	Luxação coxofemoral	2	6,66
6	Colapso de traqueia	1	3,33
7	Megaesôfago	1	3,33
8	Displasia escapulo-umeral	1	3,33
9	Luxação de patela	1	3,33
10	Microftalmia	1	3,33
11	Catarata bilateral	1	3,33
Totais		30	100

Tabela 16. Distribuição de outras doenças intercorrentes, diagnosticadas em cães sororreativos para *Toxoplasma gondii* no Rio de Janeiro, RJ.

Enfermidades	Diagnóstico		Número de casos ^a
	Clínico	Número de casos	
Inflamatórias			10 (31,25)
	Bronquite	7 (70)	
	Gastrite	3 (30)	
Endócrinas			6 (18,75)
	Hipotireoidismo	4 (66,66)	
	Hiperadrenocorticismo	1 (16,66)	
	Hipoadrenocorticismo	1 (16,66)	
Neurológica			6 (18,75)
	Convulsão	4 (66,66)	
	Hérnia discal	2 (33,32)	
Neoplásicas			5 (15,62)
	Hemangiossarcoma	3 (60)	
	Osteossarcoma	1 (20)	
	Lipoma	1 (20)	
Imunomediada			4 (12,5)
	Anemia Imunomediada	3 (75)	
	Glomerulonefrite	1 (25)	
Acidental			1 (3,12)
	Síndrome vólvulo-gástrica	1 (100)	
Total			32 (100)

^a Número relativo em parênteses

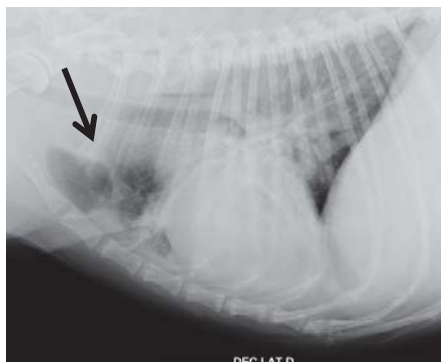


Figura 9. Imagem radiográfica com a caracterização de áreas consolidadas, envolvendo principalmente o lobo apical do pulmão de um cão clinicamente como bronquite (→).



Figura 10. Imagem ultra sonográfica do estômago de um cão com diagnóstico sugestivo de edema de mucosa gástrica (→).

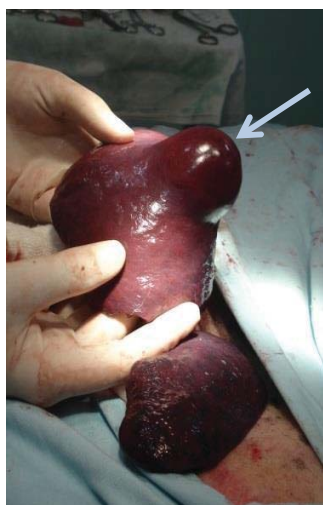


Figura 11. Nódulo neoplásico vermelho escuro em baço de um cão (→) caracterizado microscopicamente como hemangiosarcoma.

Doença imunomediada (Figura 12) em quatro animais: anemia hemolítica imuno-mediada, com sinais clínicos associados à anemia, auto aglutinação e esferócitos conforme estudos anteriores (LEITE et al., 2011; TAKAHIRA; MORAES, 2013) e a glomerulonefrite, e um cão atendido com a síndrome vólvulo-gástrica, patologia rara semelhantes as observações de Moore et al. (2001), demonstrando que o acompanhamento médico veterinário com manejo alimentar adequado promove uma diminuição significativa desse problema.



Figura 12. Diagnóstico de Anemia Hemolítica Imunomediada com a presença de esferócitos (►) e uma mórula de *Ehrlichia canis simile* em um neutrófilo (—►). Panoptico. Obj. 100X.

5. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Observa-se neste estudo que a baixa frequência nos cães de área urbana da região metropolitana do Rio de Janeiro pode estar relacionada ao ambiente ou habitat com a grande maioria das residências urbanizadas com infraestrutura sanitária, nível cultural e sócio econômico bastante satisfatório, com orientação e acompanhamento médico veterinário, o que é traduzido pela ingestão de alimentação apropriada, vacinação e profilaxias adequadas, repercutindo na média de idade elevada o que tem favorecido a observação principalmente de doenças crônicas e degenerativas comuns a idade avançada, porém ainda se observa com grande prevalência as doenças infecciosas e parasitárias, dentre estas a soro reatividade ao *T. gondii* foi diagnosticada, não devido aos sinais clínicos presentes característicos, e sim pela detecção da reação antígeno-anticorpo através da RIFI, o que é confiável, porém necessariamente não se pode traduzir como doença e apenas confirma que em determinado momento dos 402 cães estudados, 42 (10,44%) tiveram contato com os antígenos deste agente etiológico, assim como também foram todos acometidos por diversas outras doenças e condições mórbidas (100%), com o diagnóstico de 107 tipos de enfermidades. A clínica veterinária produz qualidade de vida aos cães que buscam o serviço especializado, através do diagnóstico e seu respectivo tratamento ou manejo da doença crônica ou degenerativa, tendo como consequência mais satisfação dos responsáveis e proprietários pela longevidade adquirida dos seus cães de estimação, com controle das patologias inerentes a espécie canina.

É de se considerar que doenças comuns nos cães, principalmente as orais, como as dependentes de higienização frequente dos dentes, traduzidas pela placa bacteriana e formação de cálculo dentário e infecções na gengiva (periodontite), que acarretam afecções a órgãos distantes, fato observado nos nossos resultados, como a principal infecção presente nos cães, sendo motivo de atuação mais incisiva do clínico na profilaxia e no tratamento como esforço para redução dos casos e estas possuem terapêutica antibiótica comum ao tratamento da toxoplasmose, como é o

caso da clindamicina, o que de certa forma provavelmente tem como consequência a baixa frequência observada nos resultados encontrados, assim como outros antibióticos utilizados com frequência para tratar infecções oportunistas ou não e tem atuação contra *T. gondii*, comuns nos animais idosos ou acima de 10 anos de idade, enrofloxacina, sulfas e suas associações, além da própria clindamicina, rotina na prescrição clínica, visto que animais endocrinopatas, portadores de neoplasias, insuficientes de órgão, doenças degenerativas, crônicas são geradores de estresse e associado a imunossupressão tem infecções frequentes, e com isso uma utilização de antibioticoterapia frequente, e por tanto uma barreira a infecção por *T. gondii*, justificando uma queda da frequência expressiva conforme a idade no presente estudo, além do controle com a ausência das manifestações clínicas da toxoplasmose, sem um sinal específico, estes se confundem com outras doenças típicas do animal idoso e a ausência da soroconversão para a toxoplasmose, principalmente nos animais acima de 15 anos, o que significaria uma maior frequência, não observada em nosso estudo, de 26,19% para 7,14%, sugerindo um resultado falso negativo principalmente devido ao envelhecimento implicando na soroconversão pois principalmente os idosos necessitam de desafios múltiplos para ocorrer a soroconversão, o que não é propiciado pelo ambiente em questão, portanto provavelmente não significaria ausência do agente nesses cães, no entanto o próprio tratamento inespecífico utilizado para outras enfermidades como as que foram observadas no presente estudo evitaria as manifestações clássicas que levariam a um diagnóstico diferencial e a utilização de outros meios de diagnóstico para a confirmação da toxoplasmose canina com o isolamento de *T. gondii*.

6. CONCLUSÕES

6.1 A sorologia positiva para anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* pela RIFI de cães procedentes de área urbana e peri-urbana encaminhados ao CTI Veterinário-Clínica 24 horas para atendimento foi baixa (10,44%), devido a eficiência do manejo utilizado.

6.2 A idade foi fator de risco de infecção, haja vista tratar-se de animais com idade que variaram de três meses até 19 anos, porém com a grande maioria acima de 10 anos, onde o manejo no seu habitat, nas residências de seus proprietários esteve relacionado à baixa infecção por *T. gondii* com base na amostragem analisada, provavelmente a residência clássica de casa, que favorece a presença de outros animais, aqui possivelmente representados por pássaros e pequenos roedores, visto que a moradia em apartamento oferece significativa proteção à infecção.

6.3 A presença de outras morbidades associadas principalmente às doenças crônicas e degenerativas em pacientes atendidos foram responsáveis pela interpretação dos resultados observados, onde sinais clínicos encontrados favorecem a maior dificuldade na determinação de sinais clínicos da Toxoplasmose. Mais ainda, se considerar que o agente etiológico desta doença tem caráter oportunista, sempre esteve associado a doenças imunossupressoras, endócrinas, metabólicas, virais, parasitárias, bacterianas e de caráter crônico em animais vertebrados homeotérmicos, concluindo que não ocorreu correlação positiva com nenhum grupo de doenças diagnosticadas e a toxoplasmose.

6.4 Todos os cães sororreagentes para *T. gondii* apresentavam doença ou condição mórbida com um total de 135 diagnósticos durante o atendimento, com 107 enfermidades.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBASI, M.; KOWALEWSKA-GROCHOWSKA, K.; BAHAR, M.A.; KILANI, R.T.; WINKLER-LOWEN, B.; GUILBERT, L.J. Infection of placental trophoblasts by *Toxoplasma gondii*. **Journal of Infectious Diseases**, v. 188, n. 4, p. 608-616, 2003.
- ADAMS, V.J.; EVANS, K.M.; SAMPSON, J.; WOOD, J.L.N. Methods and mortality results of a health survey of purebred dogs in the UK. **Journal of Small Animal Practice**, v. 51, n. 10, p. 512-524, 2010.
- AGUIAR, P.H.P.; SANTOS, S.O.; PINHEIRO, A.A.; BITTENCOURT, D.V.V.; COSTA, R.L.G.; JULIÃO, F.S.; SANTOS, W.L.C.; BARROUIN-MELO, S.M. Quadro clínico de cães infectados naturalmente por *Leishmania chagasi* em uma área endêmica do estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Produção Animal**, v. 8, n. 4, p. 283-294, 2007.
- AGUIAR, V.S. Frequência de atendimentos clínicos e das principais afecções ocorridas em cães (*Canis familiares*) senis em clínica veterinária na cidade de Manaus, AM. **Trabalhos de Conclusão de Curso**, n. 1, 2012. Disponível em: <<http://net.esbam.edu.br/ojs/ojs-2.3.4/index.php/TCC/article/view/88/64>>.
- AHMED, B.A.; GAAFAR, S.M.; WEIRICH, W.E.; KANIT, C.L. Relationship of *Toxoplasma* infections to other diseases. **Veterinary Parasitology**, v. 12, n. 2, 199-203, 1983.
- ALBERNAZ, A.P.; MIRANDA, F.J.B.; MELO JR, A.O.; MACHADO, J.A; FAJARDO, H.V. Erliquiose canina em Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 4, p. 799-806, 2007.
- ALENZA, M.D.; PENA, L.; CASTILLO, N.D.; NIETO, A.I. Factors influencing the incidence and prognosis of canine mammary tumours. **Journal of Small Animal Practice**, v. 41, n. 7, p. 287-291, 2000.

ALMEIDA, G.L.G.D.; FREITAS, L.X.D.; ALMEIDA, M.B.D.; OLIVEIRA, M.T.D.; BRAGA, F.; ALMEIDA JÚNIOR, G.L.G.D. Perfil clínico-epidemiológico da fibrilação atrial espontânea em cães; Clinical-epidemiological profile of spontaneous atrial fibrillation in dogs. **Revista da SOCERJ**, v. 19, n. 1, p. 20-28, 2006.

ALMEIDA, M.A.O.D.; BARROS, M.T.G.; SANTOS, E.P.; AYRES, M.C.C.; GUIMARÃES, J.E.; GONDIM, L.F.P. Parasitismo de cães por microfilárias de *Dirofilaria immitis*: influência da raça, sexo e idade, **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 2, n. 3, p. 59-64, 2001.

ALMOSNY, N.R.P.; MASSARD, C.L. Erliquiose em Pequenos Animais Domésticos e como Zoonose. **Hemoparasitoses em Pequenos Animais Domésticos e como Zoonoses**. Rio de Janeiro: Editora LF Livros de Veterinária Ltda, 2002. p. 13-56.

ALOIA, T.P.A.; BOSCH, R.V.; SANCHES, D.S.; DAGLI, M.L.Z.; HERNANDEZ-BLAZQUEZ, F.J.; COGLIATI, B. Retrospective study of hepatic neoplasms in dogs (1999-2012). **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 5, n. 3, p. 146-149, 2012.

AL-QASSAB, S.; REICHEL, M.P.; SU, C.; JENKINS D.; HALL, C.; WINDSOR, P.A.; DUBEY, J.P.; ELLIS, J. Isolation of *Toxoplasma gondii* from the brain of a dog in Australia and its biological and molecular characterization. **Veterinary Parasitology**, v. 164, n. 2-4, p. 335-339, 2009.

AMERICAN HEARTWORM SOCIETY. Current Canine Guidelines for the Diagnosis, Prevention, and Management of Heartworm (*Dirofilaria immitis*) Infection in Dogs and Cats. 2012. Disponível em: <<http://www.heartwormsociety.org/veterinary-resources/canine-guidelines.html#13>>. Acesso em: jul. 2013.

AMERICAN HEARTWORM SOCIETY. **Current Canine Guidelines for the Diagnosis, Prevention, and Management of Heartworm (*Dirofilaria immitis*) Infection in Dogs and Cats**. 2012. Disponível em: < <http://www.heartwormsociety.org/veterinary-resources/canine-guidelines.html#13> >. Acesso em: jul. 2013.

ANDRADE, M.B.; COLE, E.F.; EVÊNCIO NETO, J.; SILVA, A.C.; ALEIXO, G.A.; CUNHA, A.T. Escala de coma de Glasgow pediátrica modificada para cães; Pediatric Glasgow coma scale modified for dogs. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 62, n. 1, p. 47-53, 2010.

ANFRAY, P.; BONETTI, C.; FABBRINI, F.; MAGNINO, S.; MANCIANTI, F.; ABRAMO, F. Feline cutaneous toxoplasmosis: a case report. **Veterinary Dermatology**, v. 16, n. 2, p. 131-136, 2005.

ANGELO, M.J.D.O.; HAGIWARA, M.K.; JULY, J.R.; CARVALHO, R.P.D.S.; BACCARO, M.R. Isolamento de parvovirus canino no Brasil; Isolation of canine parvovirus in Brazil. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 25, n. 1, p. 123-34, 1988.

ANISIMOV, V.N. Biology of aging and cancer. **Carcinogenesis**, v. 14, n. 1, p. 23-31, 2007.

ARANTES, T.P.; LOPES, W.D.; FERREIRA, R.M.; PIERONI, J.S.; PINTO, V.M.; SAKAMOTO, C.A.; COSTA, A.J. *Toxoplasma gondii*: Evidence for the transmission by semen in dogs. **Experimental Parasitology**, v. 123, n. 2, p. 190-194, 2009.

ARAÚJO, F.G.; GUPTILL, D.R.; REMINGTON, J.S. Azithromycin, a macrolide antibiotic with potent activity against *Toxoplasma gondii*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 32, n. 5, p. 755-757, 1988.

ARIAS, S.S.A.; REZENDE, C.M.F.; ALVAREZ, A.; SOUZA, M.V. Prótese coxofemoral em cães: relato de dois casos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 5, 2004.

ARUNVIPAS, P.; JITTAPALAPONG, S.; INPANKAEW, T.; PINYOPANUWAT, N.; CHIMNOI, W.; MARUYAMA, S. Seroprevalence and risk factors influenced transmission of *Toxoplasma gondii* in dogs and cats in dairy farms in Western Thailand. **African Journal of Agricultural Research**, v. 8, n. 7, p. 591-595, 2013.

ASSIS J.; QUEIROZ, N.M.G.P.; SILVEIRA, R.C.; NUNES, C.M.; OLIVEIRA, T.M.F.S.; JUNIOR, A.C.F.N.; NEVES, M.F.; MACHADO, R.Z.; BUZETTI, W.A.S. Estudo comparativo dos métodos diagnósticos para leishmaniose visceral em cães oriundos de Ilha Solteira, SP. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 1, p. 17-25, 2010.

ATKINS, C.; BONAGURA, J.; ETTINGER, S.; FOX, P.; GORDON, S.; HAGGSTROM, J.; STEPIEN, R. Guidelines for the diagnosis and treatment of canine chronic valvular heart disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 6, p. 1142-1150, 2009.

- AZEVEDO, S.S.; BATISTA, C.S.; VASCONCELLOS, S.A.; AGUIAR, D.M.; RAGOZO, A.M.; RODRIGUES, A.A.; ALVES, C.J.; GENNARI, S.M. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, northeast region of Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 79, n. 1, p. 51–56, 2005.
- BAHIA-OLIVEIRA, L.M.G.; JONES, J.L.; AZEVEDO-SILVA, J.; ALVES, C.C.; ORÉFICE, F.; ADDISS, D.G. Highly Endemic, Waterborne Toxoplasmosis in North Rio de Janeiro State, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 9, n. 1, p. 55, 2003.
- BAKER, J.L.; HAVAS, K.A.; MILLER, L.A.; LACY, W.; SCHLANSER, J. Gunshot wounds in military working dogs in Operation Enduring Freedom and Operation Iraqi Freedom: 29 cases (2003–2009). **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 23, n. 1, p. 47-52, 2013.
- BALFOUR, A.H.; FLECK, D.G.; HUGHES, H.P.; SHARP, D. Comparative study of three tests (dye test, indirect haemagglutination test, latex agglutination test) for the detection of antibodies to *Toxoplasma gondii* in human sera. **Journal of Clinical Pathology**, v. 35, n. 2, p. 228-232, 1982.
- BARBOSA, B.F.; GOMES, A.O.; FERRO, E.A.V.; NAPOLITANO, D.R.; MINEO, J.R.; SILVA, N.M. Enrofloxacin is able to control *Toxoplasma gondii* infection in both in vitro and in vivo experimental models. **Veterinary Parasitology**, v. 187, n. 1, p. 44-52, 2012.
- BARBOSA, M.V.F.; GUIMARÃES, J.E.; ALMEIDA, M.A.O.; GONDIM, L.F.P.; REGIS, G.B. Frequência de anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* em soros de cães errantes da cidade de Salvador-Bahia. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, n. 6, p. 457-465, 2003.
- BARRS, V.R.; MARTIN, P.; BEATTY, J.A. Antemortem diagnosis and treatment of toxoplasmosis in two cats on cyclosporin therapy. **Australian Veterinary journal**, v. 84, n. 1-2, p. 30-35, 2006.
- BARTGES, J.; BOYNTON, B.; VOGT, A.H.; KRAUTER, E.; LAMBRECHT, K.; SVEC, R.; THOMPSON, S. AAHA canine life stage guidelines. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 48, n. 1, p. 1-11, 2012.
- BATTERSBY, I. A., MURPHY, K. F., TASKER, S., & PAPASOULIOTIS, K. Retrospective study of fever in dogs: laboratory testing, diagnoses and influence of prior treatment. **Journal of Small Animal Practice**, v. 47, n. 7, p. 370-376, 2006.

BAUER, M.E. Stress, glucocorticoids and ageing of the immune system. **International Journal on the Biology of Stress**, v. 8, n. 1, p. 69-83, 2005.

BECO, L.; GUAGUÈRE, E.; MÉNDEZ, C.L.; NOLI, C.; NUTTALL, T.; VROOM, M. Suggested guidelines for using systemic antimicrobials in bacterial skin infections: part 2—antimicrobial choice, treatment regimens and compliance. **Veterinary Record**, v. 172, n. 6, p. 156-160, 2013.

BELLUMORI, T.P.; FAMULA, T.R.; BANNASCH, D.L.; BELANGER, J.M.; OBERBAUER, A.M. Prevalence of inherited disorders among mixed-breed and purebred dogs: 27,254 cases (1995–2010). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 242, n. 11, p. 1549-1555, 2013.

BENTUBO, H.D.L.; TOMAZ, M.A.; BONDAN, E.F.; LALLO, M.A. Expectativa de vida e causas de morte em cães na área metropolitana de São Paulo (Brasil). **Ciência Rural**, v. 37, n. 4, p. 1021-1026, 2007.

BERG, J.M.; JOSEPH, R.J. Cerebellar infarcts in two dogs diagnosed with magnetic resonance imaging. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 39, n. 2, p. 203-207, 2003.

BERGKNUT, N.; RUTGES, J. P.; KRANENBURG, H.J.C.; SMOLDERS, L.A.; HAGMAN, R.; SMIDT, H.J.; DHERT, W.J. The dog as an animal model for intervertebral disc degeneration? **Spine**, v. 37, n. 5, p. 351-358, 2012.

BERNSTEEN, L.; GREGORY, C.R.; ARONSON, L.R.; LIRTZMAN, R.A.; BRUMMER, D.G. Acute toxoplasmosis following renal transplantation in three cats and a dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 215, n. 8, p. 1123, 1999.

BERREBI, A.; KOBUCH, W.E.; SARRAMON, M.F.; FOURNIÉ, A.; BESSIERES, M.H.; ROQUES, C.; BLOOM, M.; ROLLAND, M. Termination of pregnancy for maternal toxoplasmosis. **Lancet**, v. 344, n. 8914, p. 36-39, 1994.

BETTIOL, S.S.; OBENDORF, D.L.; NOWARKOWSKI, M.; MILSTEIN, T.; GOLDSMID, J.M. Earthworms as paratenic hosts of toxoplasmosis in eastern barred bandicoots in Tasmania. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 36, n. 1, P.145-148, 2000.

BHATTACHARYA, S.; DUTTA, B.; MUKHERJEE, J.; CHAKRABORTY, G.; MITRA, M. Hepatocellular carcinoma in a dog—a case report. **Exploratory Animal and Medical Research**, v. 2, n. 1, p. 88-91, 2012.

- BIRCHARD S.J.; SHERDING R.G. **Clínica de Pequenos Animais (Manual Saunders)**. Editora Roca, São Paulo, 2003. 1793 p.
- BLAGBURN, B.L.; DILLON, A.R.; ARTHUR, R.G.; BUTLER, J.M.; NEWTON, J.C. Comparative efficacy of four commercially available heartworm preventive products against the MP3 laboratory strain of *Dirofilaria immitis*. **Veterinary Parasitology**, v. 176, n. 2, p. 189–194, 2011
- BLEVINS, W.E. Ultrasonography for cancer diagnosis and monitoring. MORRISON, W.B. **Cancer in Dogs and Cats: Medical and Surgical Management**. 2.ed. Baltimore: Teton New Media, 2002. p. 159-176.
- BLOIS, S.L.; DICKIE, E.; KRUTH, S.A.; ALLEN, D.G. Multiple endocrine diseases in dogs: 35 cases (1996-2009). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 238, n. 12, p. 1616-1621, 2011.
- BOJRAB, M.J. **Técnicas Atuais em Cirurgia de Pequenos Animais**. 3 ed. São Paulo: Roca, 2005. 896 p.
- BOJRAB, M.J. **Mecanismos da Moléstia na Cirurgia de Pequenos Animais**, 1 ed., Manole, 1996, 1472 p.
- BONNETT, B.N.; EGENVALL, A.; HEDHAMMAR, Å.; OLSON, P. Mortality in over 350,000 insured Swedish dogs from 1995–2000: I. Breed-gender-, age-and cause-specific rates. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 46, n 3, p. 105, 2005.
- BONNETT, B.N.; EGENVALL, A.; OLSON, P.; HEDHAMMAR, Å. Mortality in insured Swedish dogs: rates and causes of death in various breeds. **Veterinary Record**, v. 141, n. 2, p. 40-44, 1997.
- BOOTHROYD, J.C.; HEHL, A.; KNOLL, L.J.; MANGER, I.D. The surface of *Toxoplasma gondii*: more and less. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 1, p. 3-9, 1998.
- BORJA-CABRERA, G.P.; PONTES, C.N.N.; DA SILVA, V.O.; SOUZA, E.P.; SANTOS W.R.; GOMES, E.M.; LUZ, K.G.; PALATNIK, M.; SOUSA, C.B.P. Long lasting protection against canine kala-azar using the FML-Quil-A saponin vaccine in an endemic area of Brazil (São Gonçalo do Amarante, RN). **Vaccine**, v. 20, n. 27, p. 3277-84, 2002
- BOTTE, J.M.C.S. **Correlações entre achados ecocardiográficos e parâmetros de qualidade de vida em cães com doença degenerativa crônica da válvula mitral**. 2012. 147 p. Dissertação (Medicina Veterinária) - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2012.

- BRACCINI, G.L.; CHAPLIN, E.L.; STOBE, N.S.; ARAÚJO, F.A.P.; SANTOS, N.R. Resultados de exames laboratoriais realizados no setor de protozoologia da Faculdade de Veterinária da UFRGS, Porto Alegre, nos anos de 1986 a 1990. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 20, n., p. 134-149,1992.
- BRANDÃO, G.P.; FERREIRA, A.M.; MELO, M.N.; VITOR, R.W.A. Characterization of *Toxoplasma gondii* from domestic animals from Minas Gerais, Brazil. **Parasite**, v. 13, n. 2, p. 143–149, 2006.
- BRASIL. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília, Ministério da Saúde, 1.^a edição, 2006. 120p.
- BRAY, JP.; BURBIDGE, H.M. The canine intervertebral disk. Part Two: Degenerative changes--nonchondrodystrophoid versus chondrodystrophoid disks. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 34, n. 2, p. 135-144, 1998.
- BRESCIANI, K.D.S.; COSTA, A.J.; NUNES C.M.; SERRANO, A. C. M.; MOURA, A.B.; STOBBE, N.S.; PERRI, S.H.V.; DIAS R.A.; GENNARI, S.M. Ocorrência de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* e estudo de fatores de risco em cães de Araçatuba-SP. **Ars Veterinaria**, v. 23, n. 1. p. 40-46, 2007.
- BRESCIANI, K.D.S.; COSTA, A.J.; TONIOLLO, G.H.; SABATINI, G.A.; MORAES, F.R.; PAULILLO, A.C.; FERRAUDO, A.S. Experimental toxoplasmosis in pregnant bitches. **Veterinary Parasitology**, v. 86, n. 2, p. 143-145, 1999.
- BRESCIANI, K.D.S.; TONIOLLO, G.H.; COSTA, A.J.D.; SABATINI, G.A.; MORAES, F.R.D. Clinical, parasitological and obstetric observations in pregnant bitches with experimental toxoplasmosis. **Ciência Rural**, v. 31, n. 6, p.1039-1043, 2001.
- BRISSON, B.A. Intervertebral disc disease in dogs. **Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 40, n. 5, p. 829, 2010.
- BRITO, A.F.; SOUZA, L.C.; SILVA, A.V.; LANGONI, H. Epidemiological and Serological Aspects in Canine Toxoplasmosis in Animals with Nervous Symptoms. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n. 1, p. 31-35, 2002.
- BROWN, S.A. Fluoroquinolones in animal health. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 19, n. 1, p. 1-14, 1996.

BROWNLEE, L.; SELTON, R.K. Diagnosis of naturally occurring toxoplasmosis by bronchoalveolar lavage in a cat. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 37, n. 3, p. 251, 2001.

BRUIX, J.; SHERMAN, M. Management of hepatocellular carcinoma. **Hepatology**, v. 42, n. 5, p. 1208-1236, 2005.

BRUNETTO, M.A.; TESHIMA, E.; PRUDENTE, S.; NOGUEIRA, J.T.J.; CARCIOFI, A.C. Manejo nutricional nas doenças hepáticas. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 35, Supl. 2, p. 233-235, 2007.

BURG, J.L.; GROVER, C.M.; POULETTY, P.; BOOTHROYD, J.C. Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 27, n. 8, p. 1787-1792, 1989.

CABRAL, D.D.; SILVA, D.A.O.; MINEO, J.R.; FERREIRA, F.A.; DURAN, F.P. Frequency of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in apparently healthy dogs of the City of Uberlândia-MG. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 7, n. 2, p. 87-90, 1998.

CAMARGO, M.E.; FERREIRA, A.W.; ROCCA, A.; BELEM, Z.R. Um teste prático para a sorologia da toxoplasmose: o teste de hemaglutinação; estudo comparativo com os testes de imunofluorescência e imunoenzimático de captura de IgM; A practical test for serology of toxoplasmosis: the hemagglutination test; comparative study with immunofluorescence tests and IgM uptake immunoenzymatic assay. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, v. 22, n. 6, p. 196-201, 1986.

CAMARGO, M.E.; LESER, P.G.; GUARNIERI, D.; ROCCA, A. Padronização de testes sorológicos para toxoplasmose, problema urgente da patologia clínica. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, v. 13, n. 1, p. 1-5, 1977.

CAMARGO-NEVES, V.L.F.; RODAS, L.A.C.; JÚNIOR, C.P. Avaliação da Efetividade da Utilização de Coleiras Impregnadas com Deltametrina a 4% para controle da Leishmaniose Visceral Americana no Estado de São Paulo: Resultados Preliminares. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 1, n. 12, 2004.

CAMOSSO, L.G.; FACCIOLI, P.Y.; MENOZZI, B.D.; DAHER, S.R.; LANGONI, H. Environmental risk factors for canine toxoplasmosis in a deprived district of Botucatu, SP, Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins, Including Tropical Diseases**, v. 14, n. 3, p. 450-465, 2008.

CAÑÓN-FRANCO, W.A.; BERGAMASCHI, D.P.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.; SILVA, J.C.; PINTER, A.; GENNARI, S.M. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in dogs in the urban area of Monte Negro, Rondônia, Brazil. **Veterinary Research Communications**, v. 28, n. 2, p. 113–118, 2004.

CAÑÓN-FRANCO, W.A.; BERGAMASHI, D.P.; RICHTZENHAN, L.J.; NOGUEIRA, Y.; CAMARGO, L.M.A.; SOUZA, S.L.P.; GENARI, S.M. Evaluation of the performance of the modified direct agglutination test (MAT) for detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 40, n., p. 452-456, 2003.

CAPEN, C.C.; COLE, C.R. Pulmonary Lesions in dogs with experimental and naturally occurring toxoplasmosis. **Pathologia Veterinaria Online**, v. 3, n. 1, p. 40-63, 1966.

CARDOSO, M.; MACHADO, L.; MOUTINHO, F.Q.; PADOVANI, C.R. Sinais clínicos do linfoma canino. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 2, p. 19-24, 2005.

CARINI, A. Infection spontanée du pigeon et du chien due au *Toxoplasma cuniculi*. **Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique**, v. 4, p.518-519, 1911.

CARLETTI, R.T.; CONTENTE, A.P.A.; NAVARRO, I.T.; PRUDENCIO, L.B.; TSUTSUI, V.S.; MARANA, E.R.M.; ROMÃO, G.O. Surto de toxoplasmose em santa Isabel do Ivaí-PR, Brasil: sorologia em animais domésticos. **Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 29, Anais** 2002, p. 60. Gramado, SMVRGS: Porto Alegre, 2002.

CARLOS, R.S.; MUNIZ N.E.S.; SPAGNOL, F.H.; OLIVEIRA, L.L.; BRITO, R.L.D.; ALBUQUERQUE, G.R.; ANDREOTTI, R. Frequência de anticorpos anti-Ehrlichia canis, Borrelia burgdorferi e antígenos de Dirofilaria immitis em cães na microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 16, n. 3, p. 117-120, 2007.

CARLOS, R.S.A.; ALBUQUERQUE, G.R.; BEZERRA, R.A.; SICUPIRA, P.M.L.; MUNHOZ, A.D.; LOPES, C.W.G. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e principais fatores de risco associados à infecção canina na região de Ilhéus-Itabuna, estado da Bahia. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 32, n. 2, p.115-121, 2010.

CASSOL, D.M.S.; PRETTE, N.; GOMIDE, L.W.; OLIVEIRA, G.P.; MARSON, F.A.; COSTA, A.J. Pesquisa de anticorpos contra *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em bovinos leiteiros, cães e humanos da Região Nordeste do Estado de São Paulo. **Hora Veterinária**, v. 24, n. 145, p. 23-26, 2005.

CAVAGUCHI, D.K.; PINCELLI, V.A.; BOCHIO, M.M.; RIBEIRO, R.D.C.L.; BRACARENCE, A.P.F.R.L.; PEREIRA, P.M. Aspectos clínico-patológicos e epidemiológicos da endocardite bacteriana em cães: 28 casos (2003-2008). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 31, n. 1, p. 183-190, 2010.

CAVALCANTE, G.T.; AGUIAR, D.M.; CHIEBAO, D.P.; MEIRELES, L.R.; ANDRADE, H.F.; CAMARGO, L.M.A.; LABRUNA, M.B.; RUIZ, V.L.A.; GENARI, S.M. **Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, 13, *Anais* 2004, p. 217, Ouro Preto, MG. CBPV: Jaboticabal, 2004.

CHADWICK, E.A.; CABLE, J.; CHINCHEN, A.; FRANCIS, J.; GUY, E.; KEAN, E.F.; PAUL, S.C.; PERKINS, S.E.; SHERRARD-SMITH, E.; WILKINSON, C.; FORMAN, D.W. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in the Eurasian otter (*Lutra lutra*) in England and Wales. **Parasites & Vectors**, v. 6, n. 1, p. 75, 2013.

CHAGAS, E.; CUNHA, A.M.; CASTRO, G.O.; FERREIRA, L.C.; ROMANA, C. Leishmaniose visceral Americana (Nova entidade mórbida do homem na América do Sul). Relatório dos trabalhos realizados pela comissão encarregada do estudo em leishmaniose visceral Americana em 1936. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 32, n. 1, p. 21-390, 1937.

CHALMERS, H.J.; NYKAMP, S.; LERER, A. The Ontario Veterinary College Hip Certification Program—Assessing inter-and intra-observer repeatability and comparison of findings to those of the Orthopedic Foundation for Animals. **Canadian Veterinary Journal**, v. 54, n. 1, p. 42, 2013.

CHAMAS, P.P.C.; SALDANHA, I.R.R.; COSTA, R.L.O. Prevalência da doença degenerativa valvar crônica mitral em cães; Prevalence of mitral valve chronic degenerative disease in dogs. **Journal of the Health Sciences Institute**, v. 29, n. 3, p. 214-218, 2011.

CHAMBERLAIN, D.; DOCTON, F.; COLE, R.C. Toxoplasmosis, II. Intra-uterine infection in dogs, premature birth and presence of organisms in milk. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 82, n. 2, p. 198-200, 1953.

CHAPLIN, E.L.; SILVA, N.R.S.; KESSLER, R.H.; SOUZA, S.G. Prevalência de cães sorologicamente positivos para *Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceuax, 1908), internados no Hospital de Clínicas Veterinárias da Faculdade de Veterinária UFRGS. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 8, n., p. 85-88, 1980.

CHAPLIN, E.L.; SILVA, N.R.S.; SEBEN, J.CL; ARAÚJO, F.A.P.; MENDEZ, L.D.V. Cadeia epidemiológica de toxoplasmose em Guaporé, RS, relacionando humanos e seus animais domésticos. **Arquivos da Faculdade de Veterinária da UFRGS**, v. 12, n., p. 25-34, 1984.

CHERRONE, K.L.; DEWEY, C.W.; COATES, J.R.; BERGMAN, R. L. A retrospective comparison of cervical intervertebral disk disease in nonchondrodystrophic large dogs versus small dogs. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 40, n. 4, p. 316-320, 2004.

CHESSUM, B.S. Reactivation of *Toxoplasma* oocyst production in the cat by infection with *Isospora felis*. **British Veterinary Journal**, v. 128, n. 7, p.33–36, 1972.

CHETBOUL, V.; DASTE, T.; GOUNI, V.; CONCORDET, D.; TREHIOU-SECHI, E.; SERRES, F.; LEFEBVRE, H.P. Renal resistive index in 55 dogs with degenerative mitral valve disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 26, n. 1, p. 101-108, 2012.

CHINCHILLA, M.; GUERRERO, O.M.; CASTRO, A.; SABAH, J. Cockroaches as transport hosts of the protozoan *Toxoplasma gondii*. **Revista de Biologia Tropical**, v. 42, n. 1-2, p. 329-331, 1994.

CHORDI, A.; WALLS, K.W.; KAGAN, I.G. Studies on the specificity of the indirect hemagglutination test for toxoplasmosis. **Journal of Immunology**, v. 93, n. 6, p. 1024-1033, 1964.

CIRILLO, J.V. Tratamento quimioterápico das neoplasias mamárias em cadelas e gatas. Chemotherapeutic treatment of mammary neoplasms in female dogs and cats. **Revista do Instituto Ciência e Saúde**, v. 26, n. 3, p. 325-327, 2008.

COELHO, C.D. **Detecção de anticorpos séricos anti-*Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) em cães domiciliares, com infecção natural e experimental, pelos métodos de hemaglutinação e imunofluorescência indireta**. 47 p. Tese (Ciências Veterinárias) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 1996.

COSTA, D.G.C.; MARVULO, M.F.V.; SILVA, J.S.A.; SANTANA, S.C.; MAGALHÃES, F.J.R., LIMA FILHO, C.D.F.; RIBEIRO, V.O.; ALVES, L.C., MOTA, R.A.; DUBEY, J.P.; SILVA, J.C.R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic and wild animals from the Fernando de Noronha, Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 98, n. 3, p. 679-80, 2012.

- COUTINHO, S.G.; ANDRADE, C.M.; LOPES, A.C.; CHIARINI, C.; FERREIRA, L.P. Observações sobre a presença de anticorpos para *Toxoplasma gondii* em cães de área suburbana do Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 2, n., p. 285-295, 1968.
- CUNHA, A.M.; CHAGAS, E. Nova espécie de protozoário do gênero *Leishmania* patogênico para o homem. *Leishmania chagasi* n.sp. Nota Prévia. **Hospital**, v. 11, n. 1, p. 3-9. 1937.
- CUNHA, F.M.; SILVEIRA, L.M.G.; XAVIER, J.G.; ALLEGRETTI, L.; BOVINO, E.E. Linfoma multicêntrico em *Canis familiaris* (cão doméstico): estudo retrospectivo de 60 casos, entre agosto de 2009 e dezembro de 2010, no Município de São Paulo-SP. **Journal of the Health Sciences Institute**. v. 29, n. 4, p. 209-301, 2011
- DA ROCHA, E.M.; NUNES, A.A.; FLAUSINO, W.; DA ROCHA, M.N.M.; DE SOUZA, W.J.S.; LOPES C.W.G. Cats and dogs as risk factors for pregnant women on *Toxoplasma gondii* infection at the Region of Araguaína in the State of Tocantins, Brazil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n. 2, p. 79-82, 2012.
- DA SILVA, A.V.; CUTOLO, A.A.; LANGONI, H. Comparação da reação de imunofluorescência indireta e do método aglutinação direta na detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 1, p. 7-11, 2002.
- DA SILVA, A.V.; GONÇALVES, G.F.; LIVERO, F.A. DOS R.; BOTTIN, J.M.P.; BELINATO, F.C.; BASTOS JUNIOR, E.A.; DA SILVA, R.C.; LANGONI, H. Avaliação de fatores epidemiológicos na ocorrência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* em cães atendidos em um hospital universitário. **Veterinária e Zootecnia**, v. 16, n. 1, p. 239-247, 2009.
- DA SILVA, A.V.; PEZERICO, S.B.; DE LIMA, V.Y.; D'ARC MORETTI, L.; PINHEIRO, J.P.; TANAKA, E.M.; RIBEIRO, M.G.; LANGONI, H. Genotyping of *Toxoplasma gondii* strains isolated from dogs with neurological signs. **Veterinary Parasitology**, v. 127, n. 1, p. 23-27, 2005.
- DA SILVA, R.C.; DE LIMA, V.Y.; TANAKA, E.M.; DA SILVA, A.V.; DE SOUZA, L.C.; LANGONI, H. Risk factors and presence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in dogs from the coast of São Paulo State, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 161-166, 2010.

DANK, G.; SEGEV, G.; MOSHE, D.; KENT, M.S. Follow-up study comparing necropsy rates and discrepancies between clinical and pathologic diagnoses at a veterinary teaching hospital: 2009 versus 1989 and 1999. **Journal of Small Animal Practice**, v. 53, n. 12, p. 679-683, 2012.

DAVIDSON, M.G. Toxoplasmosis. **Veterinary Clinic of North America: Small Animal Practitioner**, v. 30, n.5, p. 1051-1062, 2000.

DAVIS, H.; JENSEN, T.; JOHNSON, A.; KNOWLES, P.; MEYER, R.; RUCINSKY, R.; SHAFFORD, H. AAHA/AAFP Fluid Therapy Guidelines for Dogs and Cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 49, n. 3, p. 149-159, 2013.

DAY, M.J.; HORZINEK, M.C.; SCHULTZ, R.D. WSAVA guidelines for the vaccination of dogs and cats. **Journal of Small Animal Practice**, v. 51, n. 6, p. 1-32, 2010.

DE ABREU, C.B.; NAVARRO, I.T.; BALARIN, M.R.S.; BRACARENSE, A.P.F.R.L.; MARANA, E.R.M.; TRAPP, S.M.; TSUTSUI, V.S. Aspectos clínicos, patológicos e sorológicos da toxoplasmose experimental em cães jovens. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 22, n. 2, p. 123-130, 2001.

DE ABREU, C.B.; NAVARRO, I.T.; REIS, A.C.F.; SOUZA, M.S.B.; MACHADO, R.; MARANA, E.R.M.; PRUDÊNCIO, L.B.; MATTOS, M.R.; TSUTSUI, V.S. Toxoplasmose ocular em cães jovens inoculados com *Toxoplasma gondii*. **Ciência Rural**, v. 32, n. 5, p. 807-812, 2002.

DE BRITO, A.F., DE SOUZA, L.C.; DA SILVA, A.V.; LANGONI, H. Epidemiological and serological aspects in canine toxoplasmosis in animals with nervous symptoms. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 97, n.1, p. 31–35, 2002.

DE CÁPUAL F.M.L.B.; MASSAE, E.D.C.A.P.; CANESINI, N.; CALAZANSII, A.V.G.S.G.; DALECKV, M.R.M.C.R.; SANTANAV, A.E. Linfoma canino: clínica, hematologia e tratamento com o protocolo de Madison-Wisconsin. **Ciência Rural**, v. 41, n. 7, p. 1241-1251, 2011.

DE LA RUE, M.L.; DE ANDRADE, A.; CEOLIN, L.V.; DE CASTRO, G.C.; GARROT, L.S.; DA SILVA, V.C.; SANGIONI, L.A. Parasitos gastrointestinais e sanguíneos em cães. Risco para adoção? **Saúde**, v. 37, n. 2, p. 75-80, 2012.

DE MOURA, A.B.; DE SOUZA, A.P.; SARTOR, A.A.; BELLATO, V.; TEIXEIRA, E.B.; PISETTA, G.M.; HEUSSER, A. Ocorrência de anticorpos e fatores de risco para infecção por *Toxoplasma gondii* em cães, nas cidades de Lages e Balneário Camboriú, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 3, p. 52-56, 2009.

DE MOURA, L.; BAHIA-OLIVEIRA, L.M.G.; WADA, M.Y.; JONES, J.L.; TUBOI, S.H.; CARMO, E.H.; RAMALHO, W.M.; CAMARGO, N.J.; TREVISAN, R.; GRACA, R.M.T.; DA SILVA, A.J.; MOURA, I.; DUBEY, J.P.; GARRETT, D.O. Waterborne outbreak of toxoplasmosis, Brazil, from field to gene. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 2, p. 326–329, 2006.

DE NARDI, A.B.; RODASKI, S.; SOUSA, R.S.; COSTA, T.A.; MACEDO, T.R.; RODIGHIERI, S.M.; PIEKARZ, C.H. Prevalência de neoplasias e modalidades de tratamentos em cães, atendidos no hospital veterinário da Universidade Federal do Paraná. **Archives of Veterinary Science**, v. 7, n. 2, 2004.

DE SOUZA, M.M.D.; RAHALI, S.C.; PADOVANI, C.R.; MAMPRIM, M.J.; CAVINI, J.H. Afecções ortopédicas dos membros pélvicos em cães: estudo retrospectivo. **Ciência Rural**, v. 41, n. 5, p. 852-857, 2011.

DE SOUZA, S.L.P.; GENARI, S.M.; YAI, L.E.O.; D’AURIA, S.R.N.; CARDOSO, S.M.S.; GUIMARÃES JUNIOR, J.S.; DUBEY, J.P. Occurrence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera from dogs of the urban and rural áreas from Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 12, n. 1, p. 1-3, 2003.

DECARO, N.; MARTELLA, V.; DESARIO, C.; BELLACICCO, A.L.; CAMERO, M.; MANNA, L.; BUONAVOGLIA, C. First detection of canine parvovirus type 2c in pups with haemorrhagic enteritis in Spain. **Journal of Veterinary Medicine, Series B**, v. 53, n. 10, p. 468-472, 2006.

DEROUIN, F.; PELLOUX, H. Prevention of toxoplasmosis in transplant patients. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 14, n. 12, p. 1089-1101, 2008.

DEROUIN, F.; PELLOUX, H. Prevention of toxoplasmosis in transplant patients. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 14, n. 12, p. 1089-1101, 2008.

DESMONTS, G.; COUVREUR, J. Toxoplasmosis in pregnancy and its transmission to the fetus. **Bulletin of the New York Academy of Medicine**, v. 50, n. 2, p. 146, 1974.

DESMONTS, G.; NAOT, Y.; REMINGTON, J.S. Immunoglobulin M-immunosorbent agglutination assay for diagnosis of infectious diseases: diagnosis of acute congenital and acquired *Toxoplasma* infections. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 14, n. 5, p. 486-491, 1981.

DESMONTS, G.; REMINGTON, J.S. Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection: Method for increasing sensitivity and specificity. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 11, n. 6, p. 562-568, 1980.

DEWEY, C.W. **Neurologia de Cães e Gatos**. Roca, São Paulo. 2006. 368 p.

DEZENGRINI, R.; WEIBLEN, R.; FLORES, E.F. Soroprevalência das infecções por parvovírus, adenovírus, coronavírus canino e pelo vírus da cinomose em cães de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil; Seroprevalence of parvovirus, adenovirus, coronavirus and canine distemper virus infections in dogs of Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil. **Ciência Rural**, v. 37, n. 1, p. 183-189, 2007.

DIAS, R.A.; GARCIA, R. DE C.; DA SILVA D.F.; AMAKU, M.; JOSÉ SOARES FERREIRA NETO, J.S.; FERREIRA, F. Estimativa de populações canina e felina domiciliadas em zona urbana do Estado de São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, v.38, n. 4, p. 565-577, 2004.

DI CICCO, M.F.; DOWNEY, M.E.; BEELER, E.; MARR, H.; CYROG, P.; KIDD, L.; BIRKENHEUER, A.J. Re-emergence of *Babesia conradae* and effective treatment of infected dogs with atovaquone and azithromycin. **Veterinary Parasitology**, v. 187, n. 1, p. 23-27, 2012.

DIAS, E.L.; BATISTA, Z.S.; SEABRA, R.M.; GUERRA, N.C.; CALABRESE, K.S.; LIMA, T.B.; ABREU-SILVA, A.L. Canine visceral leishmaniasis (cvl): seroprevalence, clinical, hematological and biochemical findings of dogs naturally infected in an endemic area of São José de Ribamar municipality, Maranhão State, Brazil. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 3, p. 740-745, 2008.

DINIZ, P.P.V.D.P. **Miocardite em cães com Erliquiose monocítica**. 2006. 136 p. Tese (Medicina Veterinária) - Universidade Estadual Paulista (UNESP). Botucatu, 2006.

DOMINGUES, L.M.; MACHADO, R.Z.; TINUCCI COSTA, M.; CARVALHO, C.S.; COSTA, A.J.; MALHEIRO, E.B. Canine toxoplasmosis a comparative evaluation of the detection of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies by the indirect immunoenzymatic assay (ELISA) and the indirect immunofluorescence reaction (IIF). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 7, n. 2, p. 79-85, 1998.

- DORA, J.M.; GEIB, G.; DE-PARIS, F.; MACHADO, A.B.M.P.; FURLANETTO, T.W.; SOUZA, C.F.M.D.; SANTOS, R.P.D. Diagnosis of disseminated toxoplasmosis by polymerase chain reaction in bronchoalveolar lavage fluid of a patient with aids; Diagnóstico de toxoplasmose disseminada através de técnica de reação em cadeia da polimerase realizada no lavado bronco-alveolar de paciente com sida. **Revista do Hospital das Clínicas de Porto Alegre**, v. 29, n. 2, p. 167-169, 2009.
- DOS SANTOS, F.A.G.; YAMAMURA, M.H.; VIDOTTO, O.; DE CAMARGO, P.L. Ocorrência de parasitos gastrintestinais em cães (*Canis familiaris*) com diarreia aguda oriundos da região metropolitana de Londrina, Estado do Paraná, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 2, p. 257-268, 2007.
- DUAN, F.; OGDEN, D.; XU, L.; LIU, K.; LUST, G.; SANDLER, J.; ZHANG, Z. Principal component analysis of canine hip dysplasia phenotypes and their statistical power for genome-wide association mapping. **Journal of Applied Statistics**, v. 40, n. 2, p. 235-251, 2013.
- DUBEY J.P.; LIN, T.L. Acute toxoplasmosis in a gray fox (*Urocyon cinereargenteus*). **Veterinary Parasitology**, v. 51, n. 3, p. 321-325, 1994.
- DUBEY J.P.; LINDSAY, D.S.; LAPPIN, M.R. Toxoplasmosis and Other Intestinal Coccidial Infections in Cats and Dogs. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 39, n. 6, 1009-1034, 2009.
- DUBEY, J. P.; MILLER, N.L.; FRENKEL, J.K. Characterization of the new fecal form of *Toxoplasma gondii*. **Journal of Parasitology**, p.447-456, 1970.
- DUBEY, J.P. Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 7, p. 1019-1024, 1998a.
- DUBEY, J.P. Comparative infectivity of oocyst and bradizoites of *Toxoplasma gondii* for intermediate (mice) and definitive (cats) hosts. **Veterinary Parasitology**, v. 140, n. 1, p.69-75, 2006.
- DUBEY, J.P. Effect of immunization of cats with *Isospora felis* and BCG on immunity to reexcretion of *Toxoplasma gondii* oocysts. **Journal of Protozoology**, v. 25, n. 3, p.380-382, 1978.
- DUBEY, J.P. The history of *Toxoplasma gondii*—the first 100 years. **Journal of eukaryotic microbiology**, v. 55, n. 6, p. 467-475, 2008.

- DUBEY, J.P. *Toxoplasma gondii* cysts in placentas of experimentally infected sheep. **American journal of Veterinary research**, v. 48, n. 3, p. 352, 1987.
- DUBEY, J.P. *Toxoplasma gondii* oocyst survival under defined temperatures. **Journal of Parasitology**, v. 84, n. 4, p. 862–865, 1998b.
- DUBEY, J.P. *Toxoplasma, Hammondia, Besnoitia, Sarcocystis*, and other tissue cyst-forming coccidian of man and animals. J.P. Kreier (Ed.), **Parasitic Protozoa**, v. III. Academic Press, New York, 1977. p. 101–237.
- DUBEY, J.P. **Toxoplasmosis of Animals and Humans**. 2^a ed. Boca Raton: CRC Press., 2010. 313p.
- DUBEY, J.P. Toxoplasmosis-a waterborne zoonosis. **Veterinary Parasitology**, v. 126, n. 1, p.57-72, 2004.
- DUBEY, J.P., Reshedding of *Toxoplasma* oocysts by chronically infected cats. **Nature**, v. 262, n. (5565), p.213–214, 1976.
- DUBEY, J.P.; BEATTIE, C.P. **Toxoplasmosis of Animals and Man**. Boca Raton: CRC Press, 1988, 75p.
- DUBEY, J.P.; DESMONTS, G. Serological responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **Equine Veterinary Journal**, v. 19, n. 4, p. 337-339, 1987.
- DUBEY, J.P.; FRENKEL, J.K. Cyst-Induced Toxoplasmosis in Cats. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, 19n. 1, p.155-177, 1972.
- DUBEY, J.P.; FRENKEL, J.K. Feline toxoplasmosis from acutely infected mice and the development of *Toxoplasma* cysts. **Journal of protozoology**, 23n. 4, p.537, 1976.
- DUBEY, J.P.; GENNARI, S.M.; SUNDAR, N.; VIANNA, M.C.; BANDINI, L.M.; YAI, L.E.; KWOK, C.H.; SUF, C. Diverse and atypical genotypes identified in *Toxoplasma gondii* from dogs in Sao Paulo, Brazil. **Journal of Parasitology**, v. 93, n. 1, p. 60–64, 2007.
- DUBEY, J.P.; LAPPIN, M.R. Toxoplasmosis and Neosporosis. In: **Infectious diseases of the dog and the cat**. 3 ed. Saunders, 2006. p. 754-775, 1387p.
- DUBEY, J.P.; MATTIX, M.E.; LIPSCOMB, T.P. Lesions of neonatally induced toxoplasmosis in cats. **Veterinary Pathology Online**, v. 33, n. 3, p. 290-295, 1996.
- DUBEY, J.P.; PIMENTA, AL.; ABOUD, L.C.S.; RAVASANI, R.R.; MENSE, M. Dermatitis in a dog associated with an unidentified *Toxoplasma gondii*-like parasite. **Veterinary Parasitology**, v. 116, n. 1, p. 51-59, 2003a.

- DUBEY, J.P.; ROSS, A.D.; FRITZ, D. Clinical *Toxoplasma gondii*, *hammondia heydorni* and *Sarcocystis spp.* infections in dogs. **Parasitologia**, v. 45, n. 3-4, p. 141-146, 2003b.
- DUBEY, J.P.; SCHLAFFER, D.H.; URBAN, J.F.; LINDSAY, D.S. Lesions in fetal pigs with transplacentally-induced toxoplasmosis. **Veterinary Pathology Online**, v. 27, n. 6, p. 411-418, 1990.
- DUBEY, J.P.; SPEER C.A.; SHEN, S.K.; KWOK, O.C.H.; BLIXT, J.A. Oocyst-induced murine toxoplasmosis: life cycle, pathogenicity, and stage conversion in mice fed *Toxoplasma gondii* oocysts. **Journal of Parasitology**. 83: 870–882, 1997.
- DUBEY, J.P.; THAYER, D.W. Killing of different strains of *Toxoplasma gondii* tissue cysts by irradiation under defined conditions. **Journal of Parasitology**, v. 80, n. 5, p.764- 767, 1994.
- DUBOC, M.V. **Percepção de proprietários de cães e gatos sobre a higiene oral de seu animal**. 2008. 61p. Dissertação (Medicina Veterinária) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2008.
- DUNN, D.; WALLON, M.; PEYRON, F.; PETERSEN, E.; PECKHAM, C.; GILBERT, R. Mother-to-child transmission of toxoplasmosis: risk estimates for clinical counselling. **Lancet**, v. 353, n. 9167, p. 1829-1833, 1999.
- DURAN, F.P.; CABRAL, D.D.; FERREIRA, F.A.; SILVA, D.A.O.; MINEO, J.R.; SOUZA, M.A. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* (Nicolle & Manceuax, 1909), em cães clinicamente sadios da cidade de Uberlândia-MG. **Congresso de Zoonoses, 1, Anais** 1997. p. 228. Rio de Janeiro, 1997.
- EGENVALL, A.; BONNETT, B.N.; HÄGGSTRÖM, J. Heart disease as a cause of death in insured Swedish dogs younger than 10 years of age. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 20, n. 4, p. 894-903, 2006.
- ELBEZ-RUBINSTEIN, A.; AJZENBERG, D.; DARDÉ, M.L.; COHEN, R.; DUMÈTRE, A.; YERA, H.; EMMANUELLE, G.; JEAN-CLAUDE, J.; THULLIEZ, P. Congenital toxoplasmosis and reinfection during pregnancy: case report, strain characterization, experimental model of reinfection, and review. **Journal of Infectious Diseases**, v. 199, n. 2, p. 280-285, 2009.
- ELLIS, J.T. Polymerase chain reaction approaches for the detection of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii*. **International Journal for Parasitology**, v. 28, n. 7, p. 1053-1060, 1998.

EPSTEIN, M.; KUEHN, N.F.; LANDSBERG, G.; LASCELLES, B.D.X.; MARKS, S.L.; SCHAEDLER, J.M.; TUZIO, H. AAHA senior care guidelines for dogs and cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 41, n. 2, p. 81-91, 2005.

ETHEREDGE, G.D.; MICHAEL, G.; MUEHLEMBEIN, M.P.; FRENKEL, J.K. The roles of cats and dogs in the transmission of *Toxoplasma* infection in Kuna and Embera Children in Eastern Panama. **Revista Panamericana de Salud Publica**, v. 16, n. 3, p.176-186, 2004.

ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. Tratado de medicina interna veterinária – Doenças do cão e do gato. 5 ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 2004.

EVANS, S.M.; DAYRELL-HART, B.; POWLIS, W.; CHRISTY, G.; VANWINKLE, T. Radiation therapy of canine brain masses. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 7, n. 4, p. 216-219, 1993.

FABISIAK, M.; SAPIERZYŃSKI, R.; KLUCIŃSKI, W. Analysis of haematological abnormalities observed in dogs infected by a large *Babesia*. **Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy**, v. 54, p. 167-170, 2010.

FAYER, R. Epidemiology of protozoan infections: the coccidia. **Veterinary Parasitology**, v. 6, n. 1-3, p.75-103, 1980.

FAYER, R.; DUBEY, J.P. Methods of controlling transmission of protozoan parasites from meat to man. **Food Technology**, v. 39, n. 3, p. 57-60, 1985.

FELICIANO, M.A.R.; SILVA, A.S.; PEIXOTO, R.V.R.; GALERA, P.D.; VICENTE, W.R.R. Clinical, histopathological and immunohistochemical study of mammary neoplasm in bitches. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 5, p. 1094-1100, 2012.

FERGUSON, D.J.; BOWKER, C.; JEFFERY, K.J.; CHAMBERLAIN, P.; SQUIER, W. Congenital Toxoplasmosis: Continued Parasite Proliferation in the Fetal Brain Despite Maternal Immunological Control in Other Tissues. **Clinical Infectious Diseases**, v. 56, n. 2, p. 204-208, 2013.

FERIAN, P.E.; SILVA, E.F.; GUEDES, R.C.; TÔRRES, R.C.; CARNEIRO, R.A. Diagnóstico citológico de neoplasia pulmonar por meio de lavado broncoalveolar em uma cadela: relato de caso. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 5, p. 776-780, 2006.

FERNANDES, C.G.N.; MOURA, S.T.D.; DIAS, A.R.; VIEIRA FILHO, W.D.S. Ocorrência de dirofilariose canina na região da Grande Cuiabá, Estado de Mato Grosso-Brasil; Occurrence of canine dirofilariosis in Cuiabá and environs, State of Mato Grosso-Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, n. 5, p. 258-61, 1999.

FERNANDES, W.J.; BARBOZA, W. Toxoplasmose – Notas sobre sua ocorrência em animais domésticos em Goiânia – (1970). **Revista de Patologia Tropical**, v. 1, n., p. 259-265, 1972.

FERNÁNDEZ-SABÉ, N.; CERVERA, C.; FARIÑAS, M.C.; BODRO, M.; MUÑOZ, P.; GURGUÍ, M.; TORRE-CISNEROS, J.; MARTÍN-DÁVILA, P.; NOBLEJAS, A.; ÓSCAR, L.; GARCÍA-REYNE, A.; DEL POZO, J.L.; CARRATALÀ, J. Risk factors, clinical features, and outcomes of toxoplasmosis in solid-organ transplant recipients: a matched case-control study. **Clinical Infectious Diseases**, v. 54, n. 3, p. 355-361, 2012.

FERRARONI, J.J.; REED, S.G.; SPEER, C.A. Prevalence of *Toxoplasma* antibodies in humans and various animals in the Amazon. **Proceedings of the Helminthological Society of Washington**, v. 47, n., p. 148-150, 1980.

FERREIRA, A.I.; DE MATTOS, C.C.; FREDERICO, F.B.; MEIRA, C.S.; ALMEIDA, G.C.; NAKASHIMA, F.C.R.; BERNARDO, P.C.; HIOCCOLA, V.L.; DE MATTOS, L.C. Risk factors for ocular toxoplasmosis in Brazil. **Epidemiology and Infection**, p. 1-7, 2013. [doi:10.1017/S0950268813000526].

FIGHERA, R.A.; SOUZA, T.M.; IRIGOYEN, L.F.; BARROS, C.S.L. Aspectos epidemiológicos e clinicopatológicos de 72 casos de endocardite valvar em cães. **Revista Clínica Veterinária**, v. 12, n. 1, p. 60-67, 2007.

FIGHERA, R.A.; SOUZA, T.M.; SILVA, M.C.; BRUM, J.S.; GRAÇA, D.L.; KOMMERS, IRIGOYEN, L.F.; BARROS, C.S.L. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio-Grandense. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 28, n. 4, p. 223-230, 2008.

FIGUEIREDO, A.R.M. **A dilatação atrial esquerda em canídeos: lesão degenerativa crônica da valva mitral como sua principal causa: estudo integrado do biomarcador NT-proBNP**. 2012. 152 p. Dissertação (Medicina Veterinária) - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2012.

FIGUEREDO, L.A.; DANTAS-TORRES, F.; DE FARIA, E.B.; GONDIM, L.F.; SIMÕES-MATTOS, L.; BRANDÃO-FILHO, S.P.; MOTA, R.A. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Pernambuco, northeast Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 157, n. 1-2, p. 9–13, 2008.

FILHO, J.G.P.; SELMI, A.L. Discopatia cervical no cão. Tratamento cirúrgico através de fenestração ventral. Estudo retrospectivo (1986-1997). **Ciência Rural**, v. 29, n. 1, 1999.

FINE, A.H. (Ed.). **Handbook on Animal-Assisted Therapy: Theoretical Foundations and Guidelines for Practice**. Academic Press, 2010. 588 p.

FLAUSINO, G.; LEAL, P.D.S.; MCINTOSH, D.; AMARAL, L.G.; LEIRA FILHO, W.; FLAUSINO, W.; LOPES, C.W.G. Isolation and characterization of *Cyniclomyces guttulatus* (Robin) Van Der Walt and Scott, 1971 in dogs in Brazil. **Current Microbiology**, v. 65, p. 542-546, 2012.

FLAUSINO, W.; SOARES, C.O.; FREIRE, R.B.; LOPES, C.W. G. Variações intra-específicas de taquizoítos de *Toxoplasma gondii* (Apicomplexa: Toxoplasmatinae) isolados de uma infecção natural e comparadas frente a cepa congênita. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v. 5, n. 2, p. 63-67, 1998.

FLEMING, J.M.; CREEVY, K.E.; PROMISLOW, D.E.L. Mortality in North American Dogs from 1984 to 2004: An Investigation into Age-, Size-, and Breed-Related Causes of Death. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, n. 2, p. 187-198, 2011.

FLORES, M.M.; BIANCHI, R.M.; KOMMERS, G.D.; IRIGOYEN, L.F.; BARROS, C.S.; FIGHERA, R.A. Prevalência e achados epidemiológicos, anatomopatológicos e imuno-histoquímicos dos tumores hepáticos malignos primários de cães da Região Central do Rio Grande do Sul (1965-2012). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 4, p. 497-511, 2013.

FLORES, M.M.; BIANCHI, R.M.; KOMMERS, G.D.; IRIGOYEN, L.F.; BARROS, C.S.; FIGHERA, R.A. Prevalência e achados epidemiológicos, anatomopatológicos e imuno-histoquímicos dos tumores hepáticos malignos primários de cães da Região Central do Rio Grande do Sul (1965-2012). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 4, p. 497-511, 2013.

FONFARA, S.; DE LA HERAS, A.L.; GERMAN, A.J.; BLACKWOOD, L.; DUKES-MCEWAN, J.; NOBLE, P.M.; BURROW, R.D. Underlying diseases in dogs referred to a veterinary teaching hospital because of dyspnea: 229 cases (2003–2007). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 239, n. 9, p. 1219-1224, 2011.

FONLON, W.; NAESSENS, A.; DERDE, M. P. Evaluation of the possibilities for preventing congenital toxoplasmosis. **Obstetrical & Gynecological Survey**, v. 49, n. 9, p. 601-602, 1994.

FOSSUM, T.W. **Cirurgia de Pequenos Animais**. Amesterdam: Elsevier, 2005. 1616 p.

FRANCO, E.L.; WALLS, K.W.; SULZER, A.J. Reverse enzyme immunoassay for detection of specific anti-Toxoplasma immunoglobulin M antibodies. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 13, n. 5, p. 859-864, 1981.

FRANCO, R.; CHAMPION, T.; PASCON, J.; PEREIRA NETO, G.B.; PAULINO JUNIOR, D.; CAMACHO, A. Utilização do maleato de enalapril, furosemida, espironolactona e suas associações em cães com doença degenerativa mixomatosa da válvula... **Ars Veterinaria**, v. 27, n. 2, p. 85-93, 2011.

FREIRE, R.L., NAVARRO, I.T.; VIDOTTO, O.; TUDURY, E.A.; VIANNA, C.C. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães atendidos no hospital veterinário da UEL-PR. **Semina: Ciências Agrárias**, v.13 n. 1, p.66–69, 1992.

FRENKEL, J.K. Pathogenesis of toxoplasmosis and of infections with organisms resembling Toxoplasma. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 64, n. 2, p. 215-251, 1956.

FRENKEL, J.K.; DUBEY, J.P.; MILLER, N.L. *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. **Science**, 167(3919), p.893-896, 1970.

FRENKEL, J.K.; HASSANEIN, K.M.; BROWN, E.; THULLIEZ, P.; QUINTERO-NUNEZ, R. Transmission of *Toxoplasma gondii* in Panama City, Panama: a five-year prospective cohort study of childrens, cats, rodents, birds and soil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 53, n.5, p. 458-468, 1995.

FRENKEL, J.K.; JACOBS, L. Ocular toxoplasmosis. **Archives of Ophthalmology**, v. 59, n. 2, p. 260, 1958.

FRENKEL, J.K.; PARKER, B.B. An apparent role of dogs in the transmission of *Toxoplasma gondii*. The probable importance of xenosmophilia. **Annals of the New York. Academy of Science**, v. 791, p. 402- 407, 1996.

FRESCHI, C.R.; HIGA, A.C.; TINUCCI, C.M.; PANCRACIO, H.P.; MACHADO, R.Z. Caracterização de antígenos de *Toxoplasma gondii* pela técnica de “Western Blotting, em soros de cães com sinais clínicos suspeitos de toxoplasmose. **Ars Veterinaria**, v. 21, n. 2, p. 265-271, 2005.

- FREYRE, A.; DUBEY, J.P.; SMITH, D.D.; FRENKEL, J.K. Oocyst-induced *Toxoplasma gondii* infections in cats. **Journal of Parasitology**, v. 75, 5, 750, 1989.
- FRIES, C.L.; REMEDIOS, A.M. The pathogenesis and diagnosis of canine hip dysplasia: a review. **Canadian Veterinary Journal**, v. 36, n. 8, p. 494, 1995.
- FROES, T. R. **Utilização da Ultrassonografia em Cães com Suspeita de Neoplasias do Sistema Digestório (Fígado, Intestino e Pâncreas)**. [Tese - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo. São Paulo] 2004. 155 p.
- FULTON, J.D.; TURK, J.L. Direct agglutination test for *Toxoplasma gondii*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 54, p. 7-8. 1960.
- FURTADO, T.T.; FLAUSINO, G.; LEAL, P.D.S.; FERREIRA, J.P.; McINTOSH, D.; FLAUSINO, W.; TEIXEIRA FILHO, W.L.; PAES-DE-ALMEIDA, E.C.; LOPES, C. W. G. Diagnóstico de colangite associado à mucocele da vesícula biliar por *Cyrclomyces guttulatus* em cães - Relato de casos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 35, p. 1-6, 2013.
- GALATI, E.A.B.; NUNES, V.L.B.; REGO, J.R.E.A.; OSHIRO, E.T.; CHANG, M.R. Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) em foco de leishmaniose visceral no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 31, n. 4, p. 378-390. 1997.
- GAMA, F.G.V.; NISHIMORI, C.T.; SANTANA, M.R.S.A.E. Caracteres físico-químicos e citológicos do liquor de cães em diferentes fases da cinomose. **Ciência Rural**, v. 35, n. 3, p. 596-601, 2005.
- GANGJI, V.; HAUZEUR, J.P. Treatment of osteonecrosis of the femoral head with implantation of autologous bone-marrow cells. **Journal of Bone & Joint Surgery**, v. 87, n. 1_suppl_1, p. 106-112, 2005.
- GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T.; OGAWA, L.; OLIVEIRA, R.C. Soroepidemiologia da toxoplasmose em gatos e cães de propriedades rurais do município de Jaguapitã, estado do Paraná. **Ciência Rural**, v. 29, n. 1, p. 99-104, 1999.
- GARRETT, L.D.; THAMM, D.H.; CHUN, R.; DUDLEY, R.; VAIL, D.M. Evaluation of a 6-Month Chemotherapy Protocol with No Maintenance Therapy for Dogs with Lymphoma. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, n. 6, p. 704-709, 2002.

GENNARI, S.M.; CANON-FRANCO, W.A.; FEITOSA, M.M.; IKEDA, F.A.; DE LIMA, V.M.F.; AMAKU, M. Presence of anti-*Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs with visceral leishmaniosis from the region of Aracatuba, São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 43, n. ?, p. 613-619, 2006.

GERMANO, P.M.L.; ERBOLATO, E.B.; ISHIZUKA, M.M. Estudo sorológico da toxoplasmose canina, pela prova de imunofluorescência indireta, na cidade de Campinas, 1981. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP**, v. 22, n.1, p. 53-58, 1985.

GINJA, M.M.D.; PENA, M.L.; FERREIRA, A.J.A. Diagnóstico, controlo e prevenção da displasia da anca no cão. Diagnosis, control and prevention of canine hip dysplasia. **Revista Portuguesa de Ciência Veterinária**, v. 100, n. 555-556, p. 147-161, 2005.

GIOSO, M.A. **Odontologia para o Clínico de Pequenos Animais**. 2ª ed. São Paulo, 2003. 202 p.

GIOVANNONI, M. **Considerações sobre o *Toxoplasma* e a toxoplasmose. Isolamento do agente etiológico e pesquisa de anticorpos em cães. Curitiba – PR**. 1958. 64 p. Tese (Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1958.

GIRALDI, J.H.; BRACARENSE, A.P.F.R.L.; VIDOTTO, O.; TUDURY, E.A.; NAVARRO, I.T.; BATISTA, T.N. Sorologia e histopatologia de *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães portadores de distúrbios neurológicos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 23, n. 1, p. 9-14, 2002.

GIVENS, D.M.; MARLEY, M.S.D. Infectious causes of embryonic and fetal mortality. **Theriogenology**, v. 70, n. 3, p. 270-285, 2008.

GLICKMAN, L.T.; GLICKMAN, N.W.; MOORE, G.E.; LUND, E.M.; LANTZ, G.C.; PRESSLER, B.M. Association between chronic azotemic kidney disease and the severity of periodontal disease in dogs. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 99, n. 2, p. 193-200, 2011.

GOLDSTEIN, E.J.C.; MONTOYA, J.G.; REMINGTON, J.S. Management of *Toxoplasma gondii* infection during pregnancy. **Clinical Infectious Diseases**, v. 47, n. 4, p. 554-566, 2008.

GOLDSTON, R.T.; HOSKINS, J.D. **Geriatrics e Gerontologia do Cão e do Gato**. São Paulo: Ed. Roca. 1999. 551 p.

GONÇALEZ, C.C.; PAES, A.C.; LANGONI, H.; DA SILVA, R.C.; GRECA, H.; CAMOSSI, L.G.; GUIMARÃES, F.F.; ULLMANN, L.S. Anticorpos para *Leptospira* spp., *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães errantes albergados em canil privado. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária Zootecnia**, v. 62, n. 4, p.1011- 1014, 2010.

GONÇALVES, M.P.R.P. **Morte súbita em cães e gatos: estudo retrospectivo de 213 casos (2000-2009)**. 2010. 97 p. Dissertação (Medicina Veterinária) - Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa, 2010.

GORMLEY, P.D.; PAVESIO, C.E.; MINNASIAN, D.; LIGHTMAN, S. Effects of drug therapy on *Toxoplasma* cysts in an animal model of acute and chronic disease. **Investigative ophthalmology & visual science**, v. 39, n. 7, p. 1171-1175, 1998.

GOUGH, A. **Differential diagnosis in small animal medicine**. Blackwell Pub., 2007. 464 p.

GRACZYK, T.K.; KNIGHT, R.; TAMANG, L. Mechanical transmission of human protozoan parasites by insects. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 18, n. 1, p. 128-132, 2005.

GREENE, C.E.; COOK, J.R.; MAHAFFEY, E.A. Clindamycin for treatment of *Toxoplasma* polymyositis in a dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 187, n. 6, p. 631-634, 1985.

GREENE, C.O. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 4th ed. Elsevier Saunders, St. Louis. 2012. 1376 p.

GUIDI, G.; ROSSINI, C.; CINELLI, C.; MEUCCI, V.; LIPPI, I. Canine Chronic Kidney Disease: Retrospective Study of a 10-Year Period of Clinical Activity. **Veterinary Science**, 2012. 208 p.

GUIMARÃES, A.M.; RIBEIRO, M.F.B.; LIMA, J.D.; CURY, M.C.; SPIEWAK, G. Frequência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães de Belo Horizonte, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 44, n. 1, p. 67-68, 1992.

GUIMARÃES, A.M.; ROCHA, C.M.B.M.; OLIVEIRA, T.M.F.S.; ROSADO, I.R.; MORAIS, L.G.; SANTOS, R.R.D. Fatores associados à soropositividade para *Babesia*, *Toxoplasma*, *Neospora* e *Leishmania* em cães atendidos em nove clínicas veterinárias do município de Lavras, MG. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, supl. 1, p. 49-53, 2009.

HACKER, M.; RICHTER, R.; GÜMBEL, H.; RICHTER, T.; OHRLOFF, C. Toxoplasmosis retinochorioiditis, a therapy comparison between spiramycin and pyrimethamine/sulfadiazine. **Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde**, v. 212, n. 2, p. 84, 1998.

HARDY, R.M. Chronic hepatitis. An emerging syndrome in dogs. **Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 15, n. 1, p. 135, 1985, 1985.

HARIKRISHNAN, T.J.N.; PAZHANIVEL; J.C. Concomitant *Babesia gibsoni* and *Ehrlichia canis* infection in a dog. **Veterinarski Arhiv**, v. 75, n. 6, p. 513-520, 2005.

HARTMANN, K.; ADDIE, D.; BELÁK, S.; BOUCRAUT-BARALON, C.; EGBERINK, H.; FRYMUS, T.; HORZINEK, M.C.; *Toxoplasma gondii* infection in cats ABCD guidelines on prevention and management. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 15, n. 7, p. 631-637, 2013.

HEADLEY, S.A.; ALFIERI, A.A.; FRITZEN, J.T.T.; GARCIA, J.L.; WEISSENBOCK, H.; DA SILVA, A.P.; BODNAR, L.; OKANO, W.; ALFIERI, A.F. Concomitant canine distemper, infectious canine hepatitis, canine parvoviral enteritis, canine infectious tracheobronchitis, and toxoplasmosis in a puppy. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 25, n. 1, p. 129-135, 2013.

HELLYER, P.; RODAN, I.; BRUNT, J.; DOWNING, R.; HAGEDORN, J.E.; ROBERTSON, S.A. AAHA/AAFP pain management guidelines for dogs and cats. **Journal of Feline Medicine & Surgery**, v. 9, n. 6, p. 466-480, 2007.

HELLYER, P.; RODAN, I.; BRUNT, J.; DOWNING, R.; HAGEDORN, J.E.; ROBERTSON, S.A. AAHA/AAFP pain management guidelines for dogs and cats. **Journal of Feline Medicine & Surgery**, v. 9, n. 6, p. 466-480, 2007.

HIGA, A.C.; MACHADO, R.Z.; TINUCCI-COSTA, M.; DOMINGUES, L.M.; MALHEIROS, E.B. Evaluation of cross-reactivity of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antigens in dog sera. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 2, 91-95, 2000.

HOCH, H.; STRICKLAND, K. Canine and feline dirofilariasis: life cycle, pathophysiology, and diagnosis. **Compendium in Continuing Education for Veterinarians**, v. 30, n. 3, p. 133, 2008.

HOFFMANN, A.R.; CADIEU, J.; KIUPEL, M.; LIM, A.; BOLIN, S.R.; MANSELL, J. Cutaneous toxoplasmosis in two dogs. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 24, n. 3, p. 636-640, 2012.

HOLMSTROM, S.E.; BELLOWS, J.; COLMERY, B.; CONWAY, M.L.; KNUTSON, K.; VITOUX, J. AAHA dental care guidelines for dogs and cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 41, n. 5, p. 277-283, 2005.

HOMEM, V.S.F.; MENDES, Y.G.; LINHARES, A.C. Gastroenterite canina-agentes virais nas fezes de cães diarreicos e não diarreicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, n. 6, p. 531-536, 1999.

HOSKINS, J.D. Doenças Virais Caninas, p.440-441. ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. (Eds), Tratado de Medicina Interna Veterinária. Ed.5 Guanabara Koogan, São Paulo, 2004.

INKELMANN, M.A.; ROZZA, D.B.; FIGHERA, R.A.; KOMMERS, G.D.; GRAÇA, D.L.; IRIGOYEN, L.F.; BARROS, C.S. Hepatite infecciosa canina: 62 casos. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 8, p. 325-332, 2007.

IRWIN, P.J. Invited Review. Companion animal parasitology: a clinical perspective. **International Journal for Parasitology**, v. 32, n. 5, p. 581-593, 2002.

ISHIZUKA, M.M.; MIGUEL, O.; BROGLIATO, D.F. Prevalência de anticorpos anti-toxoplasma em soros de cães do município de São Paulo. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v. 11, n. 1, p. 115-125, 1974.

ISHIZUKA, M.M.; YASUDA, P.H. Incidência de infecção por *Toxoplasma gondii* em cães do município de São Paulo. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, v.18, n. 2, p.161-165, 1981.

JACOB, F.; POLZIN, D.J.; OSBORNE, C.A.; NEATON, J.D.; LEKCHAROENSUK, C.; ALLEN, T. A.; SWANSON, L.L. Association between initial systolic blood pressure and risk of developing a uremic crisis or of dying in dogs with chronic renal failure. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 222, n. 3, p. 322-9, 2003.

JACOBS, L.; LUNDE, M.N. A hemagglutination test for toxoplasmosis. **Journal of Parasitology**, v. 43, n. 3, p. 308-314, 1957.

JAROSLOW, B.N.; SUHRBIER, K.M., FRITZ, T.E. Decline and restoration of antibody-forming capacity in aging beagle dogs. **Journal of Immunology**, v. 112, n. 4, 1467-1476, 1974.

JAROSLOW, B.N.; SUHRBIER, K.M.; FRITZ, T.E. Decline and restoration of antibody-forming capacity in aging beagle dogs. **Journal of Immunology**, v. 112, n. 4, p. 1467-1476, 1974.

JEON, J.H.; KANG, B.T.; JI, C.M.; LEE, H.C.; MOON, J.H.; CHO, K.W.; JUNG, D.I. A Retrospective Study of 172 Neurological Patients Presented to the Gyeongsang National University Animal Medical Center; From Jan. 2008 to Jan. 2012. **Future Information Technology, Application, and Service. Springer Netherlands**, v. 179, n. 2, p. 134-140, 2012.

- JONES, J.L.; DUBEY, J.P. Waterborne toxoplasmosis – Recent developments. **Experimental Parasitology**, v. 124, n. 1, p. 10-25, 2010.
- JONES, J.L.; LOPEZ, A.; WILSON, M. Congenital toxoplasmosis. **American Family Physician**, v. 67, n. 10, p. 2131-2146, 2003.
- JUNIOR, D.C.G.; DA COSTA, N.J.M.; DA SILVA, A.E.; MARTINS FILHO, E.F.; CARNEIRO, R.L.; DE JESUS, M.V.; DA SILVA, W.M. Ameloblastoma mandibular rostral em um cão. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 1, p. 347-354, 2013.
- KELEN, A.E.; AYLLON-LEINDL, L.; LABZOFFSKY, N.A. Indirect fluorescent antibody method in serodiagnosis of toxoplasmosis. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 8, n. 4, p. 545-554, 1962.
- KELEN, A.E.; AYLLON-LEINDL, L.; LABZOFFSKY, N.A. Indirect fluorescent antibody method in serodiagnosis of toxoplasmosis. **Canadian Journal of Microbiology**, v. 8, n. 4, p. 545-554, 1962.
- KENT, M.S.; LUCROY, M.D.; DANK, G.; LEHENBAUER, T.W.; MADEWELL, B.R. Concurrence between clinical and pathologic diagnoses in a veterinary medical teaching hospital: 623 cases (1989 and 1999). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 3, p. 403 - 406, 2004.
- KEYERLEBER, M.A.; MCENTEE, M.C.; FARRELLY, J.; THOMPSON, M.S.; SCRIVANI, P.V.; DEWEY, C.W. Three-dimensional conformal radiation therapy alone or in combination with surgery for treatment of canine intracranial meningiomas. **Veterinary and Comparative Oncology**, p. 1-13, 2013. [DOI: 10.1111/vco.12054]
- KHALIFA, K.; ROTH, A.; ROTH, B.; ARASTEH, K.N.; JANITSCHKE, K. Value of PCR for evaluating occurrence of parasitemia in immunocompromised patients with cerebral and extracerebral toxoplasmosis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 32, n. 11, p. 2813-2819, 1994.
- KINFU, A.; ERKO, B. Cockroaches as carriers of human intestinal parasites in two localities in Ethiopia. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 102, n. 11, p. 1143-1147, 2008.
- KIRKBY, K.A.; LEWIS, D.D. Canine Hip Dysplasia: Reviewing the Evidence for Nonsurgical Management. **Veterinary Surgery**, v. 41, n. 1, p. 2-9, 2012.

KLEIN, J.O.; REMINGTON, J.S. Current concepts of infections of the fetus and newborn infant. In. REMINGTON, J.S.; KLEIN, J.O.; WILSON, C.B.; NIZET, V.; MALDONADO, Y. **Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infants**. Filadelfia: WB Saunders, v. 1, 2010. p. 17-67.

KOENIG, A. Endocrine emergencies in dogs and cats. **Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice**, v. 43, n. 4, p. 869-897, 2013.

KOMPALIC-CRISTO, ALICIA; BRITTO, C.; FERNANDES, O. Diagnóstico molecular da toxoplasmose: revisão. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 41, n. 4, p. 229-235, 2005.

KOUTINAS, A.F.; SARIDOMICHELAKIS, M.N.; MYLONAKIS, M.E.; LEONTIDES, L.; POLIZOPOULOU, Z.; BILLINIS, C. A randomised, blinded, placebo-controlled clinical trial with allopurinol in canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**. v. 98, n. 4, p. 247-61, 2001.

KOVACIC, J.P. Management of life-threatening trauma. The Veterinary clinics of North America. **Small Animal Practice**, v. 24, n. 6, p. 1057, 1994.

KRAMER, L.; GRANDI, G.; PASSERI, B.; GIANELLI, P.; GENCHI, M.; DZIMIANSKI, M. T.; MCCALL, J. W. Evaluation of lung pathology in *Dirofilaria immitis* experimentally infected dogs treated with doxycycline or a combination of doxycycline and ivermectin before administration of melarsomine dihydrochloride. **Veterinary Parasitology**, v. 176, n. 4, p. 357-360, 2011.

KRAUSPENHAR, C.; BECK, C.; SPEROTTO, V.; SILVA, A.A.; BASTOS, R.; RODRIGUES, L. Leishmaniose visceral em um canino de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 907-910, 2007.

KRAVETZ, J.D.; FEDERMAN, D.G. Cat-associated zoonoses. **Archives of Internal Medicine**, v. 162, n. 17, p. 1945, 2002.

LABARTHE, N.; GUERRERO, J. Epidemiology of heartworm: what is happening in South America and Mexico. **Veterinary Parasitology**, v. 133, n. 2, p. 149-156, 2005.

LABARTHE, V.L.; ALMOSNY N. R.P.; GUERRERO, G.; DUQUE-ARAÚJO, A.M. Descrição da Ocorrência de dirofilariose canina no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 92, n. 1, p. 47-51, 1997.

LAEMMLI, U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, v. 227, n. 5259, p. 680-685, 1970.

LAGAGGIO, V.R.A.; FLORES, M.L.; ALVES, C.S.P.; SILVA, D.C.; BARCELOS, A.B.; KATZER, L.H.; BARCELOS, A.S.; LAZZAROTTO, J.J.; CONCI, A.; NOAL, S.A. Hemaglutinação passiva para toxoplasmose em cães da região Central do RS. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 6, supl. 1, p. 342, 1997.

LAMOTHE, J. Treatment of canine leishmaniasis from A (Amphotericin B) to Z (Zyloric®)In: Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum. Barcelona, Spain. Canine Leishmaniasis: an update. **Wiesbaden: Hoeschst Roussel Veterinary**, p. 12-17, 1999.

LANGHAM, R.F.; SHOLL, L.B. Canine Toxoplasmosis. **American Journal of Pathology**, v. 25, n. 3, p. 569, 1949.

LANGONI, H.; MATTEUCCI, G.; MEDICI, B.; CAMOSSO, L.G.; RICHINI-PEREIRA, V.B.; SILVA, R.C. Detection and molecular analysis of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* from dogs with neurological disorders. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 3, p. 365-368, 2012.

LANGONI, L.; MODOLO, J.R.; PEZERICO, S.B.; SILVA, R.C.; CASTRO, A.P.B.; SILVA, A.V.; PADOVANI, C.R. Sorological profile of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in apparently healthy dogs of the city of Botucatu, São Paulo State, Brasil. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 12, n., p. 142-148, 2006.

LARSSON, C. E. **Aspectos Epidemiológicos da Toxoplasmose**. 1976. 115 p. Dissertação (Saúde Pública) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 1976.

LEAL, P.D.S.; CAMPOS, D.P.; RODRIGUES, M.L.A.; BOTELHO, G.G.; LABARTHE, N.V. **Avaliação da administração oral de ácido ursodesoxicólico (audc) no diagnóstico da infecção natural por *Platynosomum illiciens* em gatos**. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, v. 33, p. 229-233, 2011a.

LEAL, P.D.S.; PONTES, P.R.; FLAUSINO, W.; LOPES, C.W.G. Diagnóstico de infecções concomitantes por *Cystoisospora ohioensis* e o vírus da cinomose-Relato de dois casos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 33, p. 184-188, 2011b.

LEAL, P.D.S.; FLAUSINO, W.; LOPES, C.W.G. Diagnóstico de infecções concomitantes por *Neospora caninum*, *Babesia canis* e *Ehrlichia* spp. em canino adulto da raça Golden Retriever - Relato de caso. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, p. 47-51, 2012.

LEITE, J.H.A.C.; CARVALHO, L.C.N.; PEREIRA, P.M. Anemia hemolítica imunomediada em cães-relato de três casos. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 1, p. 319-326, 2011.

LEMOS, C.; FISCHER, C.; PINTO, V.; MAIA, J.; BUENO, P. Prevalência da displasia coxofemoral em cães atendidos no hospital veterinário da universidade luterana do Brasil no setor de reabilitação animal no ano de 2007. Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária, 35, Gramado, 2008. *Anais...* Porto Alegre: SMVRGS, 2008.

LEÓN, M. Actualizaciones en el manejo de la filariosis canina producida por *Dirofilaria immitis*. **Consulta de Difusión Veterinaria**, v. 18, n. 167, p. 35-38, 2010.

LEWIS, T.W.; BLOTT, S.C.; WOOLLIAMS, J.A. Comparative analyses of genetic trends and prospects for selection against hip and elbow dysplasia in 15 UK dog breeds. **BMC Genetics**, v. 14, n. 1, p. 16, 2013.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P. Immunohistochemical diagnosis of *Neospora caninum* in tissue sections. **American Journal of Veterinary Research**, v. 50, n. 11, p. 1981-1983, 1989.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P. Long-term survival of *Toxoplasma gondii* sporulated oocysts in seawater. **Journal of Parasitology**, v. 95, n. 4, p. 1019 - 1020, 2009.

LINDSAY, D.S.; DUBEY, J.P.; BUTLER, J.M.; BLAGBURN, B.L. Mechanical transmission of *Toxoplasma gondii* oocysts by dogs. **Veterinary Parasitology**, 73(1-2), p.27-33, 1997.

LITSTER, A.L.; PRESSLER, B.; VOLPE, A.; DUBOVI, E. Accuracy of a point-of-care ELISA test kit for predicting the presence of protective canine parvovirus and canine distemper virus antibody concentrations in dogs. **Veterinary Journal**, v. 193, n. 2, p. 363-366, 2012.

LOHI, H.; OSTRANDER, E.A.; RUVINSKY, A. Genetics of Neurological Disease in the Dog. **Genetics of the Dog**, 2012. 189 p.

LOPES, C.W.G. O gênero *Sarcocystis* (Lankester, 1882) (Apicomplexa: Sarcocystidae), uma questão a ser reavaliada no Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 13, supl. 1, p. 14-16, 2004.

LOPES, M.G.; MENDONÇA, I.L.; FORTES, K.P.; AMAKU, M.; PENA, H.F.J.; GENNARI, S.M. Presence of antibodies against *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Leishmania infantum* in dogs from Piauí. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 2, p. 111-114, 2011.

LOTSIKAS, P.J.; CANAPP, S.O.; DYCE, J.; KIRKBY, K.; CHRISTOPHER, S.; RIDGE, P.A.; VAN DYKE, J.B. Disorders of the Pelvic Limb: Diagnosis and Treatment. **Canine Sports Medicine and Rehabilitation**, v. 32, n. 1, p. 267-295, 2013.

LOWSETH, L.A.; GILLET, N.A.; GERLACH, R.F.; MUGGENBURG, B.A. The effects of aging on hematology and serum chemistry values in the beagle dog. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 19, n. 1, p. 13-19, 1990.

MACHADO, V.M.V.; VULCANO, T.C.C.D.; L. C.; MAMPRIM, M.J. Principais afecções da coluna vertebral de cães: estudo retrospectivo (1995-2005). **Veterinária e Zootecnia**, v. 13, n. 2, p. 144-152, 2012.

MADDISON, J.E. Making drug choices: rational antibacterial therapy. **Irish Veterinary Journal**, v. 62, n. 7, p. 469-475, 2009.

MAESTRI, M.C.H.; TONELO, L.M.; D'AGOSTINI, F.M.; MÜLLER, G.A.; DALLANORA, F.J.; WAGNER, G. Prevalência de enteroparasitos em cães no município de Capinzal, Santa Catarina, Brasil. **Unoesc & Ciência-ACBS**, v. 3, n. 2, p. 183-190, 2012.

MAGALHÃES, A.M.; RAMADINHA, R.R.; BARROS, C.S.; PEIXOTO, P.V. Estudo comparativo entre citopatologia e histopatologia no diagnóstico de neoplasias caninas. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 21, n. 1, p. 23-32, 2001.

MARTINEZ, M.; MCDERMOTT, P.; WALKER, R. Pharmacology of the fluoroquinolones: a perspective for the use in domestic animals. **Veterinary Journal**, v. 172, n. 1, p. 10-28, 2006.

MCALLISTER, M.M.; PARMLEY, S.F.; WEISS, L.M.; WELCH, V.J.; MCGUIRE, A.M. An immunohistochemical method for detecting bradyzoite antigen (BAG5) in *Toxoplasma gondii*-infected tissues cross-reacts with a *Neospora caninum* bradyzoite antigen. **Journal of Parasitology**, v. 82, n. 2, p. 354-355, 1996.

MEIRELES, L.R. **Estudo das fontes de infecção da toxoplasmose humana em diferentes localidades do estado de São Paulo, São Paulo – SP**. 2001. 141f. Mestrado (Ciências Biológicas) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2001.

MEIRELES, L.R.; GALISTEU, A.J.; POMPEU, E.; ANDRADE, H.F. *Toxoplasma gondii* spreading in an urban area evaluated by seroprevalence in free-living cats and dogs. **Tropical Medicine and International Health**, v. 9, n. 8, p. 876–881, 2004.

MELLO, V. Um cas de toxoplasmose du chien observe à Turin. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, v. 6, n.1, p. 10-15, 1910.

MENDONÇA, C.S.; MUNDIM, A.V.; COSTA, A.S.; MORO, T.V. Erliquiose canina: Alterações hematológicas em cães naturalmente infectados. **Bioscience Journal**, v. 21, n. 1, p. 167-174, 2005.

MESQUITA, L.P.; ABREU, C.C.; NOGUEIRA, C.I.; WOUTERS, A.T.; WOUTERS, F.; BEZERRA JÚNIOR, P.S.; VARASCHIN, M.S. Prevalence and anatomopathological findings of primary cardiac neoplasms of the heart base tissues and metastases in dogs from southern Minas Gerais, Brazil (1994-2009). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 11, 1155-1163, 2012.

MILLER M.A.; MILLER, W.A.; CONRAD, P.A.; JAMES, E.R.; MELLI, A.C.; LEUTENEGGER, C.M.; DABRITZ, H.A.; PACKHAM, A.E.; PARADIES, D.; HARRIS, M.; AMES, J.; JESSUP, D.A.; WORCESTER, K.; GRIGG, M.E. Type X *Toxoplasma gondii* in a wild mussel and terrestrial carnivores from coastal California: new linkages between terrestrial mammals, runoff and toxoplasmosis of sea otters. **International Journal for Parasitology**, v. 38, n. 11, p. 1319-1328, 2008.

MINEO, T.W.P.; SILVA, D.A.O.; COSTA, G.H.N.; ANCKEN, A.C.B.; KASPER, L.H.; SOUZA, M.A.; CABRAL, D.D.; COSTA, A.J.; MINEO, J.R. Detection of IgG antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs examined in a Veterinary hospital from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 98, n. 4, p. 239-245, 2001.

MINEO, T.W.P.; SILVA, D.A.O.; NÄSLUND, K.; JJÖRKMAN, C.; UGLA, A.; MINEO, J.R. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* serological status of different canine populations from Uberlândia, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 3, p. 414-417, 2004.

MINERVINO, A.H.H.; CASSINELLI, A.B. M.; DE LIMA, J.T.R.; SOARES, H.S.; ALHEIROS, A.F.; MARCILI, A.; GENNARI, S.M. Prevalence of anti-*Neospora caninum* and anti - *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs in two different indigenous communities in the Brazilian Amazon region. **Journal of Parasitology**, v. 98, n. 6, p. 1276-1278, 2012.

MINTO, B.W.; BRANDÃO, C.V.S.; PEREIRA, G.J.C.; STEAGALL, P.V.M.; MAMPRIM, M.J.; RANZANI, J.J.T. Artroplastia total coxofemoral em cães. Estudo experimental com prótese nacional. **Ciência Rural**, v. 38, n. 1, p. 136-142, 2008.

MIRANDA, F.J.B.; ALBERNAZ, A.P.; MELO JR, O.A.; MACHADO, J.A. Frequência de cães infectados por *Babesia* spp. em Campos dos Goytacazes, RJ. **Ciência Animal Brasileira**, v. 9, n. 1, p. 238-241, 2008.

MIRANDA, F.J.B.; ALBERNAZ, A.P.; VIESTEL, M.A.D.; MELO JR, A.O.; MACHADO, J.A.; ALVES, R.B.M.; CARVALHO, C.B. Infecção simultânea por *Ehrlichia canis*, *Babesia canis* e vírus da cinomose canina. **Jornal Brasileiro de Ciência Animal**, v. 3, n. 6, p. 238-246, 2011.

MISSAWA, N.A.; MICHALSKY, E.M.; FORTES-DIAS, C.L.; SANTOS, E.D. *Lutzomyia longipalpis* naturally infected by *Leishmania (L.) chagasi* in Várzea Grande, Mato Grosso State, Brazil, an area of intense transmission of visceral leishmaniasis. **Caderno de Saúde Pública**, v. 26, n. 12, p. 2414-241, 2010.

MOORE, G.E.; BURKMAN, K.D.; CARTER, M.N.; PETERSON, M.R. Causes of death or reasons for euthanasia in military working dogs: 927 cases (1993-1996). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 219, n. 2, p. 209-214, 2001.

MORAIS, H.A.; HOSKINS, J.; ALMOSNY, N.R.P.; LABARTHE, N.V. Diretrizes gerais para diagnóstico e manejo de cães infectados por *Ehrlichia* spp. **Revista Clínica Veterinária**, v. 9, n. 1, p. 28-30, 2004.

MOREIRA S.M.; BASTOS C.V.; ARAÚJO R.B.; SANTOS M.; PASSOS L.M.F. Retrospective study (1998-2001) on canine ehrlichiosis in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 2, p. 141-147. 2003.

MORENO, K.; BRACARENSE, A.P.F.R.L. Estudo retrospectivo de linfoma canino no período de 1990-2004 na região norte do Paraná; Retrospective study of canine lymphoma in period 1990-2004, north region the of Paraná. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 44, supl. 1, p. 46-52, 2007.

MORETTI, L.A.; UENO, T.E.; RIBEIRO, M.G.; AGUIAR, D.M.; PAES, A.C.; PEZERICO, S.B.; SILVA, A.V. Toxoplasmose em cães co-infectados com o vírus da cinomose. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 23, n. 1, p. 85-91, 2002.

MORETTI, L.D.; DA SILVA, A.V.; RIBEIRO, M.G., PAES, A.C.; L ANGONI, H. *Toxoplasma gondii* genotyping in a dog co-infected with distemper virus and ehrlichiosis rickettsia. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n.6, p. 359-363, 2006.

MORGAN, R.V.; BACHRACH, J.R.A. Keratoconjunctivitis sicca associated with sulfonamide therapy in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 180, n. 4, p. 432, 1982.

MORO, L.; ALVES, C.M.; SANTOS, F.G.A.; NUNES, J.E.S.; CARNEIRO, R.A.; VASCONCELOS, A.C. Occurrence of apoptosis in leukocytes in the peripheral blood smear and in syncytia in canine distemper infection in vivo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 55, n. 1, p. 110-112, 2003.

- MOROZ, L.R.; SCHWEIGERT, A. Hemangiossarcoma em cão. **Campo Digital**, v. 2, n. 1, p. 50-55, 2007.
- MUIR, W. Trauma: fisiologia, fisiopatologia, clínica e implicações. **Jornal de Emergência Veterinária e Cuidados Intensivos**, v. 16, n. 4, p. 253-263, 2006.
- MÜLLER, N.; ZIMMERMANN, V.; HENTRICH, B.; GOTTSSTEIN, B. Diagnosis of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infection by PCR and DNA hybridization immunoassay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 34, n. 11, p. 2850-2852, 1996.
- MUNDIM, E.C.D.S.; FRANCISCO, M.M.D.S.; SOUZA, J.N.; ALENCAR, M.A.G.; RAMALHO, P.C.D. Incidência de hemoparasitoses em cães (*Canis familiares*) de rua capturados pelo Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) da cidade de Anápolis-GO. **Ensaio e Ciência**, v. 12, n. 2, p. 107-116, 2008.
- NAKAGHI, A.C.H.; MACHADO, R.Z.; COSTA, M.T.; ANDRÉ, M.R.; BALDANI, C.D. Canine ehrlichiosis: clinical, hematological, serological and molecular aspects. **Ciência Rural**, v. 38, n. 3, p. 766-770, 2008
- NAOT, Y.; REMINGTON, J.S. An enzyme-linked immunosorbent assay for detection of IgM antibodies to *Toxoplasma gondii*: use for diagnosis of acute acquired toxoplasmosis. **Journal of Infectious Diseases**, v. 142, n. 5, p. 757-766, 1980.
- NAVARRO, I.T.; FREIRE, R.L.; VIDOTTO, O.; OGAWA, L.; KANO, E.S. Estudo comparativo entre soro e plasma na pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* pela técnica de imunofluorescência em cães atendidos no hospital veterinário da Universidade Estadual de Londrina – PR. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 18, n. 1, p. 15-21, 1997.
- NEER, T.M.; BREITSCHWERDT, E.B.; GREENE, R.T.; LAPPIN, M.R. Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the Infectious Disease Study Group of the ACVIM. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 16, n. 3, p. 309-315, 2002.
- NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**, Elsevier Brasil, Rio de Janeiro, 4 ed, 2010, 1360 p.
- NGUYEN, T.T.D.; CHOE, S.E.; BYUN, J.W.; KOH, H.B.; LEE, H.S.; KANG, S.W. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from Korea. **Acta Parasitologica**, v. 57, n. 1, p. 7-12, 2012.

NISHIKAWA, H.; ARNONI, J.V.; RASSIER, D.S.S.; PIVATO, I.; SILVA, S.S. Prevalência de anticorpos antitoxoplásmicos em animais domésticos no Rio Grande do Sul. 1984. p. 62. **Encontro de Pesquisas Veterinárias, Anais ...** UEL: Londrina, 1984.

NORRIS, J.M.; KROCKENBERGER, M.B.; BAIRD, A.A.; KNUDSEN, G. Canine distemper: re-emergence of an old enemy. **Australian Veterinary Journal**, v. 84, n. 10, p. 362-363, 2006.

NOTOMI, M.K.; KOGIKA, M.M.; IKESAKI, J.Y.H.; MONTEIRO, P.R.G.; MARQUESI, M.L. Estudo retrospectivo de casos de insuficiência renal crônica em cães no período de 1999 a 2002; Retrospective study of chronic renal failure cases in dogs between 1999 a 2002. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 43, n. 1, p. 12-22, 2006.

NUNURA, J.; VÁSQUEZ, T.; ENDO, S.; SALAZAR, D.; RODRIGUEZ, A.; PEREYRA, S.; SOLIS, H. Disseminated toxoplasmosis in an immunocompetent patient from Peruvian Amazon. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 52, n. 2, p. 107-110, 2010.

OCARINO, N.M.; SILVA, A.E.; SERAKIDES, R.; MELO, E.G.; FRANÇA, S.A.; PAIXÃO, T.A. Linfoma ósseo em cão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 57, n. 1, p. 140-142, 2005.

OKADA, M.; KITAGAWA, M.; ITO, D.; ITOU, T.; KANAYAMA, K.; SAKAI, T. Magnetic resonance imaging features and clinical signs associated with presumptive and confirmed progressive myelomalacia in dogs: 12 cases (1997-2008). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 237, n. 10, p. 1160-1165, 2010.

OLIVEIRA FILHO, J.C.; KOMMERS, G.D.; MASUDA, E.K.; MARQUES, B.M.; FIGHERA, R.A.; IRIGOYEN, L.F.; BARROS, C. S. Estudo retrospectivo de 1.647 tumores mamários em cães. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, n. 2, p. 177-185, 2010.

OLIVEIRA, E.C. **Avaliação patológica de doenças hepáticas infecciosas em cães**. 2011. 86 p. Tese (Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2011.

OLIVEIRA, K.D.S.; ARAÚJO, E.G.D.; SILVA, L.A.F.D.; MENEZES, L.B.D. Alterações prostáticas de cães adultos necropsiados na Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás de maio a julho de 2004. **Ciência Animal Brasileira**, v. 8, n. 2, p. 267-272, 2007.

- O'NEILL, D.G.; ELLIOTT, J.; CHURCH, D.B.; MCGREEVY, P.D.; THOMSON, P.C.; BRODBELT, D.C. Chronic Kidney Disease in Dogs in UK Veterinary Practices: Prevalence, Risk Factors, and Survival. **Journal of Veterinary Internal Medicine**. V. 27, n. 4, p. 814-821, 2013.
- ORTOLANI, E.S.; GENNARI, S.M.; PINHEIRO, S.R.; RODRIGUES, A.A.R.; CHIEBAO, D.P.; SOARES, R.M. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em populações animais das aldeias indígenas krucutu e morro da saudade, no município de São Paulo, Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v. 12, n. 1, p. 25 – 28. 2005.
- OTTEN, E.; WESTPHAL, A.; KAJAHN, E. Toxoplasmosis in dogs. **Monatshefte für Praktische Tierheilkunde**, v. 2, 305-308, 1950.
- PAES, A.C.; MANGIA, S.H. Neuropatologia da cinomose. **Veterinária e Zootecnia**, v. 15, n. 3, p. 416-427, 2012.
- PAULAN, S.D.C.; LINS, A.G.D.S.; TENÓRIO, M.D.S.; SILVA, D.T.D.; PENA, H.F.D.J.; MACHADO, R Z.; BUZETTI, W.A.S. Seroprevalence rates of antibodies against *Leishmania infantum* and other protozoan and rickettsial parasites in dogs. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 1, p. 162-166, 2013.
- PELLIZZONI, S.G.; SICUPIRA, P.M.L.; CARLOS, R.S.A; LOPES, C.W.G.; ALBUQUERQUE, G.R. Ocorrência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães apreendidos no Centro de Controle de Zoonoses de Ilhéus, BA, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 31, n. 1, p. 9-12, 2009.
- PENNISI, M.G.; DE MAJO, M.; MASUCCI, M.; BRITTI, D.; VITALE, F.; DEL MASO, R. Efficacy of the treatment of dogs with leishmaniosis with a combination of metronidazole and spiramycin. **Veterinary Record**, v. 156, n. 11, p. 346-349, 2005.
- PETERSON, M.E.; KUTZLER, M.A. **Pediatria de Pequenos Animais**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. 544 p.
- PIMENTA, A.L.; PIZA, E.T.; CARDOSO JUNIOR, R.B.; DUBEY, J.P. Visceral toxoplasmosis in dogs from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 45, n. 3-4, p.323-326, 1993.
- PINTO, A.R.S. **Fatores de risco associados à infecção por *Toxoplasma gondii* em cães atendidos na Policlínica Veterinária da Universidade Federal Fluminense**. 2005. 73p. Doutorado (Ciências Veterinárias) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2005.

PLATT, S. Evaluation and treatment of the head trauma patient. **Practice**, v. 27, n. 1, p. 31-35, 2005.

PLUGGE, N.F.; FERREIRA, F.M.; RICHARTZ, R.R.T.B.; DE SIQUEIRA, A.; DITTRICH, R.L. Occurrence of antibodies against *Neospora caninum* and/or *Toxoplasma gondii* in dogs with neurological signs. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 20, n. 3, p. 202-206, 2011.

POLDERVAART, J.H.; FAVIER, R.P.; PENNING, L.C.; VAN DEN INGH, T.S.G.A.M., ROTHUIZEN, J. Primary hepatitis in dogs: a retrospective review (2002–2006). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 1, p. 72-80, 2009.

POLZIN, D.J. Chronic kidney disease in small animals. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 41, n. 1, p. 15, 2011.

PRATELLI, A.; TEMPESTA, M.; ROPERTO, F.P.; SAGAZIO, P.; CARMICHAEL, L.; BUONAVOGLIA, C. Fatal coronavirus infection in puppies following canine parvovirus 2b infection. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 11, n. 6, p. 550-553, 1999.

PRATS, A. **Neonatologia e Pediatria-Canina e Felina**. 1ª Ed. São Caetano do Sul: InterBook. 2005. 469 p.

PRUETT, S.B. Quantitative aspects of stress-induced immunomodulation. **International Immunopharmacology**, v. 1, n. 3, p. 507-520, 2001.

PYNDIAH, N.; KRECH, U.; PRICE, P.; WILHELM, J. Simplified chromatographic separation of immunoglobulin M from G and its application to toxoplasma indirect immunofluorescence. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 9, n. 2, p. 170-174, 1979.

QUEIROZ, N.M.G.P.; ASSI, J.; OLIVEIRA, T.M.F.S.; MACHADO, R.Z.; NUNES, C.M.; STARKE-BUZETTI, W.A. Diagnóstico da leishmaniose visceral canina pelas técnicas de imunoistoquímica e PCR em tecidos cutâneos em associação com a RIFI e ELISA-teste. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 1, p. 34-40, 2010.

QUINN, P.J.; RAMSDEN, R.O.; JOHNSTON, D.H. Toxoplasmosis: A serological survey in Ontario wildlife. **Journal of Wildlife Diseases**, v. 12, n. 4, p. 504-510, 1976.

RABELO, R.C. **Estudio y valor pronóstico de los parámetros relacionados con supervivencia en clínica de urgencias de pequeños animales: estudio multicéntrico**. 2008. 256p. Tesis (Medicina Veterinária) – Universidad Complutense de Madrid, 2008.

RABELO, R.C.; CROWE, J.D.T. **Fundamentos de Terapia Intensiva Veterinária em Pequenos Animais: Condutas no Paciente Crítico**. LF Livros, 2005, 772 p.

RABELO, R.C.; MACHADO, T.V.; DE MELLO, Q.I. Tratamento do trauma cranioencefálico grave com descompressão abdominal não-cirúrgica no cão: Relato de caso. **Medvep - Revista Científica de Medicina Veterinária - Pequenos Animais e Animais de Estimação**, v. 8, n. 24, p. 65-71, 2010

RAGOZO, A.M.A.; AZEVEDO, S.S.; VASCONCELLOS, S.A.; BATISTA, C.S.A.; AGUIAR, D.M.; RODRIGUES, A.A.R.; ALVES, C.J.; GENARI, S.M. *Toxoplasma gondii* em cães da cidade de Campina Grande, Paraíba: soropidemiologia e fatores de risco. **Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, 13, *Anais* 2004. p. 217, Ouro Preto. CBPV: Jaboticabal. 2004.

RAMSEY, I. **BSAVA Small Animal Formulary**. Gloucester: BSAVA. 2011. 426 p.

REIS, C.R.; REIS, H.R.; GONÇALVES, D.D.; LOPES, F.M.R.; CARLETTI, R.T.; SILVA, M.F.; FREIRE, R.L.; NAVARRO, I.T. Levantamento sorológico da toxoplasmose em Bela Vista do Paraíso, Paraná, Brasil. **Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, 13, *Anais* 2004. p. 211, Ouro Preto. CBPV: Jaboticabal. 2004.

REZENDE, R.S.; COELHO, H.E.; KAMIMURA, R.; SEVERINO, R.S.; OLIVEIRA, P.C.L.; MEDEIROS, A.A.; MAGALHÃES, A.O.C. Análise microscópica do miocárdio ventricular esquerdo em cães soropositivos para cinomose. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 2, p. 117-119, 2009.

RHA, J.; MAHONY, O. Bronchoscopy in small animal medicine: indications, instrumentation, and techniques. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 14, n. 4, p. 207-212, 1999.

RHODES, A.; BENNETT, E.D. Early goal-directed therapy: an evidence-based review. **Critical Care Medicine**, v. 32, n. 11, p. S448-S450, 2004.

RIBEIRO, R.R.; SILVA, M.E.; SILVA, S.M.; FULGÊNCIO, G.O.; PENA, H.F.J.; FRÉZARD, F.; MICHALICK, M.S.M.; GENNARI, S.M. Occurrence of anti-*Neospora caninum* and anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in dogs with visceral leishmaniasis. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 6, p. 527-532, 2011.

ROBBINS, J.R.; ZELDOVICH, V.B.; POUKCHANSKI, A.; BOOTHROYD, J.C.; BAKARDJIEV, A.I. Tissue barriers of the human placenta to infection with *Toxoplasma gondii*. **Infection and Immunity**, v. 80, n. 1, p. 418-428, 2012a.

ROBBINS, J.R.; ZELDOVICH, V.B.; POUKCHANSKI, A.; BOOTHROYD, J.C.; BAKARDJIEV, A.I. Tissue barriers of the human placenta to infection with *Toxoplasma gondii*. **Infection and Immunity**, v. 80, n. 1, p. 418-428, 2012b.

ROCHA, L.B.; TUDURY, E.A.; ROEHSIG, C.; BARAÚNA, D.; CHIORATTO, R.; ARAÚJO, F.P.; KEMPER, B. Denervação articular coxofemoral em cães com doença articular degenerativa secundária à displasia. **Ciência Animal Brasileira**, v. 14, n. 1, p. 120-134, 2013.

ROMANELLI, P.R.; FREIRE, R.L.; VIDOTTO, O.; MARANA, E.R.; OGAWA, L.; DE PAULA, V.S.; GARCIA, J.L. NAVARRO, I.T. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Parana State, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 82, n. 2, p. 202–207, 2007.

ROSADO, I.R.; GUIMARÃES, A.M.; OLIVEIRO, T.M.F.S. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães atendidos em clínicas veterinárias de Lavras, Minas Gerais. **Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária**, 13, *Anais ...* 2004. p. 217, Ouro Preto. CBPV: Jaboticabal. 2004.

ROSSMEISL JR, J.H.; JONES, J.C.; ZIMMERMAN, K.L.; ROBERTSON, J.L. Survival time following hospital discharge in dogs with palliatively treated primary brain tumors. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 242, n. 2, p. 193-198, 2013.

ROTHOVA, A.; BOSCH-DRIESSEN, L.E.; VAN LOON, N. H.; TREFFERS, W.F. Azithromycin for ocular toxoplasmosis. **British journal of ophthalmology**, v. 82, n. 11, p. 1306-1308, 1998.

RUIZ, A.; FRENKEL, J.K. Intermediate and transport hosts of *Toxoplasma gondii* in Costa Rica. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 29, n. 6, p.1161-1166, 1980.

RUÍZ, R.; CASAS, A.; SUÁREZ, A.; DÍAZ, C.; FERNÁNDEZ, P. Frequency of antibodies against *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs with clinical signs of neuromuscular disease. **Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú (RIVEP)**, v. 23, n. 4, p. 441-447, 2012.

RYDER, S.D. Guidelines for the diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma (HCC) in adults. **Gut**, v. 52, sup. 3, p. 1-8, 2003.

SABIN, A.B.; FELDMAN, H.A. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (*Toxoplasma*). **Science**, v. 108, n. 2815, p. 660-663, 1948.

SABIN, A.B.; WARREN, J. Therapeutic effectiveness of certain sulfonamides on infection by an intracellular protozoon (*Toxoplasma*). **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v. 51, n. 1, p. 19-23, 1942.

SAITOH, Y.; ITAGAKI, H. Dung beetles, *Onthophagus* spp., as potential transport hosts of feline coccidia. Nihon juigaku zasshi. **Japanese Journal of Veterinary Science**, v. 52, n. 2, p. 293, 1990.

SAKAMOTO, K.P.; DE MELO, G.D.; MACHADO, G.F. T and B lymphocytes in the brains of dogs with concomitant seropositivity to three pathogenic protozoans: *Leishmania chagasi*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*. **BMC Research Notes**, v. 6, n. 1, p. 226, 2013.

SALATA, E.; YOSHIDA, E.L.A.; PEREIRA, E.A.; CORRÊA, F.M.A. Toxoplasmose em animais silvestres e domésticos da região de Botucatu, estado de São Paulo, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 27, n. 1, p. 20-22, 1985.

SALGADO, F.P. **Identificação de hemoparasitos e carrapatos de cães procedentes do Centro de Controle de Zoonoses de Campo Grande, estado do Mato Grosso do Sul, Brasil**. 2006. 55p. Dissertação (Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2006.

SANTOS, R.P.; FIGHERA, R.A.; BECKMANN, D.V.; BRUM, J.S.; RIPPLINGER, A.P.; NETO, D.; MAZZANTI, A. Neoplasms affecting the central nervous system of dogs: 26 cases (2003-2011). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 32, n. 2, p. 153-158, 2012.

SANTOS, R.P.; MAZZANTI, A.; BECKMANN, D.V.; BERTÉ, L.; RIPPLINGER, A.; NETO, D.P.; BAUMHARDT, R. Recuperação funcional em cães com doença do disco intervertebral toracolombar sem percepção à dor profunda: 37 casos (2002-2010). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 31, n. 4, p. 345-349, 2011.

SANTOS, T.R.; COSTA, A.J.; TONIOLLO, G.H.; LUVIZOTTO, M.C.; BENETTI, A.H.; SANTOS, R.R.; MATTA, D.H.; LOPES, W.D.; OLIVEIRA, J.A.; OLIVEIRA, G.P. Prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in dairy cattle, dogs, and humans from the Jauru micro-region, Mato Grosso state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 161, n. 3-4, p. 324-326, 2009.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. FEPMVZ: Belo Horizonte, 2002. 265p.

SARIDOMICHELAKIS, M.N.; ATHANASIOU, L.V.; SALAME, M.; CHATZIS, M.K.; KATSODAS, V.; PAPPAS, I.S. Serum pharmacokinetics of clindamycin hydrochloride in normal dogs when administered at two dosage regimens. **Veterinary dermatology**, v. 22, n. 5, p. 429-435, 2011.

SCHATZBERG, S.J.; HALEY, N.J.; BARR, S.C.; DELAHUNTA, A.; OLBY, N.; MUNANA, K.; SHARP, N.J. Use of a multiplex polymerase chain reaction assay in the antemortem diagnosis of toxoplasmosis and neosporosis in the central nervous system of cats and dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 64, n. 12, p. 1507-1513, 2003.

SCHIFFRIN, E.L.; LIPMAN, M.L.; MANN, J.F. Chronic kidney disease effects on the cardiovascular system. **Circulation**, v. 116, n. 1, p. 85-97, 2007.

SEOANE, M.P.D.R. **Avaliação da ocorrência das alterações ultrassonográficas na cavidade abdominal, detectadas em cães idosos clinicamente saudáveis atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal do Paraná**. 2012. 113 p. Tese (Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2012.

SEQUEIRA, J.L.; FRANCO, M.; BANDARRA, E.P.; FIGUEIREDO, L.M.; ROCHA, N.S. Características anatomoclínicas dos linfomas caninos na região de Botucatu, São Paulo; Clinicopathological aspects of canine lymphoma in Botucatu region, São Paulo, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 51, n. 3, p. 245-9, 1999.

SEVÁ, A.P.; DA SILVA, R.C.; DA SILVA, A.V.; DE CASTRO, A.P.B.; MENOZZI, B.D., LANGONI, H. Avaliação da virulência de cepas de *Toxoplasma gondii*, em camundongos, isolados de cães com sinais neurológicos, em Botucatu, SP. **Veterinária e Zootecnia**, v. 13, n. 1, p. 33-43, 2006.

SHAHZAD, A.; SARWAR, K.M.; ASHRAF, K.; AVAIS, M.; PERVEZ, K.; ALI, K.J. Sero-epidemiological and haematological studies on toxoplasmosis in cats, dogs and their owners in Lahore, Pakistan. **Journal of Protozoology Research**, v. 16, p. 59-73, 2006.

SHEPARD, R.M.; FALKNER, F.C. Pharmacokinetics of azithromycin in rats and dogs. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 25, suppl. A, p. 49-60, 1990.

SILVA, D.A.O.; CABRAL, D.D.; BERNARDINA, B.L.D.; SOUZA, M.A.; MINEO, J.R. Detection of *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs. A comparative study of immunoenzymatic, immunoflorescent and haemagglutination titers. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, n. 6, p. 785-789, 1997.

- SILVA, D.A.O.; LOBATO, J.; MINEO, T.W.P.; MINEO, J.R. Evaluation of serological tests for the diagnosis of *Neospora caninum* infection in dogs: optimization of cut off titers and inhibition studies of cross-reactivity with *Toxoplasma gondii*. **Veterinary Parasitology**, v. 143, n. 3-4, p. 234-244, 2007.
- SILVA, G.C.F.D.; BENITEZ, A.D.N.; GIROTTO, A.; TARODA, A.; VIDOTTO, M.C.; GARCIA, J.L.; VIDOTTO, O. Occurrence of Ehrlichia canis and Anaplasma platys in household dogs from northern Parana. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 4, p. 379-385, 2012.
- SILVA, G.C.F.D.; BENITEZ, A.D.N.; GIROTTO, A.; TARODA, A.; VIDOTTO, M.C.; GARCIA, J.L.; VIDOTTO, O. Occurrence of Ehrlichia canis and Anaplasma platys in household dogs from northern Parana. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 4, p. 379-385, 2012.
- SILVA, M.C.; FIGHERA, R.A.; JULIANA, S.; GRAÇA, D.L.; KOMMERS, G.D.; IRIGOYEN, L.F.; BARROS, C.S. Aspectos clinicopatológicos de 620 casos neurológicos de cinomose em cães: Clinicopathological features in 620 neurological cases of canine distemper. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 5, p. 215-220, 2007.
- SILVA, N.M.; LOURENÇO, E.V.; SILVA, D.A.O.; MINEO, J.R. Optimisation of cut-off titres in *Toxoplasma gondii* specific ELISA and IFAT in dog sera using immunoreactivity to SAG-1 antigen as a molecular marker of infection. **Veterinary Journal**, v. 163, n. 1, p. 94-98, 2002.
- SILVA, R.C.; ROLIM, R.G.; TANAKA E.M.; LANGONI, H.; LOPES, A.; ROCHA, F.; SOUZA, L. Avaliação soropidemiológica da toxoplasmose, leptospirose e leishmaniose canina no município de Ubatuba, SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 70, supl. 3, p. 424-428, 2003.
- SIQUEIRA, C.L. Manifestações bucais da toxoplasmose congênita: relato de caso. **International Journal of Science Dentistry**, v. 2, n. 34, p. 25-28, 2013.
- SLATTER, D.H. Manual de cirurgia de pequenos animais. Ed. Manole, 1998. 1368 p.
- SNYDER, J.M.; SHOFER, F.S.; WINKLE, T.J.; MASSICOTTE, C. Canine intracranial primary neoplasia: 173 cases (1986-2003). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, n. 3, p. 669-675, 2006.
- SOGORB, S.F.; JAMRA, L.F.; GUIMARÃES, E.C. Toxoplasmose em animais de São Paulo, Brasil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 19, n. 3, p. 191-194, 1977.

SOGORB, S.F.; JAMRA, L.F.; GUIMARÃES, E.C. Toxoplasmose em cães de São Paulo. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 18, n. 1, p. 36-41, 1976.

SOGORB, S.F.; JAMRA, L.F.; GUIMARÃES, E.C.; DEANE, M.P. Toxoplasmose espontânea em animais domésticos e silvestres em São Paulo. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 14, n. 5, p. 314-320. 1972.

SONG, R.B.; VITE, C.H.; BRADLEY, C.W.; CROSS, J.R. Postmortem Evaluation of 435 Cases of Intracranial Neoplasia in Dogs and Relationship of Neoplasm with Breed, Age, and Body Weight. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 27, n. 5, p. 1143-1152, 2013.

SORENMO, K. Canine mammary gland tumors. The Veterinary clinics of North America. **Small Animal Practice**, v. 33, n. 3, p. 573, 2003.

SOUZA, A.F.A.; TUDURY, E.A. Displasia coxofemoral: diagnóstico clínico e radiográfico: revisão. **Clínica Veterinária**, v. 47, n. 1, p. 54-66, 2003.

SOUZA, M.G.; HIGA, A.C.; GERARDI, D.G.; TINUCCI-COSTA, M.; MACHADO, R.Z. Tratamento da erliquiose canina de ocorrência natural com doxiciclina, precedida ou não pelo dipropionato de imidocarb. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 3, n. 2, p. 126-130, 2004.

SOUZA, S.L.P.; RAGOZO, A.M.A.; GUIMARÃES, J.S.; FERREIRA, F.; GENARI, S.M. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães de propriedades produtoras de leite B da região Norte do Estado do Paraná. **Jornal Brasileiro de Patologia**, v. 37, n., p. 46, 2001.

SOUZA, W.J.S.; ANDRADE, D.P.M.; FURTADO, A.C.; NETA, M.B.E.; JUVENAL, M.F.; BERCO, S.P.S.; FERNANDES, C.G.N.; MOURA, S.T. Frequência da toxoplasmose canina em Mato Grosso – Cuiabá, Brasil. **Jornal Brasileiro de Patologia**, v. 37, n., p. 257, 2001.

SPAGNOL, C.; ROZZA, D.; OLIVEIRA, S.T.D.; SCHWANTES, V.C. Ocorrência de cardiopatias em cães com insuficiência cardíaca encaminhados ao Setor de Patologia Veterinária de janeiro de 2003 a maio de 2004. **Salão de Iniciação Científica**, 16, *Resumos...* Porto Alegre. Porto Alegre: UFRGS, 2004.

STEINMETZ, S.; TIPOLD, A.; LÖSCHER, W. Epilepsy after head injury in dogs: A natural model of posttraumatic epilepsy. **Epilepsia**, v. 54, n. 4, p. 580-588, 2013.

STERNBERGER, L.; HARDY, P.H.; CUCULIS, J.J.; MEYER, H.G. The unlabeled antibody method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen antibody complex (Horseradish peroxidase anti horseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 18, n. 5, p. 315-333, 1970.

- STRAMBA-BADIALE, M.; NADOR, F.; PORTA, N.; GUFFANTI, S.; FREDIANI, M.; COLNAGHI, C.; SCHWARTZ, P.J. QT interval prolongation and risk of life-threatening arrhythmias during toxoplasmosis prophylaxis with spiramycin in neonates. **American Heart Journal**, v. 133, n. 1, p. 108-111, 1997.
- STRAY-PEDERSEN, B. Toxoplasmosis in pregnancy. **Baillière's Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v. 7, n. 1, p. 107-137, 1993.
- STRIGARI, L.; SCIUTO, R.; REA, S.; CARPANESE, L.; PIZZI, G.; SORIANI, A.; MAINI, C.L. Efficacy and toxicity related to treatment of hepatocellular carcinoma with 90Y-SIR spheres: radiobiologic considerations. **Journal of Nuclear Medicine**, v. 51, n. 9, p. 1377-1385, 2010.
- SUMI, M.; HATA, S.; SATO, K.; FUJIKAWA, Y.; SHIMIZU, I.; UEKI, T.; KOBAYASHI, H. Severe pulmonary toxoplasmosis mimicking viral pneumonitis after a third allogeneic stem cell transplantation in a man with acute lymphoblastic leukemia. **Internal Medicine**, v. 51, n. 20, 2943-2947, 2011.
- SUTER, M.M.; HAUSER, B.; PALMER, D.G.; OETTLI, P. Polymyositis - polyradiculitis due to toxoplasmosis in the dog: serology and tissue biopsy as diagnostic aids. **Zentralblatt für Veterinärmedizin: Reihe B**, v. 31, n. 10, p. 792-798, 1984.
- SWANGO, L.J. **Moléstias Virais Caninas. Tratado de Medicina Interna Veterinária: Doenças do Cão e do Gato**. 4ª ed. São Paulo: Manole, 1992. 3020 p.
- SWINGER, R.L.; SCHIMIDT, K.A.; DUBIELZIG, R.R. Case Report: Keratoconjunctivitis associated with *Toxoplasma gondii* in a dog. **Veterinary Ophthalmology**, v. 12, n. 1, p. 56-60, 2009.
- TAKAHIRA, R.K.; MORAES, L.F. Avaliação dos distúrbios hemostáticos e dos diferentes marcadores prognósticos clínico-laboratoriais em cães com anemia hemolítica. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, n. 1, p. 10-19, 2013.
- TARLOW, J.M.; RUDLOFF, E.; LICHTENBERGER, M.; KIRBY, R. Emergency presentations of 4 dogs with suspected neurologic toxoplasmosis. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v. 15, n. 2, p. 119-127, 2005.
- TATSUO, H.; ONO, N.; YANAGI, Y. Morbilliviruses use signaling lymphocyte activation molecules (CD150) as cellular receptors. **Journal of Virology**, v. 75, n. 13, p. 5842-5850, 2001.

TENÓRIO, A.P.M.; ALMEIDA, E.L.; ALVES, L.C.; BRITO, F.L.C.; SANTOS, J.P.; COELHO, M.C.O.C. *Ehrlichia* sp. em mielócito de cão. **Medicina Veterinária**, v. 1, n. 1, p. 62-65, 2007.

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

TORÍBIO, J.M.D.M.L.; LIMA, A.E.; MARTINS FILHO, E.F.; RIBEIRO, L.G.R.; D'ASSIS, M.J.M.H.; TEIXEIRA, R.G.; NETO, C. Caracterização clínica, diagnóstico histopatológico e distribuição geográfica das neoplasias mamárias em cadelas de Salvador, Bahia. **Revista Ceres**, v. 59, n. 4, p. 427-433, 2012.

TOWBIN, H.; STALHELIN, T.; GORDON, J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, v. 76, n. 9, p. 4350-4354, 1979.

TRAPP, S.M.; IACUZIO, A.I.; BARCA JUNIOR, F.A.; KEMPER, B.; SILVA, L.C.; OKANO, W.; STERZA, F.D.A.M. Causas de óbito e razões para eutanásia em uma população hospitalar de cães e gatos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 5, p. 395-402, 2010.

TREPANIER, L.A. Idiosyncratic toxicity associated with potentiated sulfonamides in the dog. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**, v. 27, n. 3, p. 129-138, 2004.

TWEDT, D.C.; DIEHL, K.J.; LAPPIN, M.R.; GETZY, D.M. Association of hepatic necrosis with trimethoprim sulfonamide administration in 4 dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 11, n. 1, p. 20-23, 1997.

UENO, T.E.H. **Prevalência de infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em matrizes e reprodutores ovinos de rebanhos comerciais do Distrito Federal, Brasil**. 2005. 107p. Dissertação (Epidemiologia Experimental Aplicada Às Zoonoses) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

UCHÔA, C.M.A.; DUARTE, R.; LAURENTINO-SILVA, V.; ALEXANDRE, G.M.C.; FERREIRA, H.G.; AMENDOEIRA, M.R.R. Padronização de ensaio imunoenzimático para pesquisa de anticorpos das classes IgM e IgG anti-*Toxoplasma gondii* e comparação com a técnica de imunofluorescência indireta. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, n. 6, p. 661-669, 1999.

- ULLMANN, L.S.; GUIMARÃES, F.F.; FORNAZARI, F.; TOMÉ, R.O.; CAMOSSO, L.G.; GRECA, H.; SILVA, R.C.; MENOZZI, B.D.; LANGONI, H. Ações de vigilância continuada, papel do cão como animal sentinela para toxoplasmose. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, supl. 1, p. 345-347, 2008.
- ÜSTÜN ALKAN, F.; ÜSTÜNER, O.; BAKIREL, T.; ÇINAR, S.; ERTEN, G.; DENİZ, G. The Effects of Piroxicam and Deracoxib on Canine Mammary Tumour Cell Line. **Scientific World Journal**, v. 2012, n. 1, p. 1-8, 2012.
- VALADAS, S.; MINERVINO, A.H.; LIMA, V.M.; SOARES, R.M.; ORTOLANI, E.L.; GENNARI, S.M.; Occurrence of antibodies anti-*Neospora caninum*, anti-*Toxoplasma gondii* and anti-*Leishmania chagasi* in serum of dogs from Pará State, Amazon Brazil. **Parasitology Research**, v. 107, n. 2, p. 453-457, 2010.
- 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. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 22, n. 1, p. 105-111, 2001.
- VAUGHAN, L.B.; WENZEL, R.P. Disseminated toxoplasmosis presenting as septic shock five weeks after renal transplantation. **Transplant Infectious Disease**, v. 15, n. 1, p. E20-E24, 2013.
- VENTURA, F.V.C.; DE OLIVEIRA, S.T. Etiologia e terapia das endocardites bacterianas em cães-revisão. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 14, n. 2, p. 145-150, 2013.
- VERNAU, K.M.; KORTZ, G.D.; KOBLIK, P.D.; LECOUTEUR, R.A.; BAILEY, C.S.; PEDROIA, V. Magnetic resonance imaging and computed tomography characteristics of intracranial intra-arachnoid cysts in 6 dogs. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 38, n. 3, p. 171-176, 1997.
- VEZZANI, D.; CARBAJO, A.E.; FONTANARROSA, M.F.; SCODELLARO, C.F.; BASABE, J.; CANGIANO, G.; EIRAS, D.F. Epidemiology of canine heartworm in its southern distribution limit in South America: Risk factors, inter-annual trend and spatial patterns. **Veterinary Parasitology**, v. 176, n. 2, p. 240-249, 2011.
- VIDOTO, O. Toxoplasmose: Epidemiologia e importância da doença na saúde animal. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 13, n. 1, p. 69-75, 1992.

- VITAL, T.E.; BARBOSA, M.R.A.; ALVES, D.D.S.M.M. Ocorrência de parasitos com potencial zoonótico em fezes de cães e gatos do Distrito Federal. **Ensaios e Ciência**, v. 16, n. 1, p. 9-23, 2012.
- WALLACE, G.D. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii* by cockroaches. **Journal of Infectious Diseases**, v. 126, n. 5, p. 545-547, 1972.
- WALLACE, G.D. Experimental transmission of *Toxoplasma gondii* by filth-flies. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 20, n. 3, p. 411-413, 1971.
- WALLACE, G.D. Intermediate and transport hosts in the natural history of *Toxoplasma gondii*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 22, n. 4, p.456-464, 1973.
- WATSON, P.J. Chronic hepatitis in dogs: a review of current understanding of the aetiology, progression, and treatment. **Veterinary Journal**, v. 167, n. 3, p. 228-241, 2004.
- WEBB, J.A.; KELLER, S.L.; SOUTHORN, E.P.; ARMSTRONG, J.; ALLEN, D.G.; PEREGRINE, A.S.; DUBEY, J.P. Cutaneous manifestations of disseminated toxoplasmosis in an immunosuppressed dog. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 41, n. 3, p.198-202, 2005.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Control of Leishmaniasis. **Technical Report Series**, v. 949, p. 1-186, 2010.
- YARIM, G.F.; NISBET, C.; ONCEL, T.; CENESIZ, S.; CIFTCI, G. Serum protein alterations in dogs naturally infected with *Toxoplasma gondii*. **Parasitology Research**, v. 101, n. 5, p. 1197-1202, 2007.
- YSHIZUKA, M.M.; MIGUEL, O.; BROGLIATO, D.F. Estudo comparativo entre as provas de Sabin-Feldman e imunofluorescência indireta para avaliação de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em soros de cães. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP**, v. 11, n. 2, p. 127-132, 1974.
- YSHIZUKA, M.M.; YASUDA, P.H. Incidência de infecção por *Toxoplasma gondii* em cães do município de São Paulo. **Revista da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP**, v. 18, n. 2, p. 161-165, 1981.
- ZHU, C.H.; CUI, L.L.; ZHANG, L.S. Comparison of a Commercial ELISA with the Modified Agglutination Test for Detection of *Toxoplasma gondii* Antibodies in Sera of Naturally Infected Dogs and Cats. **Iranian Journal of Parasitology**, v. 7, n. 3, p. 89-95, 2012.

ZILIO, D.M.; ARIAS, M.V.B. Progressive hemorrhagic myelomalacia in 14 dogs. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 219-228, 2013.

8. ANEXOS



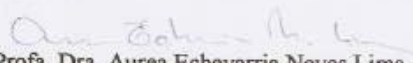
SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
COMISSÃO DE ÉTICA NA PESQUISA DA UFRRJ / COMEP

Protocolo Nº 270/2012

PARECER

O Projeto de Pesquisa intitulado "*As doenças em cães e sua relação com a presença de Toxoplasma gondii e/ou Neospora*" sob a responsabilidade do Prof. Dr. Carlos Wilson Gomes Lopes do Departamento de Parasitologia Animal do Instituto de Veterinária, processo 23083.006805/2012-31, atende aos princípios básicos para pesquisa envolvendo o uso de animais e está de acordo com os princípios éticos e do bem estar animal estando de acordo com a Resolução 714 de 20/06/2002 do CFMV.

UFRRJ, 28/01/2013.


Prof.ª. Dra. Aurea Echevarria Neves Lima
Pró-reitora de Pesquisa e Pós-graduação

Anexo 2. Ficha Clínica

I- Nome do proprietário: _____

II- Endereço completo: _____

Endereço eletrônico email: _____

III- Dados do animal:

Nome: _____, Raça: _____, Porte: _____, Peso: _____,

Pelagem: _____, Idade ou data de nascimento _____

Sexo: () M () F / Castrado: () S () N

IV- Manejo Geral:

Habitat: Apartamento (), Casa s/ quintal (), Casa c/ quintal (), Sítio (), Fazenda ()

Local de manutenção desses animais: C/ o dono (), Canil (), Outros: _____

Modo de limpeza do ambiente: _____

Contato com outros animais: Sim () Não ()

Qual/is: _____

Apetite: Normal () Aumentado () Diminuído () Ausente () Não sabe informar ()

Ato de urinar: Normal () Aumentado () Diminuído () Ausente () Não sabe informar ()

Dieta alimentar Ração () Qual: _____

Comida caseira () Qual: _____

Comida caseira + ração () Qual: _____

V - Possui Méd Vet permanente: Sim () Não ()

Motivo do atendimento no Centro de Terapia Intensiva e Emergência

Veterinária: _____

Anexo 3. Exame físico do animal

I – Número da ficha do proprietário: _____
II- Exame Geral: Atitude/Comportamento: Normal () Apático () Excitado () Deprimido () Em decúbito ()
Estado Nutricional: Obeso () Bom () Regular () Ruim () Caquético ()
Desidratado: Sim () Não ()
Linfonodos: Normais () Aumentados ()
Quais: _____

Temperatura: _____ °C Frequência Cardíaca: _____ bpm. Observação: _____

Frequência Respiratória: _____ mpm. Observação: _____

Intolerância a exercícios: Não () Sim () _____

Mucosas: Normocorada () Pálida () Ictérica () Congesta ()

Secreção Ocular: Não () Sim () Observação: _____

Auricular: Não () Sim () Observação: _____

Secreção Nasal: Não () Sim () Observação: _____

Secreção Genito urinária: Não () Sim () Observação: _____

Pele/Pelos: Bom () Regular () Ruim () Observação: _____

Lesões na pele: Não () Sim () Quais: _____

Carrapatos: Não () Sim () Identifique: _____

Pulgas: Não () Sim () Sarna: Não () Sim () Quais: _____

VI-Observações

Anexo 4. LEAL, P.D.S.; PONTES, P.R.; FLAUSINO, W.; LOPES C.W.G. Diagnóstico de infecções concomitantes por *Cystoisospora ohioensis* e o vírus da cinomose - Relato de dois casos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 33, n. 3, p. 184-188, 2011.

DIAGNÓSTICO DE INFECÇÕES CONCOMITANTES POR *Cystoisospora ohioensis* E O VÍRUS DA CINOMOSE - RELATO DE DOIS CASOS*

DIAGNOSTIC OF AN CONCOMITANT INFECTIONS DUE TO *Cystoisospora ohioensis* AND CANINE DISTEMPER VIRUS - REPORT OF TWO CASES*

Paulo Daniel Sant'Anna Leal¹, Patrícia Rocha Pontes², Walter Flausino³
e Carlos Wilson Gomes Lopes⁴

ABSTRACT. Leal P.D.S., Pontes, P.R., Flausino, W. & Lopes C.W.G. [Diagnostic of concomitant infections due to *Cystoisospora ohioensis* and canine distemper virus - Report of two cases]. Diagnóstico de infecções concomitantes por *Cystoisospora ohioensis* e o vírus da cinomose -Relato de dois casos. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 33(3): 184-188, 2011. Curso de Pós-Graduação de Ciências Veterinárias. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. BR 465 km 7. Seropédica, 23.890-000, RJ. Brasil. E-mail: pauloleal@ctiveterinario.com.br

In routine clinical diagnosis is based, with attention to developments and laboratory findings which intercurrent infections have been observed frequently. We report two cases of clinical laboratory diagnosis in *Cystoisospora ohioensis* infection associated with canine distemper virus in dogs. Thereby proving the value of visualization of viral inclusions (Lentz corpuscles) in red blood cells and antibodies in the diagnosis of canine distemper, need to find oocysts in stool, measurement of the oocysts, and sporozoites in their respective cistoisosporese by *C. ohioensis*.

KEY WORDS. Enteritis, canine distemper, coccidiosis, concomitant infections.

RESUMO. Na rotina clínica o diagnóstico é fundamental, com atenção para a evolução e em achados laboratoriais onde as infecções intercorrentes têm sido observadas com frequência. Relata-se dois caso de diagnóstico clínico laboratorial na infecção por *Cystoisospora ohioensis* associado ao vírus da cinomose em cães. Comprovando assim, o valor do exame clínico, da visualização de inclusões virais (Corpúsculo de Lentz) em hemácias e detecção de anticorpos no diagnóstico da cinomose, necessidade de encontro de oocistos nas fezes, mensuração dos oocistos esporulados, e seus

respectivos esporozoitos na cistoisosporese por *C. ohioensis*.

PALAVRAS-CHAVE. Enterite, cinomose, coccidiose, infecções concomitantes.

INTRODUÇÃO

Cystoisospora ohioensis, espécie do gênero *Cystoisospora* (Frenkel & Smith 2003), parasito do intestino de cães, associado a sinais intestinais de diarreia pastosa e/ou líquida (Olson 1985, Dauschies et al. 2000), afeta frequentemente os cães jovens submetidos à aglomeração e manejo inapropriado

* Recebido em 14 de dezembro de 2011.

Aceito para publicação em 24 de maio de 2011.

¹Médico-veterinário, *M. MV*. Curso de Pós-Graduação de Ciências Veterinárias. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). BR 465 km 7. Seropédica, 23.890-000, RJ. E-mail: pauloleal@ctiveterinario.com.br

²Médica-veterinária. Centro de Terapia Intensiva e Emergência Veterinária. Av. das Américas, 3939, Bloco 2, Loja I. Barra da Tijuca, 22.631-003, RJ. E-mail: ctivet@ctiveterinario.com.br

³Biólogo, *PhD*. Departamento em Parasitologia Animal (DPA), Instituto de Veterinária (IV), UFRRJ. BR 465 km 7. Seropédica, 23.890-000, RJ. E-mail: flausino@ufrj.br

⁴Médico-veterinário, *PhD*, *LD*. DPA, IV, UFRRJ. BR 465 km 7. Seropédica, 23.890-000, RJ. E-mail: lopeswlg@ufrj.br

com higiene insuficiente, favorecendo a disseminação dos oocistos que, quando esporulados passam a ser infectantes (Rodrigues & Menezes 2003), o que faz com que ocorram surtos em cães de criação ou se manifestando após a troca de ambiente pelo estresse. O diagnóstico preliminar desta parasitose, que se restringe ao gênero, se faz com a observação de oocistos nas fezes. Para o diagnóstico específico é necessária a mensuração dos oocistos esporulados, e seus respectivos esporocistos (Olson 1985, Oliveira et al. 2000, Teixeira Filho et al. 2010).

Apesar de se manifestar com moderada patogenicidade, principalmente em cães jovens, podem ser predisponentes para doenças virais, que possuem tropismo pelo epitélio intestinal. Dentre estas, a cinomose, doença que acomete trato respiratório, intestinal e o sistema nervoso dos cães, principalmente nos animais jovens, entre três e seis meses de idade (Norris et al. 2006, Silva et al. 2007), com taxa de mortalidade alta, é a segunda depois da raiva, causada por *morbilivírus* (família *Paramyxoviridae*) semelhante aos vírus do sarampo humano, possui linfotropismo, que conduz à imunossupressão com linfopenia (Tatsuo et al. 2001, Moro et al. 2003).

Na rotina clínica o diagnóstico é fundamental, com atenção para a evolução e em achados laboratoriais onde as infecções intercorrentes têm sido observadas com frequência.

O presente trabalho assinala a importância do diagnóstico clínico e laboratorial nas infecções por espécies do gênero *Cystoisospora* associado ao vírus da cinomose em cães, comprovando assim, o valor da visualização de inclusões virais (Corpúsculo de Lentz) em hemácias no diagnóstico da cinomose (Silva et al. 2005) e presença de oocistos no diagnóstico da cistoisporose por *C. ohioensis* (Olson 1985, Conboy 1998, Oliveira et al. 2000).

HISTÓRICO

Dois cães do sexo feminino, com três meses de idade, foram atendidos no Centro de Terapia Intensiva e Emergência Veterinária, com histórico de diarréia fétida e de cor marrom, prostração, que haviam sido primovacinações contra cinomose, desidratação em torno de 6 a 10 %, tempo de preenchimento capilar maior que dois segundos, palpação abdominal acusando dor, descamação na pele, secreção ocular com conjuntiva hiperêmica e baixa produção de lágrima, compatível com ceratoconjuntivite seca. Com suspeita clínica de cinomose.

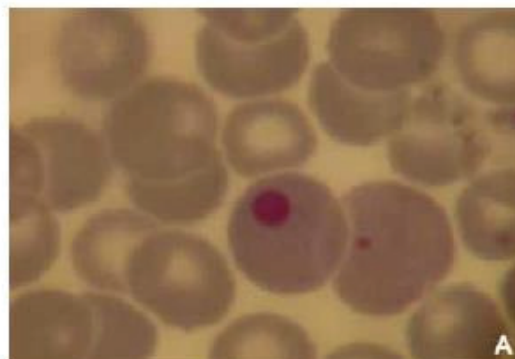


Figura 1. Cinomose em um cão. Inclusão de Lentz em eritrócito (a), estirado de sangue. Panóptico. Obj. 100X. Diagnóstico sorológico positivo (b).



Figura 2. Oocisto esporulado de *Cystoisospora ohioensis* em fezes de um cão. Solução saturada de sacarose. Obj. 40X.

Com o intuito de confirmar a suspeita clínica, coletou-se amostra de sangue em seringa de 5 mL, com agulha 25 x 7 mm onde 3 mL acondicionada em tubo de ensaio pediátrico com anticoagulante (EDTA), e 2 mL em tubo de ensaio pediátrico sem anticoagulante. Com o material da própria se-

Tabela 1. Medidas comparativas de *Cystoisospora ohioensis*.

Referências	Oocistos(µm)		Índice Morfométrico	Esporocistos (µm)	
	Diâmetros			Diâmetros	
	Maior	Menor		Maior	Menor
Rocha e Lopes (1971)	22,42 (18,6-25,5)	18,43 (15,2-21,9)	-	-	-
Soulsby 1987	20-27	15-24	-	-	-
Oliveira et al. (2000)	21,20	18,97	1,12	13,25	10,24
Rodrigues & Menezes, 2003					
Canil de Itaguaí, RJ.	20,83	18,14	1,16	13,67	9,46
Canil no Rio de Janeiro, RJ	21,63	17,30	1,27	13,62	9,81
Teixeira Filho et al. 2010					
Armazenado	23,82	21,24	1,12	19,78	14,35
1ª passagem	26,17	23,23	1,12	16,43	12,67
2ª passagem	20,84	18,59	1,12	13,61	9,59
Presente trabalho	18,95 (17,64-20,58)	17,14 (15,12-19,11)	1,00	14,45 (13,02-15,54)	9,35 (8,40-10,29)

*Canil de Itaguaí, RJ.

*Canil de Rio de Janeiro, RJ.

ringa preparou-se dois estiraços sanguíneos em lâminas de vidro e dosagem da glicose em aparelho automático (Accu-Chek Advantage II - Roche). As amostras foram processadas no próprio local, para hemograma completo (leucograma, eritrograma, plaquetometria, proteína total), com a utilização de aparelho automático (Ms4-Vet-Melet Schloesing Laboratoires coulter), Refratômetro Portátil e Microcentrifuga (E3500108 MICROSPIN CDR). As amostras sem anticoagulante foram centrifugadas em centrífuga (Mod. 208N, Excelsa Baby, marca Fanem Ltda.) a 350 G por 10 minutos, para separação do soro, e utilizando pipeta automática de 3µl, para dosagem do Potássio em aparelho de fotometria de reflectância (Reflotron® Plus Roche).

Os resultados encontrados nos exames hematológicos foram: anemia discreta normocítica hipocrômica, leucopenia com linfopenia, neutropenia, com desvio nuclear de neutrófilos a esquerda discreto regenerativo, eosinopenia e trombocitopenia, proteína plasmática no limite mínimo, glicemia muito abaixo dos valores de normalidade (<20 mg/dL) em um dos casos, e a mensuração do potássio se encontrava dentro da faixa de normalidade em ambos os casos.

A contagem específica dos leucócitos e observações pertinentes foi após coloração do estiraço sanguíneo utilizando coloração hematológica estabelecida por Romanowsky (Panótico Rápido LB). Na citoscopia do estiraço sanguíneo, foram visualizadas em um dos casos, várias inclusões virais (Corpúsculo de Lentz) em hemácias, confirmando o diagnóstico de cinomose (Silva et al. 2005, Almeida et al. 2010).

Amostras fecais foram coletadas em frascos estéreis e armazenadas em temperatura de refrigeração, posteriormente analisadas utilizando a técnica de flutuação em solução saturada de sacarose (Birgel et al. 1982). Com a observação de oocistos, parte das amostras restantes foram homogeneizadas em solução de $K_2Cr_2O_7$ a 2,5% e armazenadas em temperatura ambiente, para se processar a esporulação (Rocha & Lopes 1971). Os oocistos obtidos após esporulação foram medidos com ocular micrométrica K-15X (PZO) e fotografados em microscópio Nikon E 200, sendo a morfologia do oocistos esporulado compatível para *C. ohioensis* (Rocha & Lopes 1971, Oliveira et al. 2000, Rodrigues & Menezes 2003, Teixeira Filho et al. 2010).

Teste Elisa para cinomose (ANIGEN RAPID CDV Ag TEST KIT) foi utilizado para presença de anticorpos contra o vírus da cinomose, constatando a presença de anticorpos contra o vírus da cinomose nos dois casos.

DISCUSSÃO

A ocorrência da coccidiose pode ser exacerbada pelos efeitos imunossupressores da infecção concomitante com o vírus da cinomose (Hoskins 2004). A cistoisporose infecta cães jovens e submetidos a estresse, condição que leva a incompetência do sistema imunológico (Rodrigues & Menezes 2003). Sinais clínicos intestinais como diarreia pastosa e líquida são compatíveis com esta protozoose (Olson 1985, Dauschies et al. 2000). Apesar de se manifestar com moderada patogenicidade em animais jovens, entre três e seis meses de idade, podem ser predisponentes a doenças virais, que possuem tro-

pismo pelo epitélio intestinal, respiratório e sistema nervoso, como é o caso do vírus da cinomose (Olson 1985, Norris et al. 2006, Silva et al. 2007), possuindo linfotropismo, que conduz à imunossupressão com marcante linfopenia (Tatsuo et al. 2001, Moro et al. 2003).

Na cistoisporose é comum a diarreia mucóide ou sanguinolenta, não é incomum haver pneumonia secundária, por imunoincompetência. Nos casos graves há sinais nervosos, ora com apatia ou com tremores, mioclônias e convulsões, devido às lesões entéricas que podem estimular os plexos ou permitir aumento de absorção de substâncias tóxicas intestinais (endotoxinas bacterianas e outras). O exame direto microscópico determinará a presença de oocistos característicos (Corrêa & Corrêa 1992). Lesões no epitélio intestinal associados com *C. ohioensis*, com consequente diarreia, levam a hipofagia ou anorexia (Conboy 1998). Dessa forma, a diminuição da ingestão protéica bem como o comprometimento intestinal são fatores determinantes para a hipoalbuminemia, assim como na cinomose (Silva et al. 2005). Isso justifica a hipoproteinemia (Olson 1985, Conboy 1998), consequência da síndrome de má absorção pelas lesões na mucosa intestinal.

Infecções sem sintomas são descritas particularmente em casos com *C. ohioensis* (Dauguschies et al. 2000), sinais clínicos com alterações na consistência das fezes, diarreia com sangue, dores abdominais, anemia, apatia e morte podem estar associadas a cães jovens, alterações respiratórias e neurológicas também podem ser observadas (Conboy 1998), onde os sinais clínicos se confundem com a cinomose, que variam de acordo com a virulência da cepa infectante, com o estado imunológico e com a idade do animal e com maior frequência são observadas alterações oculares, respiratórias, gastrointestinais e neurológicas (Gebara et al. 2004). Esses sinais podem, isoladamente ou em associação, ser encontrados em outras co-infecções causadas pela imunossupressão do vírus da cinomose, como na da coccidiose (Ettinger & Feldman 1997, Swango 1997, Conboy 1998), dificultando com isso o diagnóstico clínico (Rezende et al. 2009).

A ceratoconjuntivite seca, presente nos casos relatados, que levam a diminuição da secreção lacrimal, é frequente em animais diagnosticados com o vírus da cinomose (Ettinger & Feldman 1997; Tudury et al. 1997), porém se deve atentar para a produção lacrimal estar diminuída devido a desidrata-

ção, principalmente devido a diarreia (Olson 1985, Daugschies et al. 2000).

Os resultados clínicos laboratoriais encontrados são compatíveis com o da cinomose, anemia normocrômica e trombocitopenia (Hoskins 2004, Silva et al. 2005), porém o diagnóstico definitivo, através da citoscopia do estirado sanguíneo, onde foi possível visualizar inclusões virais (Corpúsculo de Lentz) em hemácias em um dos casos, confirmando o diagnóstico de cinomose (Silva et al. 2005, Schweigert et al. 2008). O kit comercial Anigen® Teste Elisa para cinomose (*ANIGEN RAPID CDV Ag TEST KIT*) que constatou a presença de anticorpos contra o vírus da cinomose em ambos os casos detecta a proteína F do vírus, constituinte comum a todas as cepas existentes, com sensibilidade 98,9% e especificidade 97,7% confirmando a suspeita com base nos sinais clínicos, associado a sinais neurológicos possui 100% de sensibilidade (Rezende 2009), lhe conferindo um excelente meio de diagnóstico, assim como a presença de oocistos nas fezes, no diagnóstico da cistoisporose por *C. ohioensis* em cães (Olson 1985, Conboy 1998, Oliveira et al. 2000).

Infecções aparente, alterações no hemograma e no caso em que houve presença da inclusão viral em eritrócitos, determinaram a evolução da infecção, com presença de sinais neurológicos, já se observava, também, leucopenia com linfopenia e neutropenia (Silva et al. 2005, Almeida et al. 2009), a maioria dos animais acometidos por cinomose estarão linfopênicos (Moro et al. 2003). As alterações neurológicas, traduzidas por convulsões, juntamente com sinais vestibulares, como ataxia e nistagmo, e cerebelares, como tremores e hipermetria, são os mais frequentemente encontrados em cães com a forma neurológica da cinomose, como na evolução destes animais (Gebara et al. 2004), que foram a óbito.

A presença dos achados laboratoriais e a evolução para sinais neurológicos têm sido destacadas como as principais manifestações clínicas da doença. Ocorrência de sinais intestinais, respiratórios e neurológicos, deve chamar a atenção do clínico para o diagnóstico de cinomose, porém, não se podem descartar outros agentes etiológicos que propiciem a invasão do vírus principalmente na mucosa intestinal e como infecção concomitante, como a cistoisporose, levando a uma maior morbidade e mortalidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida R.K., Vasconcelos A.C., Carneiro R.A., Paes P.R.O. & Moro L. Alterações citológicas do sangue periférico e da medula óssea de cães com cinomose. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 61:1255-1260, 2009
- Birgel E.H., Netto L.P., Amaral V., Giorgi W. & Panetta J.C. *Meios e métodos de diagnóstico em Medicina Veterinária*. 4ª ed. São Paulo, Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1977. 218 p.
- Conboy G. Canine coccidiosis. *Can. Vet. J.*, 39:443-444, 1998.
- Corrêa W.M. & Corrêa C.N.M. *Enfermidades infecciosas dos mamíferos domésticos*, 2ª edição, Medsi, Rio de Janeiro, 1992, p.655-669.
- Dauguschies A., Mundt H.C. & Letkova V. Toltrazuril treatment of cystoisosporosis in dogs under experimental and field conditions. *Parasitol. Res.*, 86:797-799, 2000.
- Ettinger S.J. & Feldman E.C. *Tratado de medicina interna veterinária*, 4ª edição Manole, São Paulo, 1997, p.576-579, 750-751, 880-883, 926-928, 1099-1100.
- Frenkel J.K. & Smith D.D. Determination of the genera of cyst-forming coccidian. *Parasitol. Res.*, 91:384-389, 2003.
- Gebara C.M.S., Wosiacki S.R., Negrão F.J., Alfieri A.A. & Alfieri A.F. Lesões histológicas no sistema nervoso central de cães com encefalite e diagnóstico molecular da infecção pelo vírus da cinomose canina. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 56:168-174, 2004.
- Hoskins J.D. Doenças Virais Caninas, p.440-441. In: Ettinger S.J. & Feldman E.C. (Eds), *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. Ed.5 Guanabara Koogan, São Paulo, 2004.
- Moro L., Alves C.M., Santos F.G.A., Nunes J.E.S., Carneiro A. & Vasconcelosa C. Ocorrência de apoptose em leucócitos no esfregaço de sangue periférico e em sincícios na infecção *in vivo* pelo vírus da cinomose canina. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 55: 110-112, 2003.
- Norris J.M., Krockenberger M.B., Baird A.A. & Knudsen G. Canine distemper: re-emergence of an old enemy. *Aust. Vet. J.*, 84: 362-363, 2006.
- Oliveira F.C.R., Albuquerque G.R., Lopes C.W.G. & Munhoz A.D. Oocistos de *Cystoisospora ohioensis* (Dubey, 1975) Frankel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) em cães de uma ninhada infectada em condições naturais. *Rev. Univ. Rural: Cienc. Vida*, 22(supl. 1):107-111, 2000.
- Olson M.E. Coccidiosis caused by *Isospora ohioensis*-like organisms in three dogs. Case report. *Can. Vet. J.*, 26:112-114, 1985.
- Rezende R.S., Coelho H.E., Kamimura R., Severino R.S., Oliveira P.C.L. & Medeiros A.A. & Magalhães A.O.C. Análise microscópica do miocárdio ventricular esquerdo em cães soropositivos para cinomose. *Pesq. Vet. Bras.*, 29:117-119, 2009.
- Rocha E. & Lopes C.W.G. Comportamento da *Isospora canis*, *Isospora felis* e *Isospora rivolta* em infecções experimentais em cães e gatos. *Arq. Univ. Fed. Rur. Rio de J.*, 1:81-96, 1971.
- Rodrigues A.N. & Menezes R.C.A.A. Infecção natural de cães por espécies do gênero *Cystoisospora* (Apicomplexa: Cystoisosporinae) em dois sistemas de criação. *Rev. Clin. Vet.*, 42:24-30, 2003.
- Schweigert A., Cavalheri V.M., Fernandes R.R. & Gebara C.M.S. Frequência de corpúsculos de inclusão de Lentz em células sanguíneas e oculares de Cães suspeitos de cinomose atendidos no Hospital Veterinário da faculdade integrado de Campo Mourão-PR. *Campo Dig.*, 1-2:90-92, 2008.
- Soulsby E.J.L., *Parasitologia y Enfermidades Parasitarias en los Animales Domésticos*. 7ª ed. Interamericana, México, 1987. 663p.
- Swango L.S. Moléstias virais caninas, p.312. In: Ettinger S.J. (Ed.), *Tratado de Medicina Interna Veterinária*. 3ª ed., Manole, São Paulo, 1992.
- Silva I.N.G., Guedes M.I.F., Rocha M.F.G., Medeiros C.M.O., Oliveira L.C., Moreira O.C. & Teixeira M.F.S. Perfil hematológico e avaliação eletroforética das proteínas séricas de cães com cinomose. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 57:136-139, 2005.
- Tatsuo H., Ono N. & Yanagi Y. Morbilliviruses Use Signaling Lymphocyte Activation Molecules (CD150) as Cellular Receptors. *J. Virol.*, 75:5842-5850, 2001.
- Teixeira Filho W.L., Cardozo S.V. & Lopes C.W.G. Viabilidade e morfologia dos oocistos de *Cystoisospora ohioensis* (Dubey, 1975) Frenkel, 1977 (Apicomplexa: Cystoisosporinae) eliminados por cães infectados experimentalmente. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 32:161-165, 2010.
- Tudury E.A., Arias M.V.B., Bracarense A.P.F.L., Megid J. & Dias Júnior R.F. Observações clínicas e laboratoriais em cães com cinomose nervosa. *Cienc. Rur.*, 27:229-235, 1997

Anexo 5. LEAL, P.D.S.; FLAUSINO W.; LOPES C.W.G. Diagnóstico de infecções concomitantes por *Neospora caninum*, *Babesia canis* e *Ehrlichia* spp. em canino adulto da raça Golden Retriever - Relato de caso. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 34, n. 1, p. 47-51, 2012.

DIAGNÓSTICO DE INFECÇÕES CONCOMITANTES POR *Neospora caninum*, *Babesia canis* e *Ehrlichia* spp. EM CANINO ADULTO DA RAÇA GOLDEN RETRIEVER - RELATO DE CASO*

Paulo Daniel Sant'Anna Leal^{1†}, Walter Flausino² & Carlos Wilson Gomes Lopes³

ABSTRACT. Leal P.D.S., Flausino W. & Lopes C.W.G. [Diagnosis of concomitant infections due to *Neospora caninum*, *Babesia canis* and *Ehrlichia* spp. in adult canine Golden Retriever breed - Case report]. Diagnóstico de infecções concomitantes por *Neospora caninum*, *Babesia canis* e *Ehrlichia* spp. em canino adulto da raça Golden Retriever - Relato de caso. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 34(1):47-51, 2012. Curso de Pós-Graduação de Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: pauloleal@ctiveterinario.com.br

Clinically the dogs, to make an effective treatment for morbid condition diagnosis is crucial and this goal is achieved with the observation of the evolution and laboratory findings which intercurrent infections have been observed frequently. We report a case of clinical laboratory diagnosis in *Babesia canis* infection, *Ehrlichia* spp. associated with serological response to *Neospora caninum* in dogs. Thus proving the value of clinical examination, visualization of parasitic inclusions in leukocytes and erythrocytes in the serological diagnosis, thus demonstrating the need for greater attention to the diagnosis of multiple infections by different parasites.

KEY-WORDS. Haemoparasitosis, anemia, Coccidia, concomitant infections.

RESUMO. Na rotina clínica de cães, para se efetuar um tratamento eficaz da condição mórbida o diagnóstico é fundamental e este objetivo é alcançado com a observação da evolução e em achados laboratoriais onde as infecções intercorrentes têm sido observadas com frequência. Relata-se um caso de diagnóstico clínico laboratorial na infecção por *Babesia canis*, *Ehrlichia* spp. associado a resposta sorológica para *Neospora caninum* em cães. Comprovando assim, o valor do exame clínico, da visualização de inclusões parasitárias em leucócitos e hemácias, no diagnóstico sorológico, demonstrando desta maneira, a necessidade de maior atenção para o diagnóstico de múltiplas infecções por agentes parasitários distintos.

PALAVRAS-CHAVE. Hemoparasitoses, anemia, coccídios, infecções concomitantes.

INTRODUÇÃO

A Erlichiose canina tem como agente etiológico uma bactéria do gênero *Ehrlichia*, que parasita leucócitos e plaquetas, enquanto a Babesiose, tem como agentes etiológicos protozoários intracelulares do gênero *Babesia* (Almosny & Massard 2002). Ambas as doenças são transmitidas de cão a cão pela picada do carrapato marrom do cão, *Rhipicephalus sanguineus* (Ettinger & Feldman 1997, Birchard 2003), o qual pode transmitir esses organismos por mais de cinco meses após o ingurgitamento com sangue infectado (Ettinger & Feldman

*Recebido em 11 de março de 2011.

Aceito para publicação em 21 de dezembro de 2011.

¹ Médico-veterinário, *M.Med.Vet.* Curso de Pós-Graduação de Ciências Veterinárias, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. *Autor para correspondência: E-mail: pauloleal@ctiveterinario.com.br

² Biólogo, *PhD.* Departamento em Parasitologia Animal (DPA), Instituto de Veterinária (IV), UFRRJ, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 23890-000. E-mail: flausino@ufrj.br - bolsista CNPq.

³ Médico-veterinário, *PhD, LD.* DPA, IV, UFRRJ, BR 465 km 7, Seropédica, 23890-000, RJ. E-mail: lopescw@ufrj.br - bolsista CNPq.

1997). Possuem características clínicas variáveis e inespecíficas, podendo o hospedeiro apresentar infecções de leves à severas e vir a óbito (Miranda et al. 2011) que, geralmente se caracteriza por redução dos elementos figurados do sangue (Birchard 2003, Moraes et al. 2004, Oriá et al. 2004, Miranda et al. 2011). Achados de mórulas em leucócitos confirmam o diagnóstico de Erlichiose canina através da visualização destas estruturas citoplasmáticas, sendo uma técnica importante de diagnóstico, assim como a visualização de *B. canis* em hemácias (Harikrishnan et al. 2005, Miranda et al. 2011), porém nas infecções crônicas ou de baixa parasitemia o diagnóstico citológico de sangue periférico não é em todo confiável (Moreira et al. 2005), sendo indicado para esses casos aspirados de medula óssea (Moreira et al. 2005), em ocorrências da não visualização dos parasitos em estiraços de sangue, o diagnóstico sorológico não deve ser descartado (Tenório et al. 2007, Nakaghi et al. 2008, Miranda et al. 2011), assim como nas fases, subclínica e crônica da doença, utilizando-se como apoio o nPCR para o diagnóstico na fase aguda e, especialmente, para a identificação da espécie envolvida (Nakaghi et al. 2008).

Neospora caninum, tem como hospedeiro definitivo canídeos (McAllister et al. 1998, Dubey 2003), porém a doença causada por este agente etiológico é assinalada como de importância econômica, com distribuição cosmopolita (Dubey et al. 2007). Observa-se principalmente em cães e bovinos, ocasionalmente pode ser encontrados em coiotes, ovinos, caprinos, equinos, gatos, cervídeos e bubalinos, onde o aborto e a encefalomielite, são mais frequentes, porém, pode ser encontrado em vários órgãos (Dubey & Lindsay 1996, Dubey 2003, Furuta 2008). Anticorpos contra *Neospora* têm sido descritos em raposas, camelos e felinos. Nos cães ocorrem transtornos neuromusculares como encefalomielite e miosite, assim como hepatopatias (Dubey & Lindsay 1996), ou não apresentar manifestações clínicas, porém com lesões significativas em vários órgãos (Furuta 2008), e se infectam pela ingestão de cistos nos alimentos cárneos ou pela ingestão de oocistos esporulados (McAllister et al. 1998, Buxton et al. 2002). O cão representa a única fonte significativa de infecção no processo de disseminação da forma sexuada de *N. caninum*, assumindo um importante papel na cadeia natural do agente (McAllister et al. 1998). O diagnóstico desta parasitose se faz com base no histórico, sinais clínicos e encontro de oocistos nas fe-

zes dos cães (McAllister et al. 1998), pelas técnicas de imunofluorescência indireta (IFI), ensaio imunoenzimática (ELISA), teste de aglutinação direta, detecção de DNA de *N. caninum* pelo *Real-time PCR* e imunohistoquímica contribuem para o diagnóstico (Furuta 2008). Apesar de animais soropositivos não desenvolverem manifestação clínica, estes podem ter lesões nos pulmões, baço, fígado e linfonodos (Furuta 2008), além disso, as doenças que produzem imunossupressão podem permitir a manifestação do parasito (Greca et al. 2010).

Na rotina clínica o diagnóstico é fundamentado, com atenção para a evolução e em achados laboratoriais, onde as infecções intercorrentes têm sido observadas com frequência. O presente trabalho assinala a importância do diagnóstico clínico e laboratorial nas infecções por espécies do gênero *Ehrlichia* associado a infecção por *B. canis* e *N. caninum*, comprovando assim, o valor da visualização destes agentes etiológicos em hemácias e leucócitos (Miranda et al. 2011) e a sorologia no diagnóstico de *N. caninum* (Furuta 2008, Moraes et al. 2008, Greca et al. 2010).

HISTÓRICO

Um cão, da raça Golden Retriever, não castrado, com sete anos de idade, com atendimento médico veterinário de rotina, utilizando profilaxia de ectoparasitas^a a cada 15 dias e coleira^b própria para a repelência do vetor da Leishmaniose, foi atendido no Centro de Terapia Intensiva e Emergência Veterinária, com histórico de apatia e anorexia, sem desidratação, palpação abdominal acusando dor moderada e sugerindo aumento esplênico e hepático, temperatura retal de 40,2°C, mucosas levemente hipocoradas. A suspeita clínica, apesar dos bons tratamentos e a utilização de ectoparasiticidas, foi de hematozoários e neosporose, visto que havia histórico de cão do mesmo habitat com histórico da doença.

Foi coletada amostra de sangue da veia jugular direita, com uma seringa de 10 mL, com agulha 25 x 7 mm, onde 3 mL foram acondicionados em tubo de ensaio pediátrico com anticoagulante (EDTA), e 7 mL em tubo de ensaio pediátrico sem anticoagulante. Com o material da própria seringa foram realizados dois estiraços sanguíneos em lâminas de vidro. As amostras foram processadas no próprio local, com a utilização de aparelho automático (Ms4-

^aFrontline Plus® Merial Saúde Animal.

^bColeira Scalibor® Intervet/Schering-Plough Animal Health.

-Vet-Melet Schloesing Laboratoires coulter), Refratômetro Portátil e Microcentrifuga (E3500108 MICROSPIN CDR), para hemograma completo (leucograma, eritrograma, plaquetometria, proteína total) e concentrado de leucócitos e plaquetas (capa leucocitária) em dois estiraços em lâminas de vidro. As amostras sem anticoagulante foram centrifugadas em centrífuga (Mod. 208N, Excelsa Baby, marca Fanem Ltda.) a 350 G por 10 minutos, para separação do soro, e utilizando pipeta automática de 32µl, para alaninaminotransferase (ALT), aspartatoaminotransferase (AST), bilirrubina total (BT), fosfatase alcalina (FAL), uréia (UR), creatinina (CR) e Gamaglutamil transferase (GGT) em aparelho de fotometria de reflectância in vitro Reflotron® Plus (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim-Baden-Württemberg)

Os resultados encontrados nos exames hematológicos foram: anemia (VG=31%) normocítica normocrômica arregenerativa, leucocitose com monocitose e neutrofilia, desvio nuclear de neutrófilos a esquerda discreto regenerativo, eosinopenia e trombocitopenia, proteína plasmática próximo ao limite máximo (7,42g/dL), com albumina 2,8 g/dL e globulinas 4,62 g/dL e parâmetros bioquímicos. Posteriormente após sete dias, em nova avaliação, notaram-se decréscimos desses valores (4,7g/dL), com albumina 2,90 g/dL e globulinas 1,80 g/dL e também dos parâmetros bioquímicos (Tabela 1).

A contagem específica dos leucócitos e observações pertinentes foi após coloração do estiraço sanguíneo utilizando coloração hematológica estabelecida por Romanowsky (Panótico Rápido LB). Na citoscopia do estiraço de concentrado de leucócitos e plaquetas, foi visualizada a presença de mórulas de *Ehrlichia* spp. em monócitos (Figura 1a); em quanto no estiraço sanguíneo, foi visualizado merozoítos de *B. canis* parasitando hemácias com coloração idêntica ao do estiraço sanguíneo (Figuras 1b,c).

Tabela 1. Resultados laboratoriais de um cão adulto da raça Golden Retriever com infecção simultânea.

Parâmetros	Valores em mg/dL		Referência*
	Avaliações		
	Antes do tratamento	Após tratamento	
ALT (TGF)	858	806	C <89
AST (TGO)	380	54,1	C <43
Bilirrubina Total	1,9	0,87	C <0,5
Fosfatase Alcalina	2290	286	C <184
Uréia	26,6	24,7	C <54
Creatinina	0,74	0,58	C <1,8
Gama GT	195	153	C <20

* Roche Diagnostics GmbH, Mannheim-Baden-Württemberg, RFA.

Teste sorológico imunoenzimático que permite a detecção de anticorpos específicos para *N. caninum* (Enzyme Linked Immunosorbent Assay/ELISA) foi utilizado, com o resultado positivo (1/100).

O tratamento específico para os parasitos foi com base na utilização de antibiótico de ação intracelular, doxiciclina na dose de 5mg/kg a cada 12 horas, administração oral, durante 21 dias, associado ao imidocarb na dose de 5mg/kg em aplicação subcutânea, com repetição da dose após 15 dias (Neer

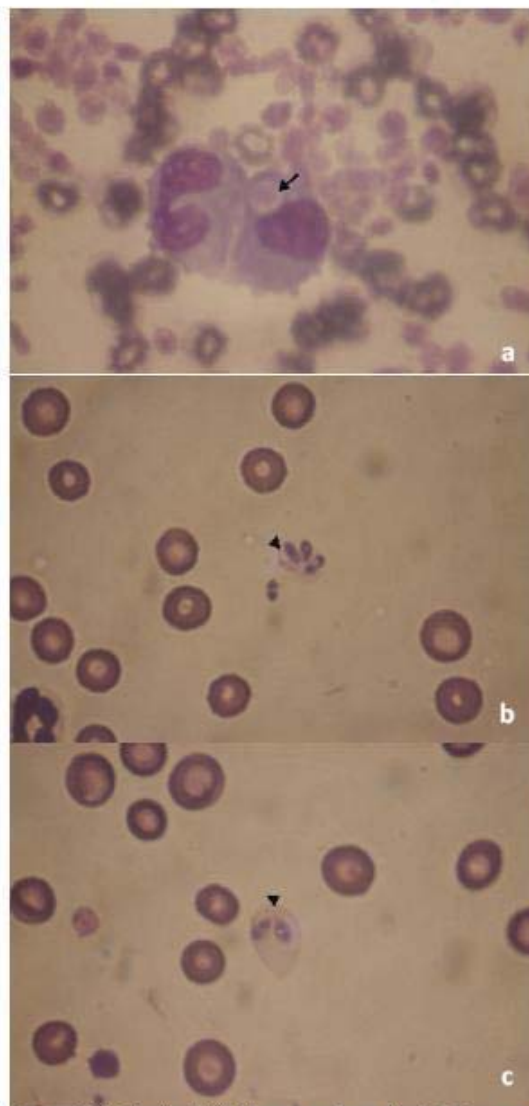


Figura 1. Mórula de *Ehrlichia* spp. em leucocito (→) (a), merozoítos de *Babesia canis* (▶) em hemácia, dois pares (b) e um par (c). Panotic, obj. 100X.

et al. 2002, Moraes et al. 2004, Sousa et al. 2004), após conclusão do tratamento dos hemoparasitos, se utilizou a associação de Sulfametoxazol 50 mg/kg, associado com trimetoprim 10 mg/kg, SID, VO, por 15 dias consecutivos (Moretti et al. 2006).

DISCUSSÃO

A erliquiose, babesiose e neosporose, são de manifestações clínicas diversas, com apresentação multissistêmicas (Neer et al. 2002, Furuta 2008). Possivelmente 3,44% dos cães portadores de erliquiose também estão parasitados por outros hemoparasitas (Moreira et al. 2003, Mendonça et al. 2005), sendo que a coinfeção é capaz de agravar a condição clínica, devido a ação patogênica dos parasitos (Harikrishnan 2005). Erliquiose e babesiose são doenças que assumem importância clínica, com positividade de 13,89% e 1,47% em esfregaço periférico, respectivamente (Albernaz et al. 2007, Miranda et al. 2008), já a neosporose é pouco comum em cães oriundos de áreas urbanas no Brasil (Guitarães et al. 2009), porém é cosmopolita (Dubey et al. 2007) e sua manifestação clínica é tipicamente neurológica, porém apresenta adenopatias, esplenomegalia, hepatomegalia e lesões de vias aéreas (Furuta 2008), que se assemelha a erliquiose e a babesiose.

Existe aumento da probabilidade de ocorrência de hemorragias na co-infecção entre erliquiose e babesiose (Tenório et al. 2007), no entanto, esta condição não foi observada. Uma diminuição significativa de quadros hemorrágicos em casos de erliquiose vem sendo notada no Estado do Rio de Janeiro, possivelmente em decorrência da adaptação parasito-hospedeiro ou da cepa infectante (Almosny & Massard 2002).

As principais alterações hematológicas encontradas foram trombocitopenia, anemia normocítica e/ou normocrômica e o desvio nuclear de neutrófilos à esquerda leve e eosinopenia absoluta (Albernaz et al. 2007, Fabisiak 2010), leucocitose (Nakaghi et al. 2008) ou por ação de outra infecção concomitante, linfopenia relativa e monocitose absoluta também foi encontrado (Tenório et al. 2007, Miranda et al. 2011). O número de leucócitos comumente varia durante a fase aguda, podendo diminuir em decorrência da indução ao sequestro destes por mecanismos imunológicos (Moreira et al., 2003) ou por resposta ao tratamento, como no caso observado. O número de monócitos pode variar consideravelmente, sendo a monocitose um achado frequente e indi-

cativo da possibilidade de erliquiose, mesmo antes da observação de mórulas, como encontrado neste caso (Harikrishnan et al. 2005).

Os aspectos bioquímicos da infecção causada por *Ehrlichia* spp. e *B. canis* incluem inicialmente hiperproteinemia com hipergamaglobulinemi e posterior hipoalbuminemia (Santarém et al. 2008) conforme os resultados encontrados neste caso. As elevação das atividades de aspartatoaminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FAL) e alaninaminotransferase (ALT) (Almosny 1998), elevação dos níveis séricos de bilirrubina sem icterícia (Almosny 1998), são comuns entre os achados em animais parasitados, este aumento nos valores das enzimas ALT, FAL e GGT, provavelmente ocorreram por esplenomegalia e hepatomegalia (Nakaghi et al. 2008) causada em decorrência da erliquiose, babesiose e neosporose (Harikrishnan et al. 2005, Furuta 2008), devido à lesões hepáticas (Almosny 2002; Furuta 2008), por ação patogênica de um ou mais agentes envolvidos neste relato (Harikrishnan et al., 2005; Furuta 2008). A atividade de FAL também pode ter seu valor aumentado devido a estresse sistêmico causado por outras enfermidades (Almosny 1998). Portanto os achados laboratoriais, assim como o histórico e o exame clínico apenas sugerem o diagnóstico, porém a visualização dos parasitos, ou a demonstração dos seus anticorpos, confirmam o diagnóstico.

REVISÃO DE LITERATURA

- Albernaz A.P., Miranda F.J.B., Melo Jr A.O., Machado J.A. & Fajardo H.V. Erliquiose canina em Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brasil. *Cienc. Anim. Bras.*, 8:799-806, 2007.
- Almosny N.R.P. & Massard C.L. Erliquiose em Pequenos Animais Domésticos e como Zoonose, p.13-56. In: Almosny N.R.P. (Ed.), *Hemoparasitoses em Pequenos Animais Domésticos e como Zoonoses*. Editora LF Livros de Veterinária Ltda, Rio de Janeiro, 2002.
- Birchard S.J. & Sherding R.G. *Clínica de Pequenos Animais (Manual Saunders)*. Editora Roca, São Paulo, 2003. p.1793.
- Buxton D., McAllister M.M. & Dubey J.P. The comparative pathogenesis of neosporosis Review. *Trends Parasitol.*, 18:546-52. 2002.
- Dubey J.P. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J. Parasitol.*, 41:1-16. 2003.
- Dubey J.P. & Lindsay D.S. A review of *Neospora caninum* and neosporosis. *Vet. Parasitol.*, 67:1-59, 1996.
- Dubey J.P., Schares G. & Ortega-Mora L.M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum* Review. *Clin. Microbiol. Rev.* 20:323-67. 2007.
- Ettinger S.J. & Feldman E.C. *Medicina interna veterinária*. p.546-564. 4ª ed. Manole, São Paulo, 1997.

- Fabisiak M., Sapieryński R. & Kluciński W. Analysis of haematological abnormalities observed in dogs infected by a large *Babesia*. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 54:167-170, 2010.
- Furuta P.I. *Infecção experimental em cães com ovos embrionados de galinha (Gallus gallus domesticus) infectados com taquizoítas de Neospora caninum*. Tese de Doutorado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Unesp, Jaboticabal. 2008. 82p. (Disponível em: <http://www.athena.biblioteca.unesp.br/exlibris/bd/bja/33004102072P9/2008/furuta_pi_dr_jabo.pdf>.)
- Greca H. Silva A.V. & Langoni H. Associação entre a presença de anticorpos anti-*Leishmania* sp. e anti-*Neospora caninum* em cães de Bauri, SP. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 62:224-227, 2010.
- Guimarães A.M., Rocha C.M.B.M., Oliveira T.M.F.S., Rosado I.R., Morais L.G. & Santos R.R.D. Fatores associados à soropositividade para *Babesia*, *Toxoplasma*, *Neospora* e *Leishmania* em cães atendidos em nove clínicas veterinárias do município de Lavras, MG. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 18 (supl. 1):49-53, 2009.
- Harikrishnan T.J.N. & Pazhanivel J.C. Concomitant *Babesia gibsoni* and *Ehrlichia canis* infection in a dog. *Veterinarski Arch.*, 75:513-520, 2005.
- Hemphill A. The host - Parasite relationship in neosporosis. *Adv. Parasitol.*, 43:49-104, 1999.
- McAllister M.M., Dubey J.P., Lindsay D.S., Jolley W.R., Wills R.A. & McGuire A.M. Dogs are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, 28:1473-1478, 1998.
- Mendonça C.S., Mundim A.V., Costa A.S. & Moro T.V. Eriquiase canina: Alterações hematológicas em cães naturalmente infectados. *Biosci. J.*, 21:167-174, 2005.
- Miranda F.J.B., Albernaz A.P., Melo Jr A.O., Machado J.A. & Fajardo H.V. Frequência de cães infectados por *Babesia* spp. Campos dos Goytacazes, RJ. *Cienc. Ani. Bras.*, 9:238-241, 2008.
- Miranda F.J.B., Albernaz A.P., Viestel M.A.D., Melo Jr A.O., Machado J.A., Alves R.B.M. & Carvalho C.B. Infecção simultânea por *Ehrlichia canis*, *Babesia canis* e vírus da cinomose canina. *J. Bras. Cienc. Anim.*, 3:238-246, 2011.
- Morais H.A., Hoskins J., Almosny N.R.P. & Labarthe N.V. Diretrizes gerais para diagnóstico e manejo de cães infectados por *Ehrlichia* spp. *Clin. Vet.*, 9:28-30, 2004.
- Moraes C.C.G., Megid J., Pituco E.M., Okuda L.H., Del Fava C., De Stefano E. & Crocci A.J. Ocorrência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães da Microrregião da serra de Botucatu, estado de São Paulo, Brasil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 17:1-6, 2008.
- Moreira S.M., Bastos C.V., Aratijo R.B., Santos M. & Passos L.M.F. Retrospective study (1998-2001) on canine ehrlichiosis in Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, 55:141-147, 2003.
- Moreira S.M., Machado R.Z. & Passos L.F. Detection of *Ehrlichia canis* in bone marrow aspirates of experimentally infected dogs. *Cienc. Rur.*, 35:958-960, 2005.
- Moretti L.A., Da Silva A.V., Ribeiro M.G., Paes A.C. & Langoni H. *Toxoplasma gondii* genotyping in a dog co-infected with distemper virus and ehrlichiosis rickettsia. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo.* 48:359-363, 2006.
- Nakaghi A.C.H., Machado R.Z., Costa M.T., André M.R. & Baldani C.D. Canine ehrlichiosis: clinical, hematological, serological and molecular aspects. *Cienc. Rur.*, 38:766-770, 2008.
- Neer T.M., Breitschwerdt E.B., Greene R.T. & Lappin M.R. Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the Infectious Disease Study Group of the ACVIM. *J. Vet. Intern. Med.*, 16:309-315, 2002.
- Oriá A.P., Pereira P.M. & Laus J.L. Uveítis in dogs infected with *Ehrlichia canis*. *Cienc. Rur.*, 34:1289-1295, 2004.
- Santarém V.A., José M.D. & Laposy C.B. Alterações bioquímicas em cães citopênicos e não citopênicos com ehrlichiose. *Semina: Cienc. Agri.*, 29:845-852, 2008.
- Sousa M.G., Higa A.C., Gerardi D.G., Tinucci-Costa M. & Machado R.Z. Tratamento da erliquiose canina de ocorrência natural com doxiciclina, precedida ou não pelo dipropionato de imidocarb. *Rev. Cienc. Agrovet.*, 3:126-130, 2004.
- Tenório A.P.M., Almeida E.L., Alves L.C., Brito F.L.C., Santos J.P. & Coelho M.C.O.C. *Ehrlichia* sp. em mielócito de cão. *Med. Vet.*, 1:62-65, 2007.

Anexo 6. FLAUSINO, G.; LEAL, P.D.S.; MACINTOSH, D.; AMARAL, L.G.; TEIXEIRA FILHO, W.L.; FLAUSINO, W.; LOPES, C.W.G. Isolation and characterization of *Cyniclomyces guttulatus* (Robin) Van Der Walt and Scott. 1971 in dogs in Brasil. **Current in Microbiology**, v. 65, p. 542-546, 2012.

Isolation and Characterization of *Cyniclomyces guttulatus* (Robin) Van Der Walt and Scott, 1971 in Dogs in Brazil

Gilberto Flausino · Paulo D. S. Leal · Douglas McIntosh ·
Luciana G. Amaral · Walter L. Teixeira Filho ·
Walter Flausino · Carlos W. G. Lopes

Received: 27 April 2012 / Accepted: 19 June 2012 / Published online: 21 July 2012
© Springer Science+Business Media, LLC 2012

Abstract Vegetative cells of an ascomycetous yeast, morphologically consistent with published descriptions of *Cyniclomyces guttulatus*, were observed in large numbers in the feces and stomach washes of three dogs with a recurrent medical history characterized by vomiting and diarrhea. Nucleotide sequence analysis of an approximately 600 base pair fragment of the variable D1/D2 domain of large subunit (26S) ribosomal DNA of a pure culture, isolated from a Siberian Husky, revealed 98–99 % homology to sequences deposited in the GenBank as *C. guttulatus*. These data represent the first observation of *C. guttulatus* in association with canine gastrointestinal illness in the southern hemisphere and add weight to the hypothesis that this yeast may act as an opportunistic pathogen of dogs. An extended examination of wet mounts and smears prepared from feces collected from 63 dogs with no clinical symptoms of gastrointestinal illness, identified *C. guttulatus* in 14 (22.2 %) of the animals, albeit at lower numbers than in diseased dogs, indicating that this yeast species is widely distributed as a component of the normal microflora of the canine gastrointestinal tract.

Introduction

Gastrointestinal disorders, characterized by the clinical signs of vomiting and diarrhea, comprise a large portion of the cases encountered in small animal clinics [19]. Vomiting is the main clinical sign of stomach illnesses, while diarrhea reflects a disturbance in the function of the small or large intestine [7]. Bacterial, viral, and parasitic infections account for most cases of diarrhea, while non-infectious causes of diarrhea include drugs, surgical conditions, systemic infections and food intolerance [7]. In infectious disease, changes in diet often play an important role via the induction of an imbalance of the intestinal microbiota [19]. Diarrhea in dogs and cats can vary from a discrete, short lived event through to severe clinical manifestations which may lead to death. Cases of diarrhea may be classified as either acute or chronic. In acute cases clinical signs are often of sudden onset and generally persist for a few days, with stool consistency being aqueous to aqueous-mucoid, although in severe cases it may be bloody. In contrast, chronic cases can extend over weeks or months and may demonstrate a pattern of periodic recurrences, with the animals going through alternating periods of improvement and worsening of the condition [7, 19].

The majority of yeast species associated with dogs are considered to represent commensal organisms, with *Candida* spp., *Malassezia pachydermatis*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Rhodotorula* spp. forming part of the normal canine microbiota at multiple anatomical sites [3]. Nevertheless, members of these genera have also been reported as the etiologic agents of localized and systemic infections in humans and various animals, including dogs, most often as a consequence of disturbances to physicochemical or immunological defense barriers of the host [4, 5]. Reports of yeast associated diarrhea in dogs, or in any other animal,

G. Flausino · P. D. S. Leal · D. McIntosh ·
L. G. Amaral · W. L. Teixeira Filho · W. Flausino ·
C. W. G. Lopes
Animal Parasitology, Federal Rural University of Rio de Janeiro,
Seropédica, Brazil

P. D. S. Leal · L. G. Amaral · C. W. G. Lopes (✉)
Centro de Terapia Intensiva e Emergência Veterinária,
Barra da Tijuca, Brazil
e-mail: lopescw@ufrj.br

are scarce. However, the ascomycete *Cyniclomyces gutulatus* (formerly *Saccharomyopsis gutulata*), which occurs naturally in the digestive tract of rabbits, guinea pigs, chinchillas, rats and mice [21], has been linked with cases of diarrhea in rabbits in Switzerland [16] and in the United States [10]. Moreover, the presence of this yeast in massive numbers in the feces of both cats and dogs with diarrhea was reported by Dutch researchers [11, 14]; in a dog with recurrent gastroenteritis in Norway [9], and it was associated with a case of hemorrhagic diarrhea in a Labrador Retriever in Japan [18]. In addition, *C. gutulatus* was reported as causing secondary gastrointestinal infections in Rotweilers with protein losing enteropathy in Holland [6] and was observed, as an apparent incidental finding, in the bile and feces of a Labrador Retriever diagnosed with emphysematous cholecystitis in the USA [13].

The current study reports the characterization, using morphological and molecular methods, of *C. gutulatus* from stomach washes and feces of three dogs with recurrent gastrointestinal disturbances and the detection of this yeast in the feces of an additional 14 dogs with no clinical symptoms of gastrointestinal illness.

Materials and methods

Study Population and Clinical Examinations

The study population comprised 66 dogs attended between June 30th 2011 and February 14th 2012, at an intensive care unit and emergency veterinary clinic located in Barra da Tijuca, municipality of Rio de Janeiro, RJ, Brazil. Sixty-three of the animals (39 Golden Retrievers and 24 German Shepherds), were undergoing annual health checks and did not display symptoms of any gastrointestinal disorder. In contrast, the remaining three dogs (a Rotweiler, a Siberian Husky and a Shih Tzu) each presented a recurrent medical history characterized by vomiting and diarrhea, with occasional blood in the diarrhea. Ultrasonographic imaging was performed to confirm gastroenteritis in dogs with clinical signs. Stool samples collected from the 66 dogs were examined microscopically for the presence of ascomycetes. In addition, gastric lavage based on the introduction and recovery of 60 mL of 0.8 % saline, via a 8 mm nasal gastric probe and syringe, was performed on the three animals exhibiting symptoms of gastroenteritis. Pre-anesthesia medication comprised morphine sulphate (0.5 mg/Kg) in combination with acepromazine (0.01 mg/Kg), administered intramuscularly. Induction of anesthesia was performed with propofol (4 mg/Kg) administered intravenously to permit orotracheal intubation. Anesthesia was maintained using isoflurane at a concentration of 1.6 %, which corresponded to a value of approximately 1.0 of the

minimum alveolar concentration (MAC), with oxygen flow at 100 %.

Microscopic Examination of Stool and Stomach Wash Samples

The technique of saturated sucrose centrifugal flotation [2], was applied to the stool samples of all animals to separate yeast cells from the denser fecal material. Wet mounts were prepared by applying a coverslip to the top of the flotation solution meniscus, the collected material was mounted and stained on a slide with Amann lactophenol cotton blue [17], and examined microscopically (magnification 400×, bright field) for the presence of ascomycete vegetative cells. The same procedure was applied to samples of freshly collected stomach wash. In addition, smears prepared from feces and stomach washes were dehydrated in methanol, stained with Giemsa and observed at 400× magnification.

Isolation of Yeasts from Stomach Washes

Syringes containing the stomach washes were transported to the laboratory in coolers, within 2 h of collection. Isolation of yeast from the gastric lavage samples employed the methods of Phaff and Miller [15], as modified by Flaissino and Baroni [8]. Briefly, 1 mL of each sample of stomach wash was used to inoculate 50 mL of Yeast extract-Peptone-Dextrose (YPD) broth (Difco; pH 3.0) supplemented with (ampicillin 3 mg/mL), in individual 125 mL Erlenmeyer flasks, with static incubation at 37 °C for 24–48 h. Cultures were subcultured twice by passaging aliquots (1.0 mL) into flasks containing 50 mL of fresh growth medium, with incubation as described above. Thereafter, duplicate aliquots (0.1 mL) were used as inocula for plates of YPG agar (pH 7.0 ± 0.2), supplemented with bromothymol blue (0.01 g L⁻¹), with incubation at 37 °C for 24–48 h under conditions of low O₂ and high (10–20 %) CO₂ concentration in combination with elevated humidity. Culture conditions were generated and maintained by combustion, using a paraffin candle (within a hermetically sealed glass candle jar), in combination with a sodium bicarbonate, CO₂ generating tablet (ISOFAR, Duque de Caxias, Brazil), dissolved in a beaker containing 100 mL of distilled water. Following incubation, plates were examined using an inverted binocular microscope (Opton®; model TNB-05-T-TL) to determine the growth of colonies with characteristics previously described for *C. gutulatus* [8, 15]. Individual colonies were subcultured into liquid and onto solid YPG media to obtain pure cultures for subsequent morphological and molecular analyses. In order to perform comparative analyses, working cultures of a yeast recovered from rabbit feces and

previously identified biochemically as *C. guttulatus* [8], were prepared from frozen stocks with incubation in YPG broth and agar as described above.

DNA Isolation

A single isolated colony of each isolate (Husky and rabbit), was re-suspended in duplicate in 250 μ L of ice cold phosphate buffered saline (pH 7.2), in screw capped 1.5 mL microcentrifuge tubes containing 50 mg of glass beads (Sigma-Aldrich; product # G8772). Tubes were placed in a mini-beadbeater-16 apparatus (Biospec; Bartlesville, OK, USA), and the cells were disrupted using a single cycle of agitation (60 s). Cell lysis was completed by the addition of 250 μ L of cell disruption solution (20 mM Tris-HCl, 20 mM EDTA, 400 mM NaCl, 1 % sodium dodecyl sulphate), with lysates incubated for 15 min at 56 °C. DNA was extracted by single rounds of phenol and phenol chloroform treatment, followed by precipitation with an equal volume of isopropanol for 20 min at room temperature. Precipitated (16,000 \times g for 15 min) DNA pellets were desalted twice with 70 % ethanol and re-suspended overnight at 4 °C in 50 μ L of molecular biology grade water (Sigma-Aldrich), with subsequent storage at -20 °C.

Polymerase Chain Reaction (PCR) and DNA Sequencing

The primers, reaction components and cycling conditions described by Kurtzman and Robnett [12], were used to amplify an approximately 600 base pair fragment of the variable D1/D2 domain of large subunit (26S) ribosomal DNA. An aliquot (5 μ L) of each PCR reaction was examined by agarose gel electrophoresis to confirm the presence of the appropriate amplicon. Remaining PCR products were treated with Exo-Sap-IT (USB) according to the manufacturer's protocol and sequenced in both directions, using the amplification primers by use of the BigDye Ready Reaction mix (ABI Corp); reaction products were analyzed on a Prism 3700 automated DNA analyser (ABI Corp). Sequence alignments were performed using Sequencher (Version 4.10.1, Genecodes Corporation, CA). All sequences were entered into the BLAST search algorithm [1] and the NCBI nucleotide database to determine gene identity.

Results

Clinical Data

Among the 66 animals examined three presented a recurrent clinical history, characterized by vomiting and diarrhea, with

occasional episodes of bloody diarrhea. In the case of the Rottweiler, the presence of blood in the stools coincided with a change in diet supporting the observations of Sherding and Johnson [19]. In the case of the Shih Tzu, progressive weight loss was an additional symptom as previously observed by Gjerde et al. [9], in a case of recurrent gastroenteritis, associated with large numbers of *C. guttulatus* in the feces of a Siberian Husky in Norway. Examination of the animals using ultrasound imaging demonstrated distended intestinal walls with gas content and decreased echogenicity, as well as moderate to severe increases in the thickness of the mucosa suggestive of gastritis.

Microscopy and Culture Based Analysis of Material Collected from Dogs with Gastrointestinal Illness

Microscopic examination of both wet mounts (Fig. 1a) and smears (Fig. 1b), of the stomach washings and feces of each of the three animals revealed the presence of large numbers (>20 cells per field of view at 400 \times magnification, in stomach washes) of cylindrical ascomycetes consistent with published description of *C. guttulatus* [8, 15]. In addition the growth of long chains, resulting in the formation of pseudo-hyphae, was noted in the stomach wash, but not the feces of the Rottweiler (Fig. 1a, b). This morphological feature has only rarely been reported in vivo, specifically in canine fecal material [9, 11] and in gall bladder aspirate from a dog [13]. Colonies, cream to brown in color, which exhibited morphological features (smooth, butyrus) as described for *C. guttulatus* recovered from rabbit feces [8], were isolated in pure culture from the stomach wash of the Siberian Husky but pure cultures were not obtained from the stomach washes of the other two clinically ill dogs. In both cases, microscopic examination of the preliminary liquid cultures revealed the predominance of yeasts (primarily cells morphologically consistent with *C. guttulatus*), relative to bacteria. However, upon subculture, the yeast cells were rapidly overgrown by the bacteria.

Direct examination, using an inverted microscope, of individual colonies derived from the Siberian Husky showed the presence of cylindrical cells, with or without vacuoles, in chains with single (central), double (bilateral) or triple branches resulting in pseudo-filament formation at discrete locations along the colony edges. In contrast, this morphological feature was not observed in colonies produced by the *C. guttulatus* isolate recovered from rabbit feces in Brazil.

Molecular Analysis of Cultured Yeast

PCR amplification of DNA derived from individual colonies of the Siberian Husky isolate and from the rabbit culture previously identified biochemically as *C. guttulatus*

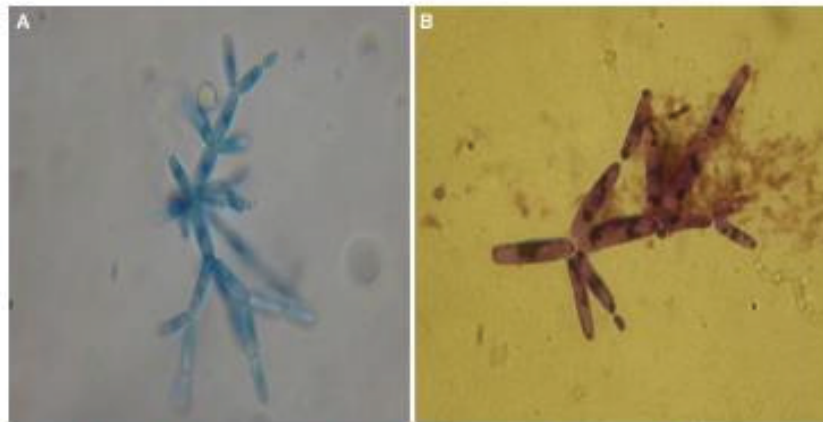


Fig. 1 Microscopic observation of *C. guttulatus* in stomach lavage of a Rotweiler. Fresh, wet mounted sample stained with Lactophenol cotton blue (a); methanol dehydrated smear stained with Giemsa (b). Magnification 400 × 169 × 86 mm (150 × 150 DPF)

[8], generated amplicons of the expected mobility on agarose gels. Comparative sequence analysis of the Husky isolate amplicon (GenBank accession number JQ861266) revealed 99 % nucleotide sequence homology (8 nucleotide differences over 593 nucleotides), with the amplicon from the rabbit isolate NRRL/Y-17561 (Genbank accession number U76196); deposited by Kurtzman and Rohnett [12]. In addition, it demonstrated 98 % sequence homology (8 nucleotide differences over 533 nucleotides), with the sequence amplified from a *C. guttulatus* isolate associated with diarrhea in dogs (Genbank accession number FJ755179), in Norway [9]. The molecular data confirmed the morphological findings and definitively identified the diarrhea associated ascomycetes as *C. guttulatus*. Submission of sequence data for the amplicon generated from the Brazilian rabbit isolate (GenBank accession number JQ861267), to the BLAST search algorithm [1], revealed 97 % homology (15 nucleotide differences over a total of 533 nucleotides) to the Norwegian dog isolate and a level of 96 % homology (24 nucleotide differences over a total of 592 nucleotides) with the U76196 sequence. Finally, a comparison between the amplicons generated for the Brazilian dog and rabbit isolates demonstrated a level of 96 % nucleotide homology (19 nucleotide differences over a total of 592).

Examination of Fecal Material Collected from Healthy Animals

Microscopic examination of feces (wet mounts and smears), collected from a total of 63 dogs undergoing routine health checks revealed the presence of yeast cells,

Table 1 Distribution of *C. guttulatus* in dog feces

Breed	Number examined	Vegetative cells		Clinical signs
		Positive (%)	Negative	
Golden Retriever	39	12 (37.7) ^a	27	Absent
German Shepherd	24	2 (8.3) ^a	22	Absent
Rotweiler	1	1 (100) ^b	0	Present
Siberian Husky	1	1 (100) ^b	0	Present
Shih Tzu	1	1 (100) ^b	0	Present
Total	66	17 (24.6)	49	

^a Detection based on microscopic examination of feces

^b Detection based on microscopic examination of feces and stomach washings

consistent with the description of *C. guttulatus*, in 37.7 % (12/39) of Golden Retrievers and in 8.3 % (2/24) of German Shepherds (Table 1). It should be noted that the levels of yeast cells recorded in wet mounts prepared from the feces of healthy dogs were much reduced (generally <2 cell per field of view at 400× magnification; when present), in comparison to the quantities observed in the evacuations of the three diseased animals.

Discussion

A possible association between large scale growth of *C. guttulatus* and gastrointestinal disturbance in dogs has previously been proposed by northern European and Japanese research groups [9, 11, 14, 18]. The results of the present study provided further support for the existence of

such an association, and represented the first confirmed isolation of *C. guttulatus* from dogs, with gastrointestinal illness, in the southern hemisphere. Molecular techniques i.e. PCR and nucleotide sequence analysis, were employed to validate the morphological findings and to permit a comparison between our canine isolate and other *C. guttulatus* sequences deposited in the GenBank. Interestingly, the observed levels of nucleotide polymorphisms in the approximately 600 bp region of domain D1/D2 of the sequences currently deposited in GenBank as *C. guttulatus* (where sequence U76196 was considered as the type strain), were substantially higher than the levels recorded for other species of ascomycetous yeast, where nucleotide sequence divergence between type strains and conspecific isolates was generally less than 3 nucleotides, although for some species it was as high as 6 nucleotide substitutions [12]. In light of the elevated levels of sequence polymorphisms, coupled with the subtle differences in morphological characteristics, it is worth considering the possibility that the genus *Cyniclomyces* may in fact comprise more than a single species as suggested previously by Gjerde et al. [9], where a total of 11 nucleotide substitutions (over 533 nucleotides) were recorded between the diarrhea associated isolate (FJ755179) and the NRRLY-17561 authenticated, rabbit derived, culture. Sequence analysis of additional regions of the genome e.g. the internal transcribed spacer (ITS) regions ITS1 and ITS2 and the intervening 5.8S rRNA gene as applied to other ascomycetes [20], will be required to resolve this taxonomic question.

As shown above, reports demonstrating a link between *C. guttulatus* and gastrointestinal disorders of dogs have steadily increased in frequency during the last decade. Nevertheless, to our knowledge, there have been no reports of this yeast species in association with healthy dogs. In the current study, microscopic examination of feces (wet mounts and smears), collected from a total of 63 healthy dogs revealed the presence of vegetative cells of *C. guttulatus* in 22 % (14 of 63) of the animals. Clearly, these data indicate that *C. guttulatus* comprises a component of the normal microflora of healthy dogs and implies that, as with the majority of yeast infections; the association between *C. guttulatus* and gastro-intestinal disturbances in dogs most likely reflects a breakdown in the innate defense mechanisms of the host [4, 5]. It is of interest that a recent, culture based, study of yeast species associated with a population of 203 healthy dogs in Brazil [3], did not identify *C. guttulatus* as a component of the microflora in a variety of anatomical sites i.e. preputial, vaginal, oral and perianal mucosae, however this is most likely explained by the fact that the culture media and incubation conditions employed in that study would not have favored the isolation of *C. guttulatus*.

References

1. Altschul SF, Gish W, Miller W et al (1990) Basic local alignment search tool. *J Mol Biol* 215:408–410
2. Birgel EH, Neto LP, Ameal V et al (1977) *Meios e métodos de diagnóstico em Medicina Veterinária*, 4ª ed. Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, São Paulo
3. Brito EH, Fontenele RO, Brillante RS et al (2009) The anatomical distribution and antimicrobial susceptibility of yeast species isolated from healthy dogs. *Vet J* 182:320–326
4. Cafarchia C, Otranto D (2004) Association between phospholipase production by *Malassezia pachydermatis* and skin lesions. *J Clin Microbiol* 142:4868–4869
5. Coutinho SDA (2005) *Malassezia pachydermatis* enzymes production in isolates from external ear canal of dogs with and without otitis. *Aq Bras Med Vet Zootec* 57:149–153
6. Dijkstra M, Kniss JS, Bojke JT et al (2010) Protein-losing enteropathy in Rotweilers. *Tijdschr Diergeneesk* 135:406–412
7. Eminger SJ (1996) *Manual de medicina Interna Veterinária*, 1ª ed. Editora Manole, São Paulo
8. Flautino G, Baroni FA (2009) Isolation of *Cyniclomyces guttulatus* (Robin) Van Der Walt and Scott (1971). *Rev Bras Med Vet* 31:100–108
9. Gjerde B, Holtet L, Sanden S et al (2009) *Cyniclomyces guttulatus*-lignende sopp som vanlig årsak til gastroenteritt hos hund—en kausiskrivelse. *Norsk Veterinær Tidsskrift* 121:507–510
10. Hensley-Bennet C (2008) Diarrhea in a rabbit. *Cyniclomyces guttulatus* yeast. *Lab Animal* (NY) 37:347–349
11. Houwers DJ, Blankesteijn B (2001) *Cyniclomyces guttulatus* and diarrhea in dogs. *Tijdschr Diergeneesk* 126:14–15
12. Kurtzman CP, Robnett CJ (1998) Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences. *Antonie Leeuwenhoek* 73: 331–371
13. Neel JA, Tarigo J, Grindem CB (2006) Gallbladder aspirate from a dog. *Vet Clin Path* 35:467–470
14. Peters S, Houwers DJ (2009) Een geval van diarree geassocieerd met *Cyniclomyces guttulatus* (brillendroesjesgist) bij de kat. *Tijdschr Diergeneesk* 134:198–199
15. Phaff HJ, Miller MW (1999) *Cyniclomyces* Van Der Walt et Scott. In: Kurtz CP, Fell JW (eds) *The Yeasts: a taxonomic study*. Elsevier, Amsterdam, pp 154–156
16. Riehle R, Scholer HJ (1961) *Saccharomycopsis guttulata* Von Kautschchen: Kulturelle Eigenschaften Und Mögliche Bedeutung. *Pathol et. Microbiol* 24:783–793
17. Rippon JW (1974) *Medical Mycology: the pathogenic fungi and the pathogenic Actinomyces*. W.B. Saunders Co, Philadelphia
18. Saito K, Saito H, Watanabe T et al. (2009) *Cyniclomyces guttulatus*: it can now be clearly observed in canine feces. *Saito Animal Hospital, M.B.Network, Kitasato Institute*. <http://www.33.ocn.ne.jp/~saitohops/Cyniclomyces.htm>. Accessed on: Nov 3 2009
19. Shending RG, Johnson SE (2008) *Doenças intestinais*. In: Birchard SJ, Shending RG (eds) *Manual Saunders de clínica de pequenos animais*, 3ª ed. Editora Roca, São Paulo
20. Smith MT, Robert V, Post GA et al (2005) Taxonomy and phylogeny of the ascomycetous yeast genus *Zygoascus*, with proposal of *Zygoascus meyeri* sp. nov. and related anamorphic varieties. *Int J Syst Evol Microbiol* 55:1353–1363
21. Ziedt CH, Dedejans C, Müller J et al (1988) *Cyniclomyces guttulatus* (*Saccharomycopsis guttulata*)-culture, ultrastructure and physiology. *Antonie Leeuwenhoek* 54:357–366

Anexo 7. FURTADO, T.T.; FLAUSINO, G.; LEAL, P.D. DE S.; FERREIRA, J.P.; MCINTOSH, D.; FLAUSINO, W.; TEIXEIRA FILHO, W.L.; PAES-DE-ALMEIDA, E.C.; LOPES, C.W.G. Diagnóstico de colangite associado à mucocele da vesícula biliar por *Cyniclomyces guttulatus* em cães - Relato de casos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v. 35, n. 1, p. 1-6, 2013.

DIAGNÓSTICO DE COLANGITE ASSOCIADO À MUCOCELE DA VESÍCULA BILIAR POR *Cyniclomyces guttulatus* EM CÃES - RELATO DE CASOS*

Tássia Furtado Teixeira¹, Gilberto Flausino², Paulo Daniel de Sant'Anna Leal³, Juliana Pinto Ferreira⁴, Douglas McIntosh⁵, Walter Flausino⁶, Walter Leira Teixeira Filho⁶, Elan Cardoso Paes-de-Almeida⁸ e Carlos Wilson Gomes Lopes^{7*}

ABSTRACT. Furtado T.T., Flausino G., Leal P.D. de S., Ferreira J.P., McIntosh D., Flausino W., Teixeira Filho W.L., Paes-de-Almeida E.C. & Lopes C.W.G. [Diagnosis of cholangitis associate to mucocele in gallbladder due to *Cyniclomyces guttulatus* in dogs - Cases report] Diagnóstico de colangite associado à mucocele da vesícula biliar por *Cyniclomyces guttulatus* em cães - Relato de casos. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, 35(1):1-6, 2013. Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23890-000, Brasil. E-mail: lopeschw@ufrj.br

Vegetative cells of an ascomycete, morphologically similar to previously descriptions of *Cyniclomyces guttulatus* were observed on the surface of the mucosa of the gallbladder, in samples of gastric lavage and feces of two dogs with a history characterized by diarrhea, vomiting, thickening of the stomach mucosa, and hypertrophy of the gallbladder. The diagnosis of biliary cholangitis was confirming by ultrasound examination and changes in liver enzymes. For treatment of this ascomycete fluconazol was used at a dose of 5mg/kg body weight which is efficient, because this was not observed ascomycete cells in gastric lavage and feces samples of these animals after treatment.

KEY WORDS. *Cyniclomyces guttulatus*, gallbladder, dogs, natural infection, cholecystitis.

RESUMO. As células vegetativas de um ascomiceto, morfologicamente semelhantes às descrições anteriores de *Cyniclomyces guttulatus* foram observadas sobre a superfície da mucosa da vesícula biliar, em amostras de lavagem gástrica e fezes de três cães com história caracterizada por gastrite e colangiohepatite, com diarréia, vômitos, espessamento da mucosa do estômago e hipertrofia da

vesícula biliar. O diagnóstico de colangite biliar foi confirmando pelo exame de ultrassom e de alterações nas enzimas hepáticas. Para o tratamento deste ascomiceto foi utilizado fluconazol na dose de 5mg/kg de peso corporal, que foi eficiente, por não ser observado células deste ascomiceto na lavagem gástrica e nas amostras de fezes destes animais após o tratamento.

*Recebido em 19 de novembro de 2011.

Aceito para publicação em 7 de janeiro de 2013.

¹ Bióloga, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias (PPGCV), Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23897-970, Brasil. E-mail: tassia@ufrj.br

² Médico-veterinário, Zootecnista, DSc. Departamento de Microbiologia, IV, UFRRJ, BR 465 km 7, Seropédica, RJ 238897-970. E-mail: gnlflausino@ufrj.br

³ Médico-veterinário, *M. Med. Vet.*, PPGCV, IV, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 23.897-970. E-mail: paulodaniel@ctiveterinario.com.br

⁴ Médica-veterinária, Centro de Terapia Intensiva e Emergência Veterinária, Av. das Américas, 3939, Bl. 2, Lj I, Shopping Esplanada da Barra, Barra da Tijuca, Rio de Janeiro, RJ 22631-003. E-mail: ctiveterinario@ctiveterinario.com.br

⁵ Microbiologista, PhD. Departamento de Parasitologia Animal (DPA), IV, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 238897-970. E-mail: mcintosh@ufrj.br

⁶ Biólogo, PhD. DPA, IV, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 238897-970. E-mails: flausino@ufrj.br, leira@ufrj.br - bolsista CNPq.

⁷ Médico-veterinário, PhD, LD. DPA, IV, UFRRJ, BR 465 Km 7, Seropédica, RJ 238897-970. *Autor para correspondência. E-mail: lopeschw@ufrj.br - bolsista CNPq.

⁸ Médica-veterinária, DSc., Departamento de Ciências Básicas, FCB, Universidade Federal Fluminense, Pólo Universitário de Nova Friburgo, Rua Dr. Sílvio Henrique Braune 22, Centro, Nova Friburgo, RJ 24020-420, Brasil. E-mail: elancardozo@gmail.com

PALAVRAS-CHAVE. *Cyniclomyces guttulatus*, vesicular biliar, infecção natural.

INTRODUÇÃO

As doenças que acometem o sistema hepatobiliar em cães, em particular a obstrução biliar extra-hepática ocorre quando há alteração no fluxo normal da bile, devido a diversas causas. Historicamente, a incidência de doenças restritas à vesícula biliar é baixa, no entanto, com o uso de diagnóstico de rotina de ultrassonografia abdominal, a incidência de mucocele da vesícula biliar e colelitíase têm aumentado (Center 2009). Em geral, são achados de exame e dificilmente implicam em sinais clínicos identificáveis, porque frequentemente estes são discretos, temporários e recidivantes. A icterícia é mais notada quando material lodoso ou cálculos causam a obstrução do ducto biliar (Slatter 1998). Também podem ser notados vômito, depressão, perda de peso, febre, desidratação, fezes acólicas e dores abdominais associadas à colecistite ou obstrução do ducto biliar (Slatter 1998, Willard & Fossum 2005). A ultrassonografia pode auxiliar na detecção de obstrução de vias biliares e suas causas (Willard & Fossum 2005). A mucocele da vesícula biliar é diagnosticada com maior frequência em cães, mas a sua verdadeira incidência permanece incerta. A causa subjacente a esta condição ainda é controversa, mas há uma forte associação com a hiperplasia das glândulas mucosas no epitélio da vesícula biliar. Embora o tratamento cirúrgico tenha sido o tratamento de eleição (Willard & Fossum 2005), a evidência baseada em casos recentes sugere que alguns pacientes podem responder ao tratamento médico (Quinn & Cook, 2009). Mucocele geralmente são relatados em cães de pequeno e médio porte, cães pastores de Shetland e Cocker spaniels são mais acometidos (Worley et al. 2004), assim como raças pequenas como Schnauzer (Mehler & Bennett 2006). A maioria dos pacientes com mucocele são mais velhos (média de idade de 9 anos), predileção por sexo não tem sido estabelecida (Neer 1992). Pode ser difícil compreender as diferenças entre lama biliar e mucocele no exame ultra-sonográfico, lama biliar é móvel e dependente da gravidade, enquanto que mucocele é imóvel e exibe um padrão distinto estriado ou estrelado (Besso et al. 2000).

Para o diagnóstico além dos testes laboratoriais de rotina, a colecitocentese pode ser realizada, com o objetivo do isolamento do microorganismo responsável através de cultura de aeróbios, anaeróbios

e fungos, os isolados mais comuns são a *Escherichia coli* e *Enterobacter*, *Enterococcus*, e *Clostridium* (Wagner et al. 2007). Dentre as infecções fúngicas, a presença de um ascomiceto do gênero *Cyniclomyces* vem sendo assinalada com alguma frequência em fezes de cães (Houwers & Blankens-tein 2001, Gjerde et al. 2009, Dijkstra et al. 2010, Flausino et al. 2012), estômago (Flausino et al. 2012) e associado a colecistite supurativa e colangiohepatite em cães (Neel et al. 2006), em cães com gastrite crônica foram encontradas quantidades de *C. guttulatus* no lavado gástrico e nas fezes, sendo que o seu diagnóstico foi baseado na identificação microscópica, no isolamento através de cultivo e no sequenciamento do DNA desta espécie encontrada no Brasil (Flausino et al. 2012).

O presente trabalho teve como objetivo assinalar o diagnóstico e tratamento da infecção natural por *C. guttulatus* associado à colangite e colangiohepatite em três cães.

HISTÓRICO

Três cães foram atendidos no Centro de Terapia Intensiva e Emergência Veterinária (CTIVet), localizado na Barra da Tijuca, município do Rio de Janeiro, RJ; uma cadela com 13 anos da raça Schnauzer e os outros com 17 anos de idade e sem raça definida.

Caso 1

Portador de insuficiência cardíaca congestiva, emagrecimento progressivo nos últimos oito meses, anorético há dois dias, episódios de vômitos, de diarreia há 15 dias, prostrado, dispneico, fraqueza muscular presente e com 11,6 kg de peso vivo. Ao exame clínico apresentava aumento abdominal sugestivo de ascite, temperatura retal de 37,8°C; frequência cardíaca de 120 batimentos por minuto, frequência respiratória de 32 movimentos por minuto, pulso arterial de apresentação intensa; tempo de preenchimento capilar de 3 segundos; palidez da mucosa oral, taxa de desidratação em torno de 6%.

Caso 2

Portador de insuficiência cardíaca congestiva, hiperadrenocorticismo, doença periodontal, gengivite, halitose intensa, eventuais episódios de vômitos e com 14 kg de peso vivo. Ao exame clínico apresentava temperatura retal de 38,8°C; frequência cardíaca de 112 batimentos por minuto, frequência respiratória de 40 movimentos por minuto, pulso

arterial de apresentação intensa; tempo de preenchimento capilar de 2 segundos, ausculta torácica com sibilo expiratório.

Caso 3

Anorético há dois dias, prostrado, dispneico, com 7,5 kg de peso vivo. Ao exame clínico apresentava aumento abdominal localizado na região hepática, temperatura retal de 38,8°C; frequência cardíaca de 128 batimentos por minuto, frequência respiratória de 40 movimentos por minuto, pulso arterial de apresentação intensa; tempo de preenchimento capilar de 2 segundos.

Com o intuito de diagnóstico, foi solicitado exame de imagem ultrassonográfico do abdômen, coleta de fezes da ampola retal e sangue da veia jugular direita, com uma seringa de 8 mL, com agulha 25 x 7 mm, onde 3 mL foi acondicionado em tubo de ensaio pediátrico com ácido etilenodiaminotetracético (anticoagulante-EDTA), e 5 mL em tubo de ensaio pediátrico sem anticoagulante, com o material da própria seringa foi feito dois estiraços sanguíneos corados com Panótico Rápido LB para contagem específica dos leucócitos e observações pertinentes. As amostras foram processadas no próprio CTIVet, com a utilização de aparelho automático (Ms4-Vet-Melet Schloesing Laboratoires coulter), Refratômetro Portátil e Microcentrifuga (E3500108 MICROSPIN CDR), para hemograma completo (leucograma, eritrograma, plaquetometria e proteína total) e concentrado de leucócitos e plaquetas (capa leucocitária) em dois estiraços em lâminas de vidro, obedecendo a mesma técnica de fixação, desidratação e coloração para o estiraço sanguíneo. As amostras sem anticoagulante foram centrifugadas em centrífuga (Mod. 208N, Excelsa Baby, marca Fanem Ltda.) a 350 x g por 10 minutos, para separação do soro, e utilizando pipeta automática de 32µl, para alaninaminotransferase (ALT), bilirrubina total (BT), fosfatase alcalina (FAL), uréia (UR), Gama-glutamil transferase (GGT) em aparelho de fotometria de reflectância in vitro Reflotron® Plus (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim-Baden-Württemberg) e utilizando o conjunto Katal Biotecnológica Ind. & Com Ltda, se obteve a determinação da albumina (g/dL).

Amostras de fezes foram coletadas e examinadas com a utilização da técnica de centrifugo-flutuação com solução saturada de açúcar (Birgel et al. 1977). Nas fezes de dois animais (1 e 2), foram observadas células leveduriformes cilíndricas, isoladas ou em

pequenas cadeias com morfologia semelhante ao do gênero *Cyniclomyces* (Figura 1a), indicando a necessidade de coleta de material estomacal, devido ao fato de *C. guttulatus* estar associado à gastroenterite em cães. Através de lavado gástrico, utilizando sonda nasogástrica número 8, seringa de 60 mL e solução fisiológica a 0,8%, sem necessidade de medicação pré-anestésica foi coletado material que no exame direto foi observado células leveduriformes cilíndricas em pequenas cadeias com morfo-

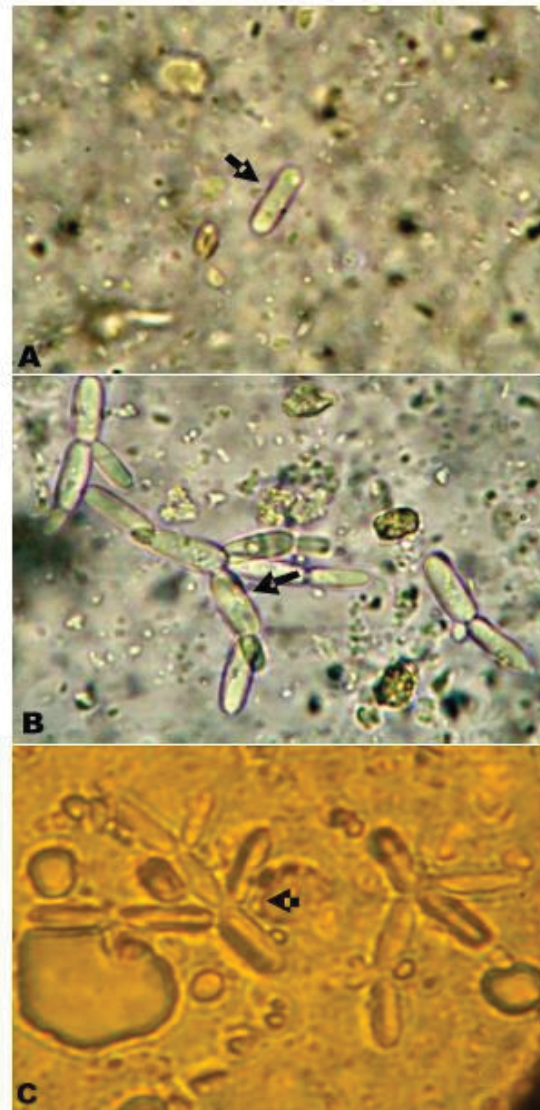


Figura 1. *Cyniclomyces guttulatus* (→) observado nas fezes (a) e lavado gástrico a fresco (b) e em meio de cultura YPGA (c). 400X.

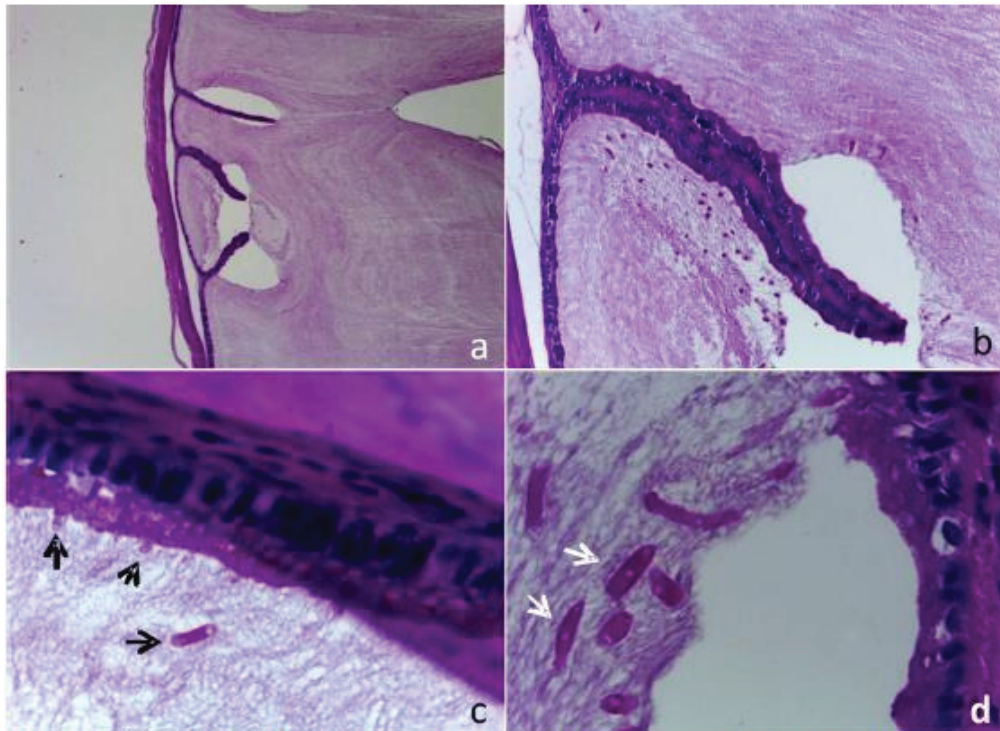


Figura 2. Vesícula biliar de cão: mucosa com pseudovilositades (a) 50X; formas vegetativas no entorno da pseudovilositade (b) 400X; células vegetativas de *Cyniclomyces guttulatus* na superfície da mucosa e sedimento (→) (c) 250X; e, em maior número, no sedimento (→) (d) 400X. H.E.

gia semelhante ao do gênero *Cyniclomyces* (Figura 1b). As amostras coletadas foram devidamente acondicionadas em caixas isotérmicas e, imediatamente, levadas para o Laboratório de Coccídios e Coccidioses, Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, UFRRJ. Amostras do conteúdo estomacal foram coradas a fresco, entre lâmina e lamínula, pelo azul de algodão lactofenol de Amann (Rippon 1974) e, desidratadas em metanol e coradas pelo Giemsa (Flausino et al. 2012).

Para o isolamento, o material procedente do lavado gástrico e fecal foi processado de acordo Flausino et al. (2012). Além disso, foram obtidas colônias isoladas do material fecal de coloração ambar ao marrom em meio YPGA (Figura 1c), com características próprias (cheiro e forma) de *C. guttulatus* (Flausino et al. 2012). Preparados, entre lâmina e lamínula, de colônias isoladas, suspensas em solução salina a 0,85% e coradas pelo azul de algodão lactofenol mostraram células com morfologia semelhante a do

Tabela 1. Análise laboratorial dos animais com diagnóstico para *Cyniclomyces guttulatus* associado à colangite.

Parâmetros	Valores em mg/dL						Referência ^b
	Caso 1		Caso 2		Caso 3		
	Antes	Após	Antes	Após	Antes	Após	
Albumina	2,10	2,8	- ^c	-	3,7	2,2	2,8
ALT (TGP)	246	77,9	43,9	<0,5	71,7	473	C<89
Bilirrubina Total	4,48	<0,5	-	272	0,3	0,3	C<0,5
Fosfatase Alcalina	1420	114	132	72,1	1310	3900	C<164
Uréia	84,9	72,1	33,6	<0,5	88,8	-	C<54
Gama GT	17,3	16,0	-	65,8	< 5,0	251	C<20

^a Antes e após tratamento com fluconazol 5mg/kg de peso vivo

^b Roche Diagnostics GmbH, Mannheim-Baden-Württemberg, RFA

^c Não avaliado (-)

gênero *Cyniclomyces*. No caso 3, após a remoção cirúrgica da vesícula biliar, fragmentos da mesma foram fixados em formol histológico, emblocados em parafina e, mais tarde, corados em Hematoxilina e Eosina. Na figura 2 podem-se observar as pseudovilosidades na mucosa da vesícula biliar e, a presença de células vegetativas de *C. guttulatus* agrupadas em meio ao sedimento localizado sobre a superfície da mucosa e no muco biliar.

DISCUSSÃO

Nos três animais desse estudo foram isolados do lavado gástrico, fezes (exceção do animal 3), bile e visualizado no corte histológico da mucosa da vesícula biliar o ascomiceto *C. guttulatus*, que esteve associado aos sinais clínicos caracterizados por vômito e diarreia a semelhança do que foi assinalado por Houwers & Blankenstein (2001), Gjerde et al. (2009), Dijkstra et al. (2010) e Flausino et al. (2012). Além disso, o animal do caso 2 apresentava imagem ultrassonográfica sugestiva de gastrite e com a observação de grande quantidade de cadeias longas deste ascomiceto, formando pseudo-hifas no lavado gástrico semelhante à descrição prévia de Flausino et al. (2012). O animal do caso 3 apresentava imagem ultrassonográfica sugestiva de colangite, com grande distensão da vesícula biliar e mucocele severa.

Os resultados laboratoriais foram sugestivos para doença hepatobiliar com aumento da atividade de transaminases parenquimatosas (alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase) animais 1 e 2 e enzimas colestáticas (fosfatase alcalina e gama-glutamil transferase) (Center 2009) e no exame de imagem ultrassonográfico, principal para o diagnóstico de alterações da vesícula biliar (Willard & Fossum 2005, Romero et al. 2008). Além disso, foi observada a presença de sedimento biliar com mucocele, visto que os três animais do presente estudo tinham idade entre 13 e 17 anos, de porte médio a semelhança dos achados de Neer (1992) e Worley et al. (2004) para animais mais velhos e, corroborando com os sinais clínicos observados por Slatter (1998) e Willard & Fossum (2005). Pode ser difícil compreender as diferenças entre lama biliar e mucocele no exame ultrassonográfico. Lama biliar é móvel, enquanto que mucocele é imóvel e exibe um padrão distinto estriado ou estrelado (Besso et al. 2000), citação esta observada na vesícula biliar dos casos 1 e 3 após colecistectomia respectivamente.

O procedimento instituído para tratar os processos patológicos induzidos pelo ascomiceto, que se

manifestaram por episódios de vômito, diarreia (Houwers & Blankenstein 2001, Gjerde et al. 2009, Dijkstra et al. 2010, Flausino et al. 2012,) e colangite (Neel & Tarigo 2006), foi com antifúngico sistêmico, fluconazol, que possui largo espectro de ação e efeitos tóxicos bastante reduzidos e com a melhor absorção dentre os antifúngicos de sua categoria (Nobre et al. 2002), foi utilizado na dose de 5mg/kg de peso vivo (Sharp et al. 1991, Nobre et al. 2002), o qual se mostrou eficiente, pois não ocorreu a observação dessas estruturas no lavado gástrico e nas fezes, este foi preferido ao itraconazol, pois este já se mostrou incompetente no tratamento deste ascomiceto (Gjerde et al. 2009) e a nistatina que em experiência recente para tratamento de *C. guttulatus* indicou que a dosagem mais eficaz para cães e gatos é de 50.000 UI /kg, via oral a cada 24 horas por 4 dias (Peters & Houwers 2009) ou de 500.000 UI/30 kg de peso corporal (Gjerde et al. 2009), porém é extremamente tóxica para uso parenteral e nas doses terapêuticas por via oral a absorção pelo trato gastrointestinal é praticamente inexistente (Sande & Mandell 1987). Apesar de *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, e *Clostridium* serem comuns (Wagner et al. 2007), não havia envolvimento bacteriano nos três casos observados, a não ser a presença de *C. guttulatus*, caracterizando como colangite exclusivamente em decorrência de um único agente etiológico. Segundo, Neel et al. (2006) há necessidade que haja a presença de um agente etiológico para que ocorra colangite clínica.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre A.L., Center S.A., Randolph J.F., Yeager A.E., Keegan A.M., Harvey H.J. & Erb H.N. Gallbladder disease in Shetland sheepdogs: 38 cases (1995-2005). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 231:79-88, 2007.
- Besso J.G., Wrigley R.H., Gliatto J.M. & Webster C.R. Ultrasonographic appearance and clinical findings in 14 dogs with gallbladder mucocele. *Vet Radiol Ultrasound*, 41:261-271, 2000.
- Birgel E.H., Netto L.P., Amaral V., Giorgi W. & Panetta J.C. *Meios e métodos de diagnóstico em Medicina Veterinária*. 4ª ed. Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, São Paulo, 1977. 218 p.
- Burrows C.F., Batt R.M. & Sherding R.G. Diseases of the small intestine. In: Ettinger S.J., Feldman E. *Textbook of veterinary internal medicine*. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1995. p.1169-1232.
- Center S.A. Diseases of the Gallbladder and Biliary Tree. *Vet. Clin. North. Am.: Small Anim. Pract.*, 39:543-98, 2009.
- Dijkstra M., Kraus J.S. & Bosje J.T. Den Hertog E. Protein-losing enteropathy in Rottweilers. *Tijdschr. Diergeneesk.*, 135:406-412, 2010.

- Ettinger S.J. *Manual de medicina Interna Veterinária*, 1ª ed., Editora Manole, São Paulo, 1996. 1011p.
- Flausino G. & Baroni F. de A. Isolation of *Cyniclomyces guttulatus* (Robin) Van Der Walt and Scott (1971) in Brazil. *Rev. Bras. Med. Vet.*, 31:100-103, 2009.
- Flausino G., Leal P.D.S., McIntosh D., Amaral L.G., Teixeira Filho W.L., Flausino W., & Lopes C.W.G. Isolation and characterization of *Cyniclomyces guttulatus* (Robin) Van Der Walt and Scott, 1971 in dogs in Brazil. *Curr. Microbiol.*, 65:542-546, 2012.
- Gjerde B., Holtet L., Sanden S. & Dahlgren S.S. Soppen *Cyniclomyces guttulatus* er en del av den normale ventrikkel- og tarmfloraen hos kanin. Vi beskriver et tilfelle der en morfologisk identisk, men genetisk forskjellig, sopp har gitt residiverende gastroenteritt hos hund. *Norsk Veterinær Tidsskrift.*, 121:507-510, 2009.
- Guyton A.C. & Hall J.E. *Textbook of medical physiology*. 11ª Ed. Elsevier Inc., Philadelphia, 2006. p.802-804.
- Hersey-Benner C. Diarrhea in a rabbit. *Cyniclomyces guttulatus* yeast. *Lab. Anim.*, (NY) 37:347-349, 2008.
- Houwens D.J. & Blankenstein B. *Cyniclomyces guttulatus* (Brillendoosjes-gist) endiarree bij honden. *Tijdschr. Diergeneesk.*, 126:14-15, 2001.
- Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W. & Stalpers J.A. *Ainsworth & Bisby's dictionary of the Fungi*. 10ª Ed. CAB International, Wallingford, 2008. p.1-746.
- Martinez Romero G., Garcia Ortuño L.E., Casas F.C., Solís Carvajal K. & Méndez Aguilar R.E. Mucocela en la vesícula biliar de un perro: hallazgos clínico-patológicos. *Veterinária, Mexico*. 39: 335-340, 2008.
- Mehler S.J. & Bennett R.A. A review of canine extrahepatic biliary tract disease and surgery. *Compend. Contin. Educ. Prac. Vet.*, 28:302-315, 2006.
- Neel J.A., Tarigo J. & Grindem C.B. Gallbladder aspirate from a dog. *Vet. Clin. Pathol.*, 35:467-70, 2006.
- Neer T.M. A review of disorders of the gallbladder and extrahepatic biliary tract in the dog and cat. *J. Vet. Intern. Med.*, 6:186-192, 1992.
- Nobre M. de O., Nascente P. da S., Meireles M.C. & Ferreira L. Drogas antifúngicas para pequenos e grandes animais. *Cienc. Rur.*, 32:175-184, 2002.
- Nyland T.G. & Mattoon J.S. *Ultrassom diagnóstico em pequenos animais*. 2ª ed. Roca, São Paulo, 2004. p.95-130.
- Peters S. & Howers D.J. Een geval diarree geassocieerd met *Cyniclomyces guttulatus* (brillendoosjesgist) bij de kat. *Tijdschr. Diergeneesk.*, 134:198-199, 2009.
- Phaff H.J. & Miller M.W. *Cyniclomyces* Van Der Walt et Scott. In: Kurtzman C.P. & Fell J.W. *The Yeasts: a taxonomic study*. Elsevier Science B.V., Amsterdam, 1999, p.154-156.
- Pike F.S., Berg J., King N.W., Penninck D.G. & Webster C.R.L. Gallbladder mucocele in dogs: 30 cases (2000-2002). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 224:1615-1622, 2004.
- Quinn R. & Cook A.K. An update on gallbladder mucoceles in dogs. *Vet. Med.*, 103:169-175, 2009.
- Richle R. & Scholer H.J. *Saccharomycopsis guttulata* Von Kaninchen: Kulturelle Eigenschaften Und Mögliche Bedeutung. *Path. Microbiol.*, 24:783-793, 1961
- Rippon J.W. *Medical Mycology: The pathogenic fungi and the pathogenic Actinomycetes*. W.B. Saunders Co., Philadelphia, 1974. 587p.
- Saito K., Saito H., Watanabe T. & Saito H. *Cyniclomyces guttulatus*: it can now be clearly observed in canine feces. Saito Animal Hospital, M.B.Network, Kitasato Institute. Disponível em: <<http://www33.ocn.ne.jp/~saitoahohp/Cyniclomyces.htm>>. Acesso em: 3 nov 2009.
- Sande M.A. & Mandell G.L. Drogas antimicrobianas - Drogas antimicóticas e antivirais, p.799-807. In: Goodman L. & Gilman A.G. (Eds). *As bases farmacológicas da terapêutica*. Guanabara, Rio de Janeiro, 1987.
- Shaffer E.A. Review article: control of gall-bladder motor function. *Aliment Pharmacol. Ther.*, 14(supl. 2):2-8, 2000.
- Sharp H., Harvey C.E. & O'Brien J.A. Treatment of canine nasal aspergillosis/penicilliosis with fluconazole. *J. Small Ani. Pract.*, 32:513-516, 1991.
- Sherding R.G. & Johnson S.E. Doenças intestinais, p.719-756. In: Birchard S.J. & Sherding R.G. (Eds). *Manual Saunders de clínica de pequenos animais*. 3ª ed., Editora Rocca, São Paulo, 2008.
- Slatter D. Fígado e Sistema Biliar, p.783-798. In: Slatter D. (Ed.), *Manual de cirurgia de pequenos animais*. 2ª ed., Manole, São Paulo, 1998.
- Tsurumi K. & Onda M. A fluorescence histochemical study for the motility of the gallbladder. *Gastroenterol. Jpn.*, 14:147-154, 1979.
- Wagner K.A., Hartmann F.A. & Trepanier L.A. Bacterial culture results from liver, gallbladder, or bile in 248 dogs and cats evaluated for hepatobiliary disease: 1998-2003. *J. Vet. Intern. Med.*, 21:417-424, 2007.
- Willard M.D. & Fossum T.W. Diseases of the Gallbladder and Extrahepatic Biliary System, p.1478-1482. In: Ettinger S.J. & Feldman E.C. (Eds), *Textbook of Veterinary Internal Medicine*, 6ª ed., Elsevier, St. Louis, 2005.
- Worley D.R., Hottinger H.A. & Lawrence H.J. Surgical management of gallbladder mucoceles in dogs: 22 cases (1999-2003). *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 225:1418-1422, 2004.
- Zierdt C.H., Detlefsen C., Muller J. & Waggie K.S. *Cyniclomyces guttulatus* (*Saccharomycopsis guttulata*)-culture, ultrastructure and physiology. *Antonie van Leeuwenhoek*, 54:357-366. 1988.