UNIVERSIDADE SANTO AMARO

Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*

Mestrado em Medicina Veterinária

Elidia Zotelli dos Santos

SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* E *Neospora caninum* EM CÃES DOMICILIADOS ATENDIDOS EM HOSPITAIS PÚBLICOS VETERINÁRIOS DO ESTADO DE SÃO PAULO

São Paulo

2023

Elidia Zotelli dos Santos

SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* E *Neospora caninum* EM CÃES DOMICILIADOS ATENDIDOS EM HOSPITAIS PÚBLICOS VETERINÁRIOS DO ESTADO DE SÃO PAULO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* da Universidade Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Orientadora: Professora Doutora Solange Maria Gennari.

São Paulo

2023

UNiSA
Universidade Santo Amaro

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

PARECER N. 61/2021

Projeto de Pesquisa: "Soroprevalência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães domiciliados atendidos em Hospitais Públicos Veterinários da região metropolitana de São Paulo"

Pesquisador Responsável: Prof. Solange Maria Gennari

Elidia Zotelli dos Santos

Curso: Medicina Veterinária

Prezado Pesquisador:

Ao se proceder à análise do processo em questão, coube a seguinte deliberação:

O Comitê de Ética em Pesquisa no Uso de Animais **(CEUA-UNISA),** seguindo as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo animais, conforme a Lei federal nº 11.794 (Lei Arouca), as resoluções do CONCEA, que estabelecem os procedimentos para o uso científico de animais no país e a Lei Estadual nº 11.977/05 que institui o Código de Proteção aos Animais do Estado de São Paulo, deliberando pela **Dispensa** do Projeto **"Soroprevalência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães domiciliados atendidos em Hospitais Públicos Veterinários da região metropolitana de São Paulo".**

São Paulo, 23 de novembro de 2021.

PROFA. DRA. VALERIA CASTILHO ONOFRIO
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA
UNISA - Universidade Santo Amaro

UNiSA
Universidade Santo Amaro

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

DIRETRIZ BRASILEIRA PARA O CUIDADO E A UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS PARA FINS CIENTÍFICOS E DIDÁTICOS – DBCA
CONCEA

5.2.9. Relatório de projetos ou protocolos
5.2.9.1. O responsável pelo projeto ou protocolo encaminhará à CEUA, ao final do estudo, um relatório de uso de animais. O relatório deverá conter informações básicas acerca do projeto ou protocolo baseando-se nos itens descritos no Anexo I (Formulário Unificado para Solicitação de Autorização para Uso de Animais em Ensino e/ou Pesquisa) da Resolução Normativa nº 04 do CONCEA, de 18 de abril de 2012.

VI. RESPONSABILIDADES DOS PESQUISADORES E PROFESSORES
VI.1. GERAIS
6.1.1. Pesquisadores e professores são responsáveis por todas as questões relacionadas ao bem-estar dos animais utilizados e devem agir de acordo com as exigências desta Diretriz. Essa responsabilidade se inicia quando os animais são alocados para uso em um projeto e se finaliza com término do mesmo.
6.1.2. Para garantir o bem-estar dos animais utilizados, os usuários de animais (pesquisadores, professores, alunos e técnicos) devem assegurar que a qualidade da supervisão do pessoal envolvido no cuidado e manejo dos animais usados esteja de acordo com a responsabilidade e com o nível de competência do pessoal.
6.1.3. Antes do início de qualquer atividade científica ou didática envolvendo o uso de animais, os pesquisadores e professores devem enviar uma proposta à CEUA indicando que o planejamento do projeto ou protocolo se encontra de acordo com esta Diretriz, com a Lei nº 11.794 e seus instrumentos de regulamentação.
6.1.4 Pesquisadores, professores, alunos e técnicos não podem iniciar atividade científica ou didática envolvendo o uso de animais antes de obter a aprovação por escrito da CEUA, cumprindo todas as exigências solicitadas por esta.
6.1.5. Ao solicitar a aprovação para uma proposta, usuários de animais (pesquisadores, professores, alunos, técnicos) devem informar à respectiva CEUA sobre outras Instituições científicas ou didáticas participantes do projeto ou protocolo.
6.1.6. Pesquisadores, professores, alunos e técnicos envolvidos em projetos com animais devem disponibilizar meios para que possam ser contatados em casos de emergência.
6.1.7. Os pesquisadores e professores devem garantir que a escolha da espécie animal a ser utilizada encontra-se apropriada ao fim científico ou didático. Devem ser observadas as condições de padrão genético, a ausência de patógenos específicos, a documentação de padrão sanitário, os históricos nutricionais e ambientais, e outros fatores relevantes.
6.1.8. Pesquisadores, professores, alunos e técnicos devem registrar e manter todas as informações sobre o uso e o monitoramento de animais usados para fins científicos ou didáticos. Os registros devem, sempre que possível, incluir a origem e o destino dos animais, o tempo de permanência dos animais no projeto, os procedimentos realizados, o manejo dos animais e as medidas para promoção do bem-estar animal durante seu período em experimentação.
.1.9. A aprovação da CEUA é obrigatória quando animais são utilizados para adquirir, desenvolver ou demonstrar conhecimentos e técnicas para fins científicos ou didáticos.
6.1.10. Quando animais de produção, domésticos ou de companhia forem utilizados para fins científicos ou didáticos e seus proprietários (ou terceiros) tiverem a responsabilidade pelo tratamento e cuidados diários, a descrição dessas responsabilidades do pesquisador ou professor, assim como as do proprietário do(s) animal(is) ou terceiros devem estar claramente definidas na proposta.
6.1.11. Quando cabível deve ser anexado à proposta o Termo de Consentimento – TC, assinado pelos responsáveis.
6.1.12. Nos casos em que cadáveres ou parte deles sejam oriundos de animais utilizados em experimentos, o profissional responsável pelo protocolo original deverá obter aprovação prévia da CEUA. Nos casos em que cadáveres ou parte deles tenham outra origem, o profissional responsável deve informar a procedência deles à CEUA.

UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO - UNISA

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Titulo da Pesquisa: Soroprevalência de anticorpos contra Toxoplasma gondii e Neospora caninum em cães domiciliados atendidos em Hospitais Públicos Veterinários da região metropolitana de São Paulo.

Pesquisador: JONAS MORAES FILHO

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 53412021.3.0000.0081

Instituição Proponente: OBRAS SOCIAIS E EDUCACIONAIS DE LUZ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.121.391

Apresentação do Projeto:

Cães podem se infectar pelos protozoários Toxoplasma gondii e Neospora caninum, funcionando como hospedeiro intermediários de T. gondii e
hospedeiro definitivo de N. caninum. A toxoplasmose em cães está associada a uma baixa taxa de morbidade e mortalidade e, devido ao intimo
contato dos cães e seus tutores, o conhecimento da prevalência de cães infectados reflete o que vem ocorrendo no ambiente, uma vez que estes
animais funcionam como indicadores de contaminação ambiental. No Brasil não há estudos epidemiológicos para avaliar a transmissão do T. gondii
de cães para humanos, porém a presença de anticorpos foi relatada em cães de diferentes regiões. Neospora caninum é uma das maiores causas
de abortos em bovinos e os cães podem se infectar através da ingestão de tecidos contendo cistos e então excretar oocistos nas fezes,
contaminando o ambiente. Pouco se sabe sobre prevalência e fatores de risco para infecção por T. gondii e N. caninum em cães urbanos no estado
de São Paulo. Os cães são o principal animal de companhia no Brasil e podem desempenhar um papel importante na cadeia epidemiológica da
infecção por estes coccídios. O presente trabalho tem por objetivos determinar a soroprevalência

Endereço: Rua Profº Enéas de Siqueira Neto, 340
Bairro: Jardim das Imbuias **CEP:** 02.450-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2141-8687 **E-mail:** pesquisaunisa@unisa.br

de anticorpos anti- T. gondii e N. caninum em cães
domiciliados da região metropolitana de São Paulo, atendidos nos Hospitais Públicos Veterinários e identificar fatores de risco para as infecções
analisando fatores pertinentes aos cães e ao ambiente onde vivem.

Objetivo da Pesquisa:

Contribuir no conhecimento epidemiológico da toxoplasmose e neosporose em cães (Canis lupus familiaris) domiciliados da área metropolitana da
cidade de São Paulo.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

- Riscos mínimo aos participantes, como: desconforto em relação ao responder o questionário.

Benefícios:

- Não há benefício direto para o participante, mas sua participação e sua opinião expressada através das respostas do questionário aplicado, será
de suma importância para o estudo científico. Pois ao final deste estudo, as informações geradas, poderão trazer benefícios a outras pessoas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto Adequado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Cronograma - OK

Financiamento - OK

Questionário - OK

TCLE - OK

FR - Assinada

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO - UNISA

Continuação do Parecer: 5.121.391

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1861368.pdf	18/11/2021 16:32:42		Aceito
Outros	Questionario_Projeto.docx	18/11/2021 16:31:57	JONAS MORAES FILHO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_CEUA_Elidia.docx	18/11/2021 16:30:47	JONAS MORAES FILHO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEjonas.docx	18/11/2021 16:24:23	JONAS MORAES FILHO	Aceito
Folha de Rosto	FRElidia_2021.pdf	18/11/2021 16:23:28	JONAS MORAES FILHO	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

SAO PAULO, 23 de Novembro de 2021

Assinado por:
Ana Paula Ribeiro
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Prof° Enéas de Siqueira Neto, 340
Bairro: Jardim das Imbuias **CEP:** 02.450-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2141-8687 **E-mail:** pesquisaunisa@unisa.br

S234s Santos, Elidia Zotelli dos.

Soroprevalência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães domiciliados atendidos em hospitais públicos veterinários do estado de São Paulo / Elidia Zotelli dos Santos — São Paulo, 2023.

71 p.: il., color.

Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) — Universidade Santo Amaro, 2023.

Orientadora: Prof.ª Me. Dr.ª Solange Maria Gennari.
Coorientador: Prof. Dr. Herbert Sousa Soares.
Coorientador: Prof. Me. Dr. Jonas Moraes Filho.
Coorientador: Prof. Dr. Airlei Marcili.

1. Genoma de protozoário. 2. Fator de risco. 3. Coccídios. I. Gennari, Solange Maria, orient. II. Soares, Herbert Sousa, coorient. III. Moares Filho, Jonas, coorient. IV. Marcili, Airlei, coorient. V. Universidade Santo Amaro. VI. Título.

Fernando Carvalho — CRB8/10122

Elidia Zotelli dos Santos

SOROPREVALÊNCIA DE ANTICORPOS CONTRA *Toxoplasma gondii* E *Neospora caninum* EM CÃES DOMICILIADOS ATENDIDOS EM HOSPITAIS PÚBLICOS VETERINÁRIOS DO ESTADO DE SÃO PAULO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu da Universidade Santo Amaro – UNISA, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária.

Orientadora: Profa. Dra. Solange Maria Gennari

São Paulo, 26 de janeiro de 2023.

Banca examinadora:

_____

Profa. Dra. Solange Maria Gennari
Orientadora
Universidade Santo Amaro

_____

Profa. Dra. Bruna Farias Alves
Unidade Central de Educação FAEM Faculdade

_____

Prof Dr. Herbert Sousa Soares
Universidade Santo Amaro

Conceito Final: _____

AGRADECIMENTOS

Dedico este trabalho a minha família, minha mãe Rosi, meus irmãos Wan e Zana, e meu esposo Junior, vocês sempre acreditaram em mim, muito mais do que eu mesma, essa fé creditada aqueceu e impulsionou todos meus dias de insegurança e medo da incapacidade. Aos meus sobrinhos Olavo, Mauricio e Fernanda por ressignificarem a esperança e o futuro todos os dias. A minha fé é o meu amor por vocês.

Um trabalho de mestrado é uma longa viagem, que inclui uma trajetória permeada por inúmeros desafios, tristezas, incertezas, alegrias e muitos percalços pelo caminho, mas apesar do processo solitário a que qualquer investigador está destinado, reúne contributos de várias pessoas, indispensáveis para encontrar o melhor rumo em cada momento da caminhada. Trilhar este caminho só foi possível com o apoio, energia e força de várias pessoas, a quem dedico especialmente este projeto de vida.

Aos meus queridos amigos que a vida me presenteou: Karina Casagrande, Paulo César, Juliana Helena, Daniele Campos, Izaura Augusto, Fabiola Veiga, Juliana Nhanharelli, obrigada por acreditarem em mim e por todas as risadas nos dias cinzentos.

Agradeço a todos colegas, estagiários, alunos e docentes que contribuíram nessa jornada, em especial a todos os professores e colaboradores da Curso de Pós-Graduação Stricto Sensu de Mestrado em Saúde Única – Medicina Veterinária UNISA, por ter me dado a oportunidade de aprender e crescer como profissional e pessoa, ao longo desses dois anos de mestrado, onde tive o prazer de conhecer e rever pós-graduandos que me ajudaram e me deram apoio e orientação em momentos difíceis: Camila, Roberta, Tainá, Rebeca, Alessandro, Daniel, Livia, Suellen, Renata, Priscilla, Rodrigo e Edilson. Ainda em especial a Camilla e Stephanie por me ajudarem nas dosagens mesmo aos finais de semana.

Um agradecimento especial a minha orientadora Solange Maria Gennari que sempre foi e será um exemplo de profissional na medicina veterinária, por ter aceitado me orientar e ter demonstrado imensa paciência e atenção em todos os

momentos. Ao meu querido coorientador Herbert Soares pela amizade, pelas risadas, por toda sua dedicação ao meu aprendizado. Aos professores Jonas Moraes Filho e Airlei Marcili por toda ajuda, e a obtenção das amostras.

Agradeço a toda equipe do Laboratório de Medicina Veterinária da UNISA, ao Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e a Dra. Hilda Pena pelo auxílio na confecção das lâminas. Ao Hospital Público Anclivepa pela doação das amostras utilizadas nesse projeto.

Ao Professor Marcos Amaku, por toda ajuda com o delineamento e análise estatística do projeto.

A Professora Bruna Alves pelo auxilio com os mapas incríveis.

Aos meus pets e a todos que participaram desse projeto.

Por fim, o meu profundo e sentido agradecimento a todas as pessoas que contribuíram para a concretização desta dissertação, estimulando-me intelectual e emocionalmente.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brasil – Código de Financiamento 001.

“Nunca existiu uma grande inteligência sem uma veia de loucura”.

Aristóteles

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 19
1.1. Toxoplasmose 19
1.2. Neosporose 25
1.3. Hospitais Públicos Veterinários 29
1.4. Cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) 30
2. JUSTIFICATIVA 32
3. OBJETIVOS 33
3.1. Geral 33
3.2. Específico 33
4. MATERIAIS E MÉTODOS 34
4.1. Aspectos éticos 34
4.2. Origem das amostras 34
4.3. Detecção de anticorpos anti-*T. gondii* 36
4.4. Detecção de anticorpos anti-*N. caninum* 37
4.5. Aplicação de Questionário Epidemiológico 38
4.6. Análise Estatística 38
5. RESULTADOS 39
5.1.1. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* 39
5.1.2. Questionários e Fatores de Risco 40
5.2.1 Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* 42
7.CONCLUSÕES 49
REFERÊNCIAS 50
ANEXOS 67

RESUMO

Os cães podem se infectar pelos protozoários *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum*, funcionando, respectivamente, como hospedeiros intermediário e definitivo. A toxoplasmose é uma zoonose e, em cães, está associada a uma baixa taxa de morbidade e mortalidade. O conhecimento da prevalência de cães infectados reflete, de forma indireta, o que vem ocorrendo no ambiente onde vivem, funcionando como indicadores de contaminação ambiental. *Neospora caninum* é uma das maiores causas de abortos em bovinos e os cães têm um importante papel epidemiológico por serem os hospedeiros definitivos do parasito. O presente estudo teve como objetivo determinar a soroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii e* anti-*N. caninum* em cães domiciliados da região metropolitana de São Paulo, atendidos em Hospitais Públicos Veterinários e identificar fatores de risco para as infecções. A detecção de anticorpos foi realizada pela Reação de Imunofluorescência Indireta com ponto de corte de 16 para *T. gondii* e 50 para *N. caninum*. Das 1194 amostras de soro obtidas nos Hospitais de Osasco (zono oeste), Tatuapé (zona leste), Jurubatuba (zona sul) e Casa Verde (zona norte), 125 (10,5%; IC95%: 8,8%-12,3%) foram positivas para *T. gondii* e 9 (0,75%, IC95%: 0,34%-1,4%) para *N. caninum*. Para *T. gondii* diferença estatística foi observada entre as proporções de positivos entre as diferentes zonas (p=0,025) e, especificamente, entre as zonas leste e oeste (p=0,0089) e entre as zonas sul e oeste (p=0,012), com menor proporção de positivos na zona oeste. Maior prevalência foi observada entre os cães de maior idade (p=0,02). Todos os tutores foram convidados a responder um questionário epidemiológico, para a análise dos fatores de risco e 471 (39,4%) aceitaram serem entrevistados. Destes 65 (13,8%) apresentaram anticorpos anti-*T. gondii*. Dentre as variáveis analisadas foram fatores de risco para *T. gondii* faixa etária acima de 8 anos (OR=4,25 [IC95%: 1,25%-14,49%]), não ter acesso à rua (OR=3,76 [IC95%: 1,96%-7,19%]) e não ter raça definida (OR=0,49, [IC95%: 0,25%-0,97%]). Devido ao baixo número de cães positivos a anticorpos anti-*N. caninum*, fatores de risco para este coccídio não foram determinados.

Palavras-chave: protozoários, RIFI, fatores de risco, coccídios

ABSTRACT

Dogs can be infected by the protozoa *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum*, functioning, respectively, as intermediate, and definitive hosts. Toxoplasmosis is a zoonosis, and, in dogs, it is associated with a low rate of morbidity and mortality. Knowledge of the prevalence of infected dogs indirectly reflects what has been happening in the environment where they live, functioning as indicators of environmental contamination. *N. caninum* is one of the major causes of abortion in cattle and dogs play an important epidemiological role as they are the definitive hosts of the parasite. The present study aimed to determine the seroprevalence of anti-*T. gondii* and anti-*N. caninum* antibodies in domiciliated dogs in the metropolitan region of São Paulo, attended at Public Veterinary Hospitals and to identify risk factors for infections. Antibody detection was performed by Indirect Fluorescence Antibody Test with a cutoff of 16 for *T. gondii* and 50 for *N. caninum*. Of the 1194 serum samples obtained at Hospitals in Osasco (west zone), Tatuapé (east zone), Jurubatuba (south zone) and Casa Verde (north zone), 125 (10.5%; 95%CI: 8.8%-12.3%) were positive for *T. gondii* and 9 (0.75%, 95%CI: 0.34%-1.4%) for *N. caninum*. For *T. gondii* statistical difference was observed between the proportions of positives between the different zones (p=0.025) and, specifically, between the east and west zones (p=0.0089) and between the south and west zones (p=0.012), with a lower proportion of positives in the west zone. Higher prevalence was observed among older dogs (p=0.02). All tutors were invited to answer an epidemiological questionnaire for the analysis of risk factors and 471 (39.4%) agreed to be interviewed. Of these, 65 (13.8%) had anti-*T. gondii*. Among the analyzed variables were risk factors for *T. gondii* age group above 8 years (OR=4.25 [CI95%: 1.25%-14.49%]), not having access to the street (OR=3.76 [95%CI: 1.96%-7.19%]) and having no defined race (OR=0.49 [95%CI: 0.25%–0.97%]). Due to the low number of dogs positive for anti-*N. caninum* antibodies, risk factors for this coccidia have not been determined.

Keywords: protozoan, IFAT, risk factors, coccidia

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Localização dos Hospitais Públicos Veterinários participantes do estudo na Grande São Paulo, 2022.....35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Quantidade de amostras de soro de cães obtidas por localidade (zona) dos Hospitais Públicos Veterinários e quantidade de entrevistas realizadas, São Paulo, 2022.....36

Tabela 2. Número de amostras de soro de cães examinadas, positivas, prevalência e intervalo de confiança de 95% (IC 95%) para anticorpos anti-*T. gondii*, por localidade (zona) na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil. 2022.....39

Tabela 3. Quantidade de amostras de soro de cães examinadas, positivas, prevalência e intervalo de confiança de 95% (IC 95%) para anticorpos anti-*T. gondii* por faixa etária. São Paulo, SP, Brasil. 2022.....40

Tabela 4 – Resultados da análise univariada para os possíveis fatores de risco para presença de anticorpos anti-*T. gondii* em cães da grande São Paulo, SP, Brasil, 2022.....42

Tabela 5 – Resultados da análise de regressão logística múltipla de fatores de risco para a presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães domiciliados da grande São Paulo, SP, Brasil, 2022.....43

Tabela 6 - Número de cães positivos a anticorpos anti-*N. caninum* por região de procedência, sexo e idade. Região Metropolitana de São Paulo, 2022.....44

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µL	Microlitro
ABINPET	Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação
ALT	Alanina aminotransferase
ANCLIVEPA	Associação Nacional dos Clínicos Veterinários de Pequenos Animais de São Paulo
AST	Aspartato aminotransferase
CDV	Vírus da cinomose canina
CK	Creatinina quinase
COVID-19	Coronavírus 2019
ELISA	Teste de imunoensaio enzimático indireto
FA	Fosfatase Alcalina
GABA	Ácido γ-aminobutírico
HD	Hospedeiro Definitivo
HI	Hospedeiro Intermediário
IA	Inseminação Artificial
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
LCR	Líquido cérebro-espinhal
MAT	Teste de Aglutinação Modificado
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCR	Reação em Cadeia pela Polimerase
PNS	Pesquisa Nacional de Saúde
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
SP	São Paulo
ZL	Zona Leste
ZN	Zona Norte
ZO	Zona Oeste
ZS	Zona Sul

1. INTRODUÇÃO

1.1. Toxoplasmose

A toxoplasmose é uma zoonose cosmopolita, causada por um coccídio intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii* (filo Apicomplexa, família Sarcocystidae). Os felinos são os únicos hospedeiros definitivos (HD) do *T. gondii,* porém a doença tem epidemiologia complexa, infecta uma ampla variedade de espécies homeotérmicos (aves e mamíferos) que se comportam como hospedeiros intermediários (HI), incluindo os humanos, com um ciclo de vida heteroxeno (DUBEY, 2016).

O ciclo de vida do *T. gondii* abrange três estágios: (a) taquizoítos - que se multiplicam ativamente nos tecidos, espalham-se rapidamente por quase todos os órgãos e causam a maior parte da patologia, quando estes atingem tecidos específicos (sistema nervoso central, músculo e vísceras) eles se convertem em (b) bradizoítos - que permanecem latentes como cisto tecidual levando a uma infecção crônica, podendo permanecer como cistos por toda a vida do hospedeiro. Quando um cisto tecidual é ingerido por um HD (felídeos) os bradizoítos são liberados dos cistos e penetram nas células epiteliais do intestino delgado, onde realizam multiplicação assexuada e sexuada, dando origem aos (c) oocistos. Os oocistos, eliminados juntamente com as fezes, são as formas que constituem o estágio encontrado no meio ambiente, sendo bastante resistentes e, em temperatura e umidade ideal rapidamente esporulam e tornam-se infectantes. Os hospedeiros podem ser infectados pela ingestão de tecidos contendo cistos, pelo consumo de água ou alimentos contaminados com oocistos, por transfusão ou transplante com órgãos parasitados e por infecção congênita, na qual taquizoítos maternos atingem os fetos (DUBEY et al., 1998; DUBEY, 2016; CALERO-BERNAL e GENNARI, 2019).

Toxoplasma gondii foi descoberto acidentalmente há mais de 100 anos, por Splendore em São Paulo (1908), em coelhos de laboratório, e por Nicole e Manceaux, no mesmo ano, na Tunísia, no cérebro de um roedor selvagem de origem africana (*Ctenodactylus gundi*). A toxoplasmose é considerada uma das

doenças causadas por protozoário de maior importância em Saúde Única, protagonizando um problema de saúde pública em todo o mundo (INNES, 2010; AGUIRRE, 2019).

Estima-se que um terço da população mundial esteja infectada por *T. gondii* (INNES, 2010). Nos Estados Unidos 8 a 22% das pessoas estão infectadas e prevalência semelhante foi observada no Reino Unido (DUBEY et al., 2008). No Brasil, até 50% das crianças e 50-80% de mulheres em idade reprodutiva apresentaram anticorpos contra o agente (DUBEY et al., 2012). Em Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, 84% dos indivíduos de baixo nível socioeconômico, 62% dos de nível socioeconômico intermediário e 23% dos de nível socioeconômico mais alto eram positivos a anticorpos anti-*T. gondii,* indicando a importância do meio ambiente e das condições socioeconômicas na infecção por este coccídio (BAHIA-OLIVEIRA et al., 2003). No estado de São Paulo, Passos et al. (2018) constataram prevalência de anticorpos IgG e IgM de 62,3% e 2,5%, respectivamente, na população do município de Cássia dos Coqueiros.

Em humanos, as infecções por *T. gondii* são geralmente assintomáticas estabelecendo uma infecção latente persistente em tecidos como músculo esquelético, músculo cardíaco e sistema nervoso central, incluindo o cérebro, medula espinhal e a retina. No entanto, toxoplasmose pode causar sintomas graves e até óbito, principalmente em infecção congênita, infecção em pacientes pediátricos e em indivíduos imunossuprimidos (KOLOREN e DUBEY, 2020). Pode, assim, apresentar-se de forma aguda ou crônica e ativar a infecção em qualquer idade (DELAIR et.al, 2011). Embora tratável, a infecção congênita, ocular e pós-natal não tem cura e é persistente (PEYRON et al., 2018).

A infecção inicial adquirida por gestantes permite que o parasito atravesse a barreira placentária, os taquizoítos se multiplicam e invadem os tecidos fetais podendo causar infecção aguda ou crônica (McLEOD et al., 2014). A infecção congênita pode ser sistêmica e resultar em morte fetal, parto prematuro, retardo de crescimento intrauterino, pneumonia, hepatomegalia, esplenomegalia, trombocitopenia, coriorretinite, meningoencefalite, hidrocefalia, microcefalia ou calcificações de áreas prévias de necrose. No entanto a maioria dos recém-

nascidos não apresentam sinais clínicos ao nascer, mas podem apresentar um quadro clínico ao longo da vida (PEYRON et al., 2018). Os dados de prevalência sorológica em crianças no Brasil variam com a idade sendo de 32% entre crianças de 0 a 5 anos, 19,5-59% de 6 a 10 anos e 28,4-84,5% com idade entre 11-15 anos (DUBEY et al., 2012).

Aproximadamente um terço dos indivíduos imunossuprimidos pelo vírus HIV com infecção por *T. gondii* desenvolvem encefalite, a toxoplasmose latente ou primária pode ser particularmente perigosa em indivíduos com sistema imunológico comprometido, incluindo corticoideterapia e medicamentos citotóxicos (LYKINS et al., 2016).

A apresentação ocular da toxoplasmose é considerada como uma das principais causas de cegueira em muitas partes do mundo (DUBEY, 2016). O parasit multiplica-se na retina e ocorre inflamação, principalmente na coroide (HOLLAND, 2003). Glasner et al. (1992) avaliaram alterações oculares e sorológicas em pacientes de zona rural do Rio Grande do Sul, Brasil, observando prevalência de toxoplasmose ocular de 0,9% em crianças de 1 a 8 anos; 4,3% em crianças de 9 a 12 anos; 14,3% em crianças de 13 a 16 anos e 21,3% nos indivíduos com 16 anos ou mais. A prevalência de toxoplasmose ocular nesta população foi mais de 30 vezes maior do que as estimativas anteriores para a mesma condição em outras localidades. Também no Brasil, um estudo, realizado com crianças e recém-nascidos, observou que 20 de 58 crianças, presumivelmente expostas ao risco de toxoplasmose durante a gestação, apresentaram lesões oftalmológicas ao longo do primeiro ano de vida (SOARES et al., 2011).

Muitos estudos demonstram suportes consistentes para associar sorologia positiva a *T. gondii* e uma variedade de distúrbios cognitivos e neuropsiquiátricos, incluindo a doença de Alzheimer, transtorno bipolar, epilepsia e transtorno obsessivo-compulsivo (MILNE et al., 2020). Essa associação pode ser explicada, em parte, pela influência do parasito na expressão de vários neurotransmissores. A desregulação da dopamina, que tem recebido a maior atenção das pesquisas, resulta em parte da capacidade do parasito de sintetizar tirosina hidrolase.

Toxoplasma gondii também altera a expressão de uma gama de outros neurotransmissores, incluindo ácido γ-aminobutírico (GABA), glutamato, serotonina e norepinefrina. Esses efeitos podem ser mediados pelo encistamento de bradizoítos em células neurais, microgliais ou neuronais, causando alterações tanto na neurobioquímica do hospedeiro quanto na expressão de receptores e transportadores específicos (MCCONKEY et al., 2013). Segundo Milne et al. (2020), mais pesquisas são necessárias para fortalecer a base de evidências epidemiológicas para essas associações e para melhorar a compreensão dos mecanismos.

A ingestão de oocistos do meio ambiente e o consumo de carne com cistos teciduais do parasito são os dois modos mais descritos de transmissão de *T. gondii*, porém a determinação da fonte de infecção, no momento do diagnóstico, é tecnicamente difícil. O meio ambiente, em muitas áreas do Brasil, é altamente contaminado por oocistos e, portanto, é difícil identificar fontes de infecção. Os mais importantes fatores de risco para a infecção, entre mulheres grávidas, foram menor nível socioeconômico, menor nível de educação, idade avançada, contato com o solo e manejo de gatos (DUBEY et al., 2012).

Em cães a toxoplasmose foi diagnosticada pela primeira vez por Mello (1910), logo após a descoberta de *T. gondii* em um roedor e, desde então, há inúmeros relatos de toxoplasmose clínica em diferentes espécies animais em todo o mundo. Em cães e gatos, a infecção por *T. gondii* está associada a uma baixa taxa de morbidade e mortalidade, porém com consequências clínicas importantes (DUBEY e JONES 2008; CALERO-BERNAL e GENNARI, 2019; KOLOREN e DUBEY, 2020).

No Brasil não há estudos epidemiológicos para avaliar a participação dos cães na transmissão do *T. gondii* para humanos, porém a presença de anticorpos foi amplamente relatada em cães no país (DUBEY et al., 2012) e numerosos estudos mostraram valores de prevalência em cães e gatos, variando de 6 a 88%, em todo o mundo (DUBEY, 2016).

Os valores de soroprevalência em cães no Brasil variam de 3 a 90% (DUBEY et al., 2012). Em Botucatu, município do estado de São Paulo, Langoni

et. al. (2006) observaram 33,1% dos cães examinados soro reagentes para *T. gondii*. Também no estado de São Paulo, no município de Ibiúna, 570 soros de cães foram examinados para a pesquisa de anticorpos contra *T. gondii* e 314 (55,1%) estavam reagentes. Dentre os fatores de risco analisados no estudo a presença de roedores, ingestão de carne crua e atividade sexual anteriormente ao estudo mostraram associação com a presença de anticorpos (MASCOLLI et al., 2015).

No município de São Paulo, a prevalência de anticorpos contra *T. gondii* em 118 cães não domiciliados foi de 35,8% com 42 animais positivos pelo Teste de Aglutinação Modificado (MAT) (DUBEY et al., 2007). No mesmo município utilizando o mesmo teste diagnóstico (MAT) anticorpos anti-*T. gondii* foram encontrados em 19,7% dos cães urbanos examinados, com 219 dos 1110 animais examinados positivos. Do total examinado 610 e 500 eram, respectivamente, ferais e domiciliados e nestes últimos a ocorrência foi de 5,2%, bastante inferior ao valor de ocorrência de 31,6% obtido nos cães errantes (de Souza et al., 2006).

A epidemiologia de como os cães são infectados com *T. gondii* é desconhecida. Contudo, estes servem como indicadores de contaminação ambiental pelo parasito devido à proximidade de convívio com os humanos. Maior prevalência de infecção por *T. gondii* em cães de rua e de ambiente rural do que em animais que vivem em residências e tem pouco contato com as ruas sugere que comer presas infectadas possa ser uma fonte importante de infecção (De SOUZA et.al., 2003).

A maioria das infecções em cães e gatos ocorre horizontalmente, mas a infectividade por via oral depende do estágio do parasito ingerido, o aspecto das infecções congênitas em cães e gatos não foi revisto em profundidade na literatura. Após a primo-infecção, durante a gravidez, a parasitemia pode causar placentite, seguida pela disseminação de taquizoítos para o feto. Pouco se sabe sobre a toxoplasmose transplacentária em cães, embora sua ocorrência seja considerada menos comum do que em outras espécies (DUBEY, 2016). A transmissão venérea foi demonstrada, quando sêmen fresco, coletado de cães infectados experimentalmente por *T. gondii*, foi utilizado para inseminação

artificial (IA) de quatro cadelas livres de infecção. A soro conversão foi observada em todas as fêmeas sete dias após a IA e reabsorção fetal ocorreu em duas das quatro cadelas. As restantes mantiveram gestações a termo e cistos de *T. gondii* foram detectados em cérebros de quatro recém-nascidos (ARANTES et al., 2009).

Os casos clínicos de toxoplasmose são mais frequentes em gatos do que em cães (DUBEY, 2016). Os cães apresentam manifestações clínicas por *T. gondii* desencadeadas por imunossupressão e coinfecção (PEPPER et al., 2019; DUBEY e LINDSAY, 2020). Raramente sofrem de toxoplasmose como doença primária e, na maioria dos casos, a doença está ligada à imunossupressão e falta de imunização contra o vírus da cinomose canina - CDV (CALERO-BERNAL e GENNARI, 2019; DUBEY e LINDSAY, 2020).

Devido ao caráter sistêmico e imprevisível, as manifestações clínicas podem ser encontradas das mais variadas formas: febre, anorexia, emagrecimento, alterações neurológicas, oculares, respiratórias, cutâneas, hepáticas, miocárdicas, reprodutivas, linfáticas e musculares (TARLOW et al., 2005; LEAL e COELHO, 2014; RAIMUNDO et al., 2015; CALERO-BERNAL e GENNARI, 2019).

Os sinais neurológicos descritos em cães devido a toxoplasmose incluem convulsões, déficits de nervos cranianos, tremores, ataxia e paresia ou paralisia na encefalomielite (PATITUCCI et al.,1997). Paraparesia e tetraparesia que progrediram para paralisia do neurônio motor inferior e nódulos na medula espinhal foram descritas em um cão com coinfecção por *Sarcocystis neurona* (GERHOLD et al., 2014). Outros casos relatados de toxoplasmose em cães abrangem: sensibilidade auditiva (PAPINI et al., 2009); miosite, atrofia muscular e rigidez de membros (MIGLIORI et al., 2017) e manifestações oculares: conjuntivite necrotizante, uveíte anterior, endoftalmite e coriorretinite (SWINGER et al., 2009). Recentemente, DORSCH et al. (2021) descreveram miocardite súbita em um cão da raça boxer causada por *T. gondii*.

As manifestações respiratórias e cutâneas geralmente estão associadas à imunossupressão com uso de terapia com corticoide, imunossupressores e transplante (WEBB et al., 2005; PEPPER et al., 2019). As lesões são

caracterizadas por nódulos epidérmicos eritematosos, dermatite piogranulomatosa e necrosante e paniculite, com vasculite multifocal e trombose vascular e muitas vezes apresentam cistos do protozoário no exame histopatológico (WEBB et al., 2005; PENA et al., 2014).

O diagnóstico da toxoplasmose pode ser realizado por meio de exames sorológicos, biologia molecular, biópsia tecidual e avaliação imuno-histoquímica (GERHOLD et al., 2014; LEAL e COELHO, 2014; COELHO et al., 2019). Os principais testes sorológicos são teste de imunoensaio enzimático indireto (ELISA) e reação de imunofluorescência indireta (RIFI), avaliando os títulos de IgM e IgG para determinar a fase da doença, respectivamente aguda e crônica (LEAL e COELHO, 2014; RAIMUNDO et al., 2015). A biologia molecular, através da reação em cadeia da polimerase (PCR), é a maneira direta de identificar o DNA do parasito nas mais diversas amostras: sangue, tecidos, lavado bronco alveolar, humor aquoso e líquido cérebro-espinhal (COELHO et al., 2019). O encontro de oocistos nas fezes não fecha o diagnóstico, uma vez que *Hammondia hammondi,* outro protozoário que infecta os gatos, possuem oocistos similares aos de *T. gondii*, entretanto biologicamente e molecularmente distintos (DUBEY e SREEKUMAR, 2003).

O tratamento de eleição da toxoplasmose canina é a clindamicina (dose, variável de 10-25 mg/kg/2-3 vezes por dia) em média durante 28 dias (LEAL e COELHO, 2014).

Neospora caninum e T. gondii são coccídios morfologicamente semelhantes, mas biologicamente diferentes. Ambos os parasitas têm uma ampla gama de hospedeiros, mas ao contrário de *T. gondii, N. caninum* não tem potencial zoonótico (CERQUEIRA-CESAR et al., 2017).

1.2. Neosporose

Neospora caninum é um protozoário intracelular obrigatório, formador de cistos, do filo Apicomplexa, causador da neosporose. Este coccídio acomete animais domésticos e silvestres, tendo especial importância nas espécies canina e bovina.

Em 1984, na Noruega, cães foram diagnosticados com uma doença neurológica, semelhante a toxoplasmose, taquizoítos foram encontrados no cérebro e músculos, porém não foi detectada a presença de anticorpos anti-*T. gondii* (BJERKAS et al., 1984). Alguns anos mais tarde, nos Estados Unidos, verificou-se que esse agente causava, em cães, uma forma clínica mais severa que a toxoplasmose e constatação de diferenças estruturais e histopatológicas entre ambos (DUBEY e LINDSAY, 1993). Cultivo *in vitro* de *N. caninum* tornou possível o desenvolvimento de testes diagnósticos e possibilitou a infecção experimental em várias espécies animais (DUBEY et al., 2017). No Brasil, o primeiro caso foi descrito em 1999 através de levantamentos sorológicos de cães e bovinos (revisado por GENNARI, 2004).

Neospora caninum possui como HD algumas espécies de canídeos domésticos e selvagens, como os coiotes e lobos cinzentos e vários animais de sangue quente como HI (CERQUEIRA-CESAR et al., 2017). O coccídio tem um ciclo biológico heteróxeno consistindo em dois modos distintos de reprodução, assexuada e sexuada, que ocorrem, respectivamente nos HI e HD (DUBEY, 2003).

O ciclo de vida é caracterizado por três estágios infecciosos: taquizoítos, cistos teciduais e oocistos. Os taquizoítos e cistos teciduais são os estágios encontrados nos HI e ocorrem intracelularmente. Os cistos teciduais costumam ter formato redondo ou oval e são encontrados, principalmente, no SNC. Os taquizoítos podem estar presentes em várias células como hepatócitos, renais, macrófagos, fibroblastos, células do endotélio, miócitos e células nervosas (DUBEY et al., 1988).

O ciclo enteroepitelial do *N. caninum* ocorre no intestino dos HD e ainda não foi completamente elucidado. Os oocistos excretados pelos HD, que são a forma de resistência no ambiente, irão esporular no meio externo entre 24 e 72 horas, dependendo de condições de temperatura, oxigenação e umidade. Cães eliminam os oocistos ao redor do quinto dia após ingestão de tecidos de animais naturalmente ou experimentalmente infectados (GONDIM et al., 2002). Os oocistos de *N. caninum* são morfologicamente similares aos de *Hammondia*

heydorni, os quais também são encontrados nas fezes dos cães, para diferenciar os dois agentes é possível a realização de cultura em células ou análises moleculares como a PCR, podendo posteriormente ser feito o sequenciamento (DUBEY e LINDSAY, 2000).

Como os cães são infectados pelo *N. caninum* na natureza, não é totalmente compreendido. A transmissão fecal de *N. caninum* em cães parece ser menos importante do que o carnivorismo (CERQUEIRA-CESAR et al., 2017). Os taquizoítas são importantes na transmissão transplacentária da infecção por *N. caninum*. Cavalcante et al. (2012) confirmaram transmissão transplacentária de *N. caninum* em cães, inoculando, em diferentes fases de gestação, taquizoítos em seis cadelas.

Inúmeros estudos de soroprevalência de *N. caninum* em cães no Brasil, utilizando a RIFI como técnica diagnóstica, foram revisados por Cerqueira-Cesar et al. (2017) e observaram que a ocorrência varia de 2,6% a 67,6%, dependendo da região brasileira e da amostragem utilizada. Gennari et al. (2006) observaram soroprevalência de 17,6% em cães da área urbana de Araçatuba, município de São Paulo, já na capital os valores foram de 10% em cães domiciliados e de 25% em cães errantes (GENNARI et al., 2002). Em 570 cães de Ibiúna, São Paulo, 40 (7,02%) foram positivos a anticorpos anti-*N. caninum* e dentre as variáveis examinadas somente ter realizado atividade sexual apresentou associação com a presença de cães positivos (MASCOLLI et al., 2015).

Em revisão sobre neosporose em cães no Brasil, os fatores de risco encontrados foram: idade, com cães mais velhos mais infectados pelo parasito, acesso a rua, acesso ao ar livre, contato com bovinos, acesso e ingestão de membranas fetais, carcaças e presas (CERQUEIRA-CESAR et al., 2017). *Leishmania infantum chagasi* é um importante parasito de cães no Brasil e, imunossupressão, causada por *Leishmania* spp., pode aumentar a suscetibilidade dos cães à infecção por *N. caninum* (GENNARI et al., 2006). Toxoplasmose, cinomose e erlichiose já foram relatadas com co-infecção adjunta a neosporose e têm sido associada sua ocorrência à terapia imunossupressora, incluindo administração de esteroides ou quimioterápicos (POSTMA et al., 2019).

A neosporose clínica é ocasionalmente observada em cachorros imunologicamente comprometidos. As manifestações neurológicas e musculares são as mais comuns. Os casos mais graves de neosporose ocorrem em filhotes com infecção congênita. Cães jovens desenvolvem paresia dos membros posteriores que se transforma em paralisia progressiva. Os sinais neurológicos dependem do local parasitado. Os membros posteriores são mais gravemente afetados do que os anteriores e, frequentemente, observados em hiperextensão rígida. Outras disfunções que ocorrem incluem dificuldade em engolir, paralisia da mandíbula, flacidez muscular, atrofia muscular e até insuficiência cardíaca. Cães com paralisia dos membros posteriores podem ficar alertas e sobreviver por meses. A doença pode ser localizada ou generalizada e todos os órgãos podem estar envolvidos, incluindo a pele. A dermatite pode ser grave envolvendo um grande número de parasitos e já foi observada em cães de diferentes idades. Neosporose fatal foi relatada em cães de 8 a 15 anos de idade. Cadelas com infecção subclínica podem transmitir o parasito a seus fetos e sucessivas ninhadas da mesma cadela podem nascer infectadas. Não se sabe se há predisposição racial e suscetibilidade sexual diferencial à neosporose em cães. A maioria dos casos descritos foi em Labrador retrievers, Boxers, Greyhounds, Golden retrievers e Basset hounds (DUBEY, 2003).

Os achados hematológicos e bioquímicos têm sido variáveis, dependendo do sistema envolvido. Com doenças musculares, as atividades da creatina quinase (CK) e da aspartato aminotransferase (AST) aumentam. As atividades séricas de alanina transferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA) estão aumentadas em cães que desenvolvem hepatopatias. As anormalidades do líquido cérebro-espinhal (LCR) incluíram aumentos leves nas concentrações de proteínas (>20, mas <150 mg/dL) e células nucleadas (>10, mas <100 células/dL). As contagens diferenciais de leucócitos incluíram linfócitos, monócitos e macrófagos, neutrófilos e eosinófilos em números decrescentes. Os resultados podem estar dentro dos limites de referência em alguns cães (DUBEY e SCHARES, 2011).

O método de diagnóstico sorológico mais utilizados é a RIFI e métodos moleculares, como a PCR, também são bastante utilizados por distinguir *N.*

caninum de *H. heydorni* (DUBEY e LINDSAY, 2000; DUBEY, 2003; CERQUEIRA-CESAR et al., 2017).

O tratamento da neosporose geralmente é difícil e temporário, parcial ou totalmente ineficaz. Podem ser necessários longos períodos (> 8 semanas) de tratamento. Cães com sinais neurológicos tem mau prognóstico e precisam de tratamentos longos. O tratamento é mais eficaz nas fases iniciais, antes que ocorra a contratura muscular. A clindamicina é o principal medicamento usado para tratar a neosporose canina, possui atividade antiprotozoária adicional. A combinação de clindamicina e sulfonamida tem se mostrado mais eficaz contra a neosporose. Além disso, a ação sinérgica das sulfonamidas e da pirimetamina aumenta os efeitos antiprotozoários. Os protocolos mais usados incluem clindamicina 7,5–15 mg/kg por via oral por 4 a 8 semanas (SILVA e MACHADO, 2016).

1.3. Hospitais Públicos Veterinários

Em 2012, foi inaugurado, no município de São Paulo (SP), no bairro do Tatuapé, (zona leste), o primeiro Hospital Público Veterinário do país, integralmente financiado pela Prefeitura do Município e administrado pela Associação Nacional dos Clínicos Veterinários de Pequenos Animais de São Paulo (ANCLIVEPA-SP), sociedade civil sem fins lucrativos. Popularmente chamado de “PubliCão”, o hospital realizou entre julho de 2012 e março de 2013 quase 146 mil procedimentos. Já em 2014, a proposta foi ampliada com a inauguração de um segundo hospital, no Tucuruvi, zona norte da capital e, em 2019 surgiram mais três hospitais, localizados em Jurubatuba, zona sul paulistana e nos municípios de Osasco (zona oeste) e Mogi das Cruzes (zona leste) estando estes dois municípios localizados na região metropolitana de São Paulo. Atualmente o complexo de Hospitais Veterinários Públicos ainda possuem Unidades em Taubaté (SP) e expandiu-se para outros estados, com clínicas em Fortaleza (CE), Porto Alegre (RS) e no Distrito Federal, em Brasília (ANCLIVEPA-SP, 2022).

1.4. Cães domésticos (*Canis lupus familiaris*)

A origem tanto geográfica como temporal (14.000 a 64.000 anos atrás) dos cães domesticados é controversa. As pesquisas com genômica apontam duas origens distintas da domesticação destes animais, uma na Europa e outra na Ásia, sugerindo que estes podem ter sido domesticados de forma independente na Eurásia oriental e ocidental a partir de diferentes populações de lobos, assim como ocorreu com os humanos (FRANTZ et al., 2016). Decorrente, estabeleceu-se o cruzamento das raças, devido à aproximação das populações pelo comércio entre povos. O certo é que a história aponta que estes animais se aproximaram do homem em busca de uma forma mais fácil em conseguir alimento e que os homens, por sua vez, os adotaram como animais para proteção e companhia na caça (DOTSON e HYATT, 2008).

Hoje, os cães estão presentes na vida dos homens como guarda de propriedades, pastores de rebanhos, animais de tração, rastreadores de drogas, de fugitivos, de pessoas desaparecidas, como cão-guias e de apoio emocional entre outras funções extraordinárias. Além destas, boa parte dos cães desempenha o papel de companhia, em que está cientificamente comprovado que esta parceria traz melhoras na saúde e no bem-estar geral dos humanos (SERPELL, 1991). A isso se pode acrescentar que, o número de pessoas que vivem sozinhas, principalmente nas grandes cidades, aumentou nas últimas décadas, contribuindo para a introdução dos cães como animais de companhia amenizando a solidão (DOTSON e HYATT, 2008).

Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação (ABINPET), o Brasil é o país com a segunda maior população desses animais, são 132,4 milhões, perdendo apenas para os EUA. Ao mesmo tempo, os números do abandono também aumentam, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), atualmente estimam-se que exista mais de 30 milhões de animais abandonados no Brasil. De acordo com dados do IBGE na Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) de 2019, 46,1% dos domicílios brasileiros tem, pelo menos, um cão, contabilizando cerca de 54,2 milhões de cães domiciliados, sendo cerca de 13 milhões no estado de São Paulo (ABINPET, 2021).

Pouco se sabe sobre infecções por *T. gondii* e *N. caninum* em cães no estado de São Paulo e não há estudos com animais domiciliados e de todas as regiões da cidade, tampouco há informações sobre fatores de risco em cães na região metropolitana de São Paulo.

A exposição de cães domésticos a esses agentes infecciosos e seu contato próximo com humanos aumenta sua importância na manutenção desses ciclos de doenças. Quando os cães têm livre acesso às ruas, eles podem alimentar-se de hospedeiros infectados (principalmente pequenos mamíferos) ou se infectar com oocistos do parasito que foram eliminados pelas fezes de gatos e de cães. O aumento da soroprevalência de *T. gondii* foi observado em cães de rua e de ambientes rurais quando comparados com cães confinados, sugerindo que cães soltos podem ter um importante papel na epidemiologia da doença nos humanos (de SOUZA et al., 2003), entretanto os cães domiciliados tem, cada vez mais, sido acompanhados de forma muito próxima por seus tutores, funcionando como mais um membro da família.

Nesse contexto, cães infectados com patógenos transmissíveis podem indicar a presença desses agentes infecciosos no ambiente, podendo também representar um risco para todas as populações envolvidas e servem como marcadores de contaminação ambiental (SEVÁ et al., 2020).

2. JUSTIFICATIVA

Atualmente, pouco se sabe sobre infecções e fatores de risco para infecção por *T. gondii* e *N. caninum* em cães urbanos no estado de São Paulo. Os cães são o principal animal de companhia no Brasil e podem desempenhar um papel importante na cadeia epidemiológica da toxoplasmose e da neosporose, além de poderem funcionar como indicadores de contaminação ambiental.

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

Contribuir para o conhecimento epidemiológico da infecção pelo *T. gondii* e *N. caninum* em cães domiciliados da área metropolitana da cidade de São Paulo, SP.

3.2. Específico

Determinar a soroprevalência de infecções por *T. gondii e N. caninum* em cães domiciliados da região metropolitana de São Paulo, atendidos nos Hospitais Públicos Veterinários e identificar os fatores de risco associados às infecções por estes parasitos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Aspectos éticos

O Projeto foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) e à Comissão de Pesquisa da Universidade Santo Amaro (UNISA), sobre o número de protocolo 61/2021. Também foi submetido à Plataforma Brasil, para que os questionários epidemiológicos pudessem ser realizados com os tutores e aprovado sob parecer consubstanciado do Comitê de Ética e Pesquisa com Seres Humanos (Protocolo 5.121.391).

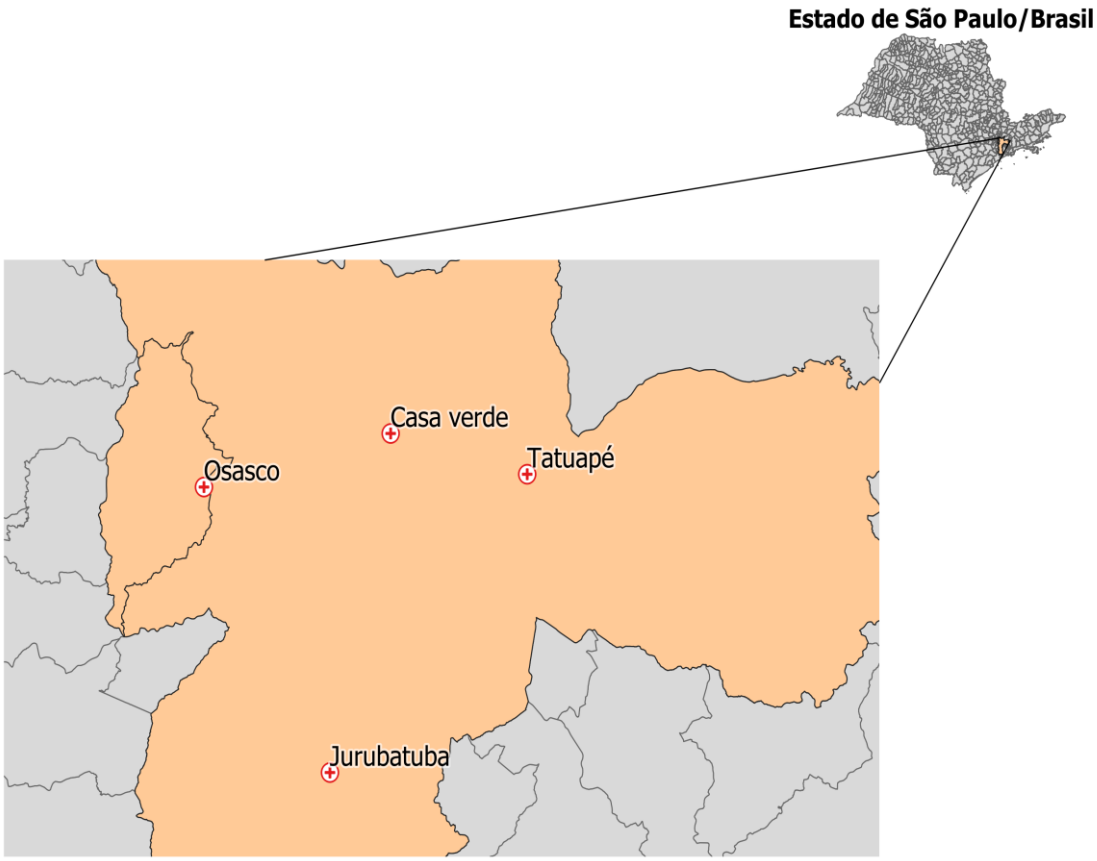
4.2. Origem das amostras

A amostragem utilizada foi de conveniência, obtida de agosto de 2021 a julho de 2022, provenientes de cães atendidos nos Hospitais Públicos Veterinários dos municípios de São Paulo e de Osasco (SP), grande São Paulo, independente da suspeita e sintomatologia clínica.

As amostras de soro que seriam descartadas pelo Laboratório de Patologia Clínica, conveniado com os Hospitais, foram doadas e utilizadas neste estudo. As amostras eram provenientes de quatro Hospitais Públicos Veterinários, sendo três deles localizados na cidade de São Paulo, SP, nos bairros de Tatuapé (ZL - Zona Leste), Casa Verde (ZN - Zona Norte) e Jurubatuba (ZS - Zona Sul) e um Hospital localizado no município de Osasco, que faz divisa com a Zona Oeste (ZO) da capital **(Figura 1)**.

Quando da obtenção das amostras as fichas com dados sobre o animal (nome, raça, sexo, idade) e do tutor (nome e endereço) eram também disponibilizadas.

Figura 1. Localização dos Hospitais Públicos Veterinários participantes do estudo na Grande São Paulo, 2022.



Os tutores de todos os animais do estudo foram contactados e convidados a participar do estudo respondendo a um questionário epidemiológico com questões relacionadas a *T. gondii* e *N. caninum*.

A **Tabela 1** apresenta o número de amostras obtidas de cada hospital e a quantidade de tutores que aceitaram responder ao questionário e participar das entrevistas.

Tabela 1 – Quantidade de amostras de soro de cães obtidas por localidade (zona) dos Hospitais Públicos Veterinários e quantidade de entrevistas realizadas, São Paulo, 2022.

Local	Zona	No. Amostras (%)	Entrevistas (%)
Tatuapé	Leste	364 (30,5)	167 (45,9)
Casa Verde	Norte	214 (17,9)	75 (35,0)
Jurubatuba	Sul	250 (20,9)	121 (48,4)
Osasco	Oeste	366 (30,7)	108 (29,5)
Total		**1194 (100,0)**	**471 (39,5)**

A distribuição entre sexos dos animais apresenta-se uniforme, num total de 544 (45,6%) machos e 650 (54,4%) fêmeas. Os cães sem raça definida participaram como a maior porcentagem de amostragem com 906 (75,9%) animais e o restante (n=288; 24,1%) formado por cães de diferentes raças. O cão mais jovem da amostragem tinha quatro meses e o de maior idade 20 anos.

4.3. Detecção de anticorpos anti-*T. gondii*

As amostras de sangue, recebidas em tubo bioquímico, identificadas por número de protocolo do animal e local de coleta, foram centrifugadas a 3900 rpm por 15 minutos e o soro obtido foi acondicionado em microtubos de polipropileno, novamente identificadas e conservadas a -20ºC até o processamento.

As amostras foram processadas no Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

A RIFI foi utilizada para a pesquisa de anticorpos anti-*T. gondii* e como antígeno foram utilizados taquizoítos da cepa RH de *T. gondii* na concentração 1 x 10^7 taq/mL.

Os exames foram realizados como descrito por Camargo (1964). Os soros foram diluídos em solução salina tamponada com fosfato 0,1 M, pH 7,2 (PBS) na diluição de 1:16 (ponto de corte). Em seguida, 30µL do soro diluído foram depositados nos respectivos poços das lâminas sensibilizadas com o antígeno de

T. gondii. As lâminas foram incubadas em câmara úmida por 30 minutos em estufa a 37°C. Procedeu-se três lavagens das lâminas, de 10 minutos cada, com a solução tampão. Após a secagem da lâmina, foram adicionados nos poços 30µL de uma solução contendo conjugado anti-IgG cão (Sigma Aldrich®) e azul de Evan, previamente padronizado na diluição 1:400 em PBS pH 7,2. As lâminas foram novamente incubadas em câmara úmida, submetidas a três lavagens como descrito anteriormente. Em seguida, com as lâminas já secas, foi adicionada glicerina tamponada (pH 8,0) para a realização da leitura.

Foram considerados positivas as amostras que apresentaram fluorescência em toda a superfície dos taquizoítos. Amostras que não apresentaram fluorescência, reação apical ou parcial, foram consideradas negativas. Soros controles positivo e negativo foram utilizados em todas as lâminas. As amostras positivas foram tituladas de maneira seriada, na base dois, até a máxima diluição reagente. O ponto de coorte utilizado foi 16.

4.4. Detecção de anticorpos anti-*N. caninum*

Os soros dos cães foram analisados utilizando a RIFI, para a detecção de anticorpos anti-*N. caninum*, com ponto de corte de 50 conforme descrito por Dubey et al. (1988). Os soros foram diluídos a 1:50 em tampão fosfato pH 7,2 (0,0084M Na2HPO4, 0,0018M NaH2PO4 e 0,147M 41 NaCl) acrescentado de soro albumina bovina 1%, sendo em seguida distribuídos 30 µL por orifício em lâminas contendo o antígeno específico fixado. Após 30 minutos de incubação em estufa a 37ºC, as lâminas foram lavadas com solução tampão carbonatada pH 9,0 (0,108M Na2CO3, 0,4M NaHCO3 e 0,145M NaCl) por três vezes por 5 minutos cada e, em seguida, incubadas com conjugado IgG de coelho anti-IgG canino (Sigma Aldrich®) marcado com isotiocianato de fluoresceína. As lâminas foram novamente incubadas por 30 minutos a 37ºC e lavadas como descrito anteriormente. Após a secagem, foi realizada a montagem com lamínula utilizando glicerina tamponada pH 8,0. A leitura das lâminas foi realizada em microscópio epifluorescente (OLYMPUS BX-FLA, Japão) e foram considerados positivos os soros capazes de determinar fluorescência em todo contorno do antígeno. As amostras positivas foram diluídas

na razão dois, para obtenção do título final. Em cada série foram incluídos soros controles positivo e negativo.

4.5. Aplicação de Questionário Epidemiológico

As fichas dos animais experimentais foram disponibilizadas através do acesso ao sistema de software VETUS®, onde encontram-se as informações dos animais (sexo, idade, raça) e de seus tutores (nome, endereço e telefone).

Depois do recebimento das amostras foi realizado contato telefônico (celular) e/ou mensagem de texto, a todos os tutores dos cães participantes do estudo, independentemente dos resultados obtidos. Destes, 471 tutores responderam ao questionário (**Tabela1**). O **anexo 1** apresenta a ficha utilizada com as questões feitas durante as entrevistas com os tutores, bem o termo de assentimento e consentimento.

4.6. Análise Estatística

Foram calculados os intervalos de confiança para as proporções de positivos por zona, por faixa etária e no total, utilizando a distribuição binomial exata. Foi feita uma comparação entre as proporções de positivos utilizando o teste de χ^2. Nessas análises, foram utilizados os dados referentes a todos os animais. O nível de significância adotado nas comparações foi de 5%.

Para o estudo de fatores de risco, foram utilizados os dados das entrevistas. As variáveis analisadas foram: sexo, faixa etária (abaixo de 1 ano, entre 1 e 8 anos, acima de 8 anos), raça (com raça ou sem raça definida), zona (Oeste, Sul, Leste e Norte), acesso à rua (sim ou não), contato com outras espécies animais (sem contato ou contato com cão, gato ou outros animais) e alimentação (ração, comida caseira ou mista). Foi feita uma análise exploratória dos dados (análise univariada) para seleção daquelas que fariam parte do modelo de regressão logística, utilizando o teste de χ^2 ou exato de Fisher, com critério de seleção de $p \leq 0{,}20$.

As análises estatísticas foram feitas utilizando a linguagem R versão 4.2.2 (R Core Team, 2022) e o programa JASP versão 0.16.2 (JASP Team, 2022).

5. RESULTADOS

5.1. *Toxoplasma gondii*

5.1.1. Prevalência de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*

Das 1194 amostras de soro analisadas 125 (10,4%) foram positivas para a presença de anticorpos anti-*T. gondii*. Os títulos de anticorpos IgG dos cães experimentais foram: 16 (n=0), 32 (n=51), 64 (n=26), 128 (n=25), 256 (n=10) e ≥ 512 (n=13).

Os resultados da prevalência por localidade de origem dos cães encontram-se na **Tabela 2.**

Tabela 2. Número de amostras de soro de cães examinadas, positivas, prevalência e intervalo de confiança de 95% (IC 95%) para anticorpos anti-*T. gondii*, por localidade (zona) na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil. 2022.

Zona	No. amostras (%)	No. Positivas	Prevalência (IC 95%)
Leste	364 (30,5)	47	12,9 (9,6% - 16,8%) [a]
Norte	214 (17,9)	19	8,9 (5,4% - 13,5%) [a,b]
Sul	250 (20,9)	33	13,2 (9,3% - 18,0%) [a]
Oeste	366 (30,7)	26	7,1 (4,7% - 10,2%) [b]
TOTAL	**1194 (100,0)**	**125**	**10,5 (8,8% - 12,3%)**

Letras similares na mesma coluna p>0.05

Foi observada diferença estatística entre as proporções de positivos entre as diferentes zonas (p=0,025) e, especificamente, entre as zonas leste e oeste (p=0,0089) e entre as zonas sul e oeste (p=0,012). Não foram observadas diferenças entre as proporções de positivos entre as zonas oeste e norte (p=0,44), sul e leste (p=0,92), sul e norte (p=0,14) e leste e norte (p=0,14).

A **Tabela 3** apresenta os resultados de prevalência por faixa etária dos cães do estudo.

Tabela 3. Quantidade de amostras de soro de cães examinadas, positivas, prevalência e intervalo de confiança de 95% (IC 95%) para anticorpos anti-*T. gondii* por faixa etária. São Paulo, SP, Brasil. 2022.

Faixa Etária (anos)	Total de Amostras (%)	No. Positivos	Prevalência % (IC 95%)
<1	144 (12,1)	10	6,9% (3,4% - 12,4%)
1 a 8	433 (36,2)	36	8,3% (5,9% - 11,3%)
>8	617 (51,7)	79	12,8% (10,3% - 15,7%)
TOTAL	**1194 (100,0)**	**125**	**10,5 (8,8% - 12,3%)**

Foi observada uma associação estatística entre faixa etária e proporção de positivos (p=0,02), com a prevalência aumentando com a faixa etária dos animais.

Dentre as raças com cães positivos as que apresentaram maior número de reagentes foram os cães Poodle e Shih-tzu, seguido dos Labradores, Pinschers e Rotweillers. Os 288 (24,1%) cães com raça definida representaram 30,4% do total de animais positivos. Do total de 544 machos e 650 fêmeas do estudo, 63 (11,6%) e 62 (9,5%), respectivamente, apresentaram anticorpos anti-*T. gondii*.

Os títulos de anticorpos IgG dos cães foram: 16 (n=0), 32 (n=51), 64 (n=26), 128 (n=25), 256 (n=10) e $\geq$ 512 (n=13).

5.1.2. Questionários e Fatores de Risco

Dos 1194 tutores dos cães deste estudo 471 (39,4%) aceitaram responder ao questionário e destes 65 (13,8%) foram positivos para anticorpos anti-*T. gondii.* Os dados das entrevistas foram utilizados para avaliação dos fatores de risco para infecção por *T. gondii.*

Os resultados da análise univariada estão apresentados na **Tabela 4.** Nessa análise, as variáveis selecionadas foram: faixa etária (p=0,006), raça (p=0,02), acesso à rua (p<0,001) e alimentação (p=0,07). Para a faixa etária, foram observados 5,8% (3/52) de positivos abaixo de 1 ano, 9,6% (17/177) de positivos entre 1 e 8 anos e 18,6% (45/242) de positivos acima de 8 anos. Para a variável raça, 8,3% (12/145) dos cães de raça foram positivos, enquanto 16,3% (53/326) dos

cães sem raça definida reagiram a anticorpos anti-*T. gondii*. Dos cães com e sem acesso à rua, 6,4% (13/202) e 19,3% (52/269), respectivamente, foram positivos. Em relação a alimentação foram reagentes 16,5% (48/291) dos cães que comiam ração, 10,6% (14/132) dos cães com dieta mista e 6,2% (3/48) dos cães que comiam comida caseira.

Tabela 4 – Resultados da análise univariada para os possíveis fatores de risco para presença de anticorpos anti-*T. gondii* em cães da grande São Paulo, SP, Brasil, 2022.

Variável e categorias	Negativo	Positivo (%)	Total	χ^2	p
Sexo				0,59	0,44
Fêmea	233	34 (12,7)	267		
Macho	173	31 (15,2)	204		
Faixa etária (anos)				10,1	**0,006***
< 1	49	3 (5,8)	52		
1 a 8	160	17 (9,6)	177		
>8	197	45 (18,6)	242		
Raça				5,4	**0,02***
Sem raça definida	273	53 (16,2)	326		
Com raça	133	12 (8,3)	145		
Zona				2,6	0,45
Oeste	89	19 (17,6)	108		
Sul	104	17 (14,0)	121		
Leste	145	22 (13,2)	167		
Norte	68	7 (9,33)	75		
Contato com animais				1,8	0,61
Não	288	50 (14,8)	338		
Cão	70	7 (9,1)	77		
Gato	38	6 (13,6)	44		
Outros	10	2 (16,7)	12		
Acesso à rua				16,1	**<0,001***
Sim	189	13 (6,4)	202		
Não	217	52 (19,3)	269		
Alimentação				5,2	**0,07***
Ração	243	48 (16,5)	291		
Mista	118	14 (10,6)	132		
Caseira	45	3 (6,2)	48		

*Selecionados para a análise multivariada

Os resultados da análise de regressão logística múltipla estão mostrados na **Tabela 5.**

Tabela 5 – Resultados da análise de regressão logística múltipla de fatores de risco para a presença de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em cães domiciliados da grande São Paulo, SP, Brasil, 2022.

Variável	Categoria	Odds ratio (OR)	IC95% OR	p
Faixa etária				
	< 1ano*			
	1 a 8 anos	1,93	[0,54 – 6,98]	0,31
	> 8 anos	4,25	[1,25 – 14,49]	0,02
Acesso à rua				
	Sim*			
	Não	3,76	[1,96 – 7,19]	<0,001
Raça				
	Sem raça definida			
	Com raça	0,49	[0,25 - 0,97]	0,04

*Categoria de referência

O modelo final de regressão logística para prevalência de anticorpos anti-*T. gondii* indicou faixa etária acima de 8 anos (OR=4,25 [IC95%: 1,25 -14,49]) e não ter acesso à rua (OR=3,76 [IC95%: 1,96 – 7,19]) como fatores de risco. Animais com raça definida apresentam uma chance menor de serem positivos para anticorpos anti-*T. gondii* em relação a animais sem raça definida (OR=0,49, [IC95%: 0,25 – 0,97]).

5.2. Neospora caninum

5.2.1 Prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum*

Das 1194 amostras de soro analisadas 9 (0,75%, IC95%: 0,34%-1,4%) foram positivas para anticorpos anti-*N. caninum*, com títulos de anticorpos IgG de 50 (n=1), 100 (n=1), 200 (n=4), 400 (n=2) e 800 (n=1).

A zona de procedência, o sexo, a faixa etária e ter ou não raça definida dos animais positivos a anticorpos anti-*N. caninum* estão apresentados na **Tabela 6**.

Tabela 6 - Número de cães positivos a anticorpos anti-*N. caninum* por região de procedência, sexo e idade. Região Metropolitana de São Paulo, 2022.

Variaveis	Total	Positivo	% (IC95%)
Zona			
Leste	364	5	1,4 (0,4%-3,2%)
Norte	214	1	0,5 (0,01%-2,6%)
Sul	250	1	0,4 (0,01%-2,2%)
Oeste	366	2	0,5 (0,07%-1,9%)
Sexo			
Fêmea	650	3	0,5 (0,1%-1,3%)
Macho	544	6	1,1 (0,4%-2,4%)
Faixa Etária (anos)			
<1	144	0	0,0 (0,0%-2,5%)
1 a 8	433	2	0,5 (0,06%-1,7%)
>8	617	7	1,1 (0,5%-2,3%)
Raça Definida			
Sim	288	3	1,0 (0,2%-3,0%)
Não	906	6	0,7 (0,2%-1,4%)
TOTAL	**1194**	**9**	**0,75 (0,34%-1,4%)**

Todos os cães positivos para anticorpos anti-*N. caninum* estavam negativos para *T. gondii*.

6.DISCUSSÃO

6.1 *Toxoplasma gondii*

No presente estudo, a prevalência de cães positivos foi de 10,5% (IC95%: 8,8 - 12,3) com 125 dos 1194 animais examinados reagentes a anticorpos anti-*T. gondii,* indicando que cães domiciliados da região metropolitana de São Paulo estão expostos a infecção por este coccídio. Este resultado foi inferior aos encontrados por Meirelles et al. (2004) e por Dubey et al. (2007) com cães não domiciliados da mesma cidade, com ocorrência de 50,5% (101 de 200) e 35,8% (42 de 118), respectivamente. Vale lembrar que estas comparações devem ser feitas com cuidado uma vez que os métodos diagnósticos não foram semelhantes.

Numa revisão sobre *T. gondii* em cães no mundo todo, Dubey et al. (2020) relatam valores de ocorrência nos estudos realizados entre 2009 e 2020 de 1,9% a 97%. Nessa mesma revisão os valores encontrados em estudos brasileiros, variaram de 6,7% a 88,5%. Os autores comentam que apesar de vários serem os estudos no Brasil, aqueles com mais de 300 cães são poucos e nesses valores altos de ocorrência foram observados e a comparação entre os valores encontrados nos estudos pode ser feita com uma boa segurança, uma vez que em grande parte desses estudos foi utilizada a mesma prova diagnóstica (RIFI) e o mesmo ponto de corte (1:16).

No Estado de São Paulo levantamentos soroepidemiológicos nos últimos 20 anos, realizados com cães utilizaram amostragens bastante distintas no tocante ao número de cães amostrados, apresentar ou não problemas neurológicos, viver em ambiente rural ou urbano, coleta em campanhas de vacinação, entre outras diferentes características. Nesses estudos a ocorrência de anticorpos IgG anti-*T. gondii* variou de 5,1% a 50% (da SILVA et al., 2010; AGUIAR et al., 2012, LANGONI et al., 2012; LANGONI et al., 2013; PAULAN et al., 2013; ZANETTE et al., 2014; de SEABRA et al., 2015; OLBERA et al., 2015; SEVÁ et al., 2020) e, em vários deles, fatores de risco também foram avaliados.

No município de São Paulo, um estudo realizado com cães domiciliados e ferais encontrou valores de 5,2% (26 de 500) e 31,6% (193 de 610),

respectivamente (de SOUZA et al., 2006), valor inferior ao observado no presente estudo com cães domiciliados. A baixa prevalência encontrada nos cães domiciliados, mesmo naqueles que frequentam as ruas com seus tutores é um resultado de interesse pois indica que poucos são os cães que tem contato com oocistos de *T. gondii* no ambiente ou com cistos em carnes infectadas.

Um estudo recente, realizado na região metropolitana do Rio de Janeiro (ARRUDA et al., 2021), também avaliando cães domiciliados de diferentes zonas da cidade, encontraram prevalência de 34% (136/400), superior à observada na região metropolitana de São Paulo.

Em relação a zona de obtenção das amostras, a análise realizada com todos os animais amostrados (n=1194) mostrou diferença estatística com maiores prevalências obtidas nas ZL e ZS, respectivamente, 12,9% (IC 9,6%-16,8%) e 13,2% (IC 9,3%-18,0%) e menor prevalência na ZO com valor de 7,1% (IC 4,7%-10,2%). Os valores obtidos para a ZN (8,9%; IC 5,4%-13,5%) foram semelhantes aos da ZL, ZS e aos da ZO. Os achados indicam que *T. gondii* está distribuído por toda a região estudada, resultado semelhante aos de Arruda et al. (2021), na região metropolitana do Rio de Janeiro, que ao realizarem análise da distribuição espacial da ocorrência de cães parasitados observaram animais positivos distribuídos em todos os pontos estudados.

Também utilizando os dados obtidos das fichas de todos os cães observou-se associação estatística entre a faixa etária e a proporção de positivos, com a prevalência aumentando com a faixa etária dos animais e os cães mais velhos apresentando maior ocorrência de infecção pelo *T. gondii*.

No presente estudo nenhum dos cães positivos apresentou título de anticorpos de 16, sendo 32 o título mais encontrado, com 51 cães reagentes e 13 animais apresentaram títulos e $\geq$512. O encontro de um maior número de cães apresentando baixos títulos de anticorpos também foi descrito em estudo com cães domiciliados atendidos em Hospital Veterinário em Cuiabá, MT, Brasil (STRITAL et al., 2016) e em cães domiciliados do município do Rio de Janeiro, RJ, Brasil (ARRUDA et al., 2021). Segundo Strital et al. (2016) títulos de 16 a 512 podem ser

considerados títulos de contato e não de infecção aguda, indicando contato prévio com o parasito.

A análise multivariada, realizada com os dados de 471 cães, os quais os tutores responderam ao questionário epidemiológico, utilizou como variáveis: sexo, faixa etária, ter ou não raça definida, zona de obtenção das amostras, contato com outros animais e tipo de alimentação. A regressão logística apontou a faixa etária (mais velhos), não possuir raça definida e não ter acesso às ruas como fatores de risco para a infecção pelo *T. gondii*. Dos 471 cães utilizados para estas análises 65 (13,8%) foram soropositivos para *T. gondii*, resultado muito semelhante ao encontrado com a amostragem total (10,5%).

Como já observado em outros estudos brasileiros, também amostrando cães domiciliados (GUIMARÃES et al., 2009; de MOURA et al., 2009; DANTAS et al., 2013; LANGONI et al., 2013; BENITEZ et al., 2017, de OLIVEIRA et al., 2019) os animais mais velhos são mais reagentes ao coccídio, provavelmente pela maior chance de exposição ao agente com o aumento da idade.

Em relação a raça dos cães, possuir raça definida foi fator de proteção para a infecção pelo *T. gondii*. De Brito et al. (2002), Guimarães et al. (2009) e de Moura et al. (2009) observaram, em estudos realizados no Brasil com cães domiciliados, que não possuir raça definida era um fator de risco para a infecção e admitem este fato à provável melhor assistência veterinária e cuidados com a alimentação que proprietário de animais com raça definida podem oferecer aos seus animais.

A regressão logística também apontou cães que tem acesso a rua como fator de proteção. Este fato é de difícil explicação, uma vez que a grande parte dos estudos tem observado ser este um fator de risco para a infecção pelo *T. gondii*, uma vez que os cães têm maior contato com as fontes de infecção. Vale lembrar que em grande parte da região metropolitana de São Paulo os cães frequentam as ruas com seus tutores, que dificultam que estes predem outros animais, ingiram restos de alimentos encontrados nas ruas, comportando-se muitas vezes de forma similar aos que não tem acesso. Cada vez se tornam mais raros os casos de cães que têm acesso livre às ruas, isto é, sem os tutores.

6.2. *Neospora caninum*

Somente 9 (0,75%, IC95%: 0,34%-1,4%) dos 1194 soros examinados foram reagentes a anticorpos IgG anti-*N. caninum.* Estudo realizado com cães do mesmo município por Gennari et al. (2002), utilizando cães com (n=500) e sem domicílio (n=600), encontraram valores bastante superiores, respectivamente de 10% e 25%, entretanto o método diagnóstico utilizado foi o Neospora agglutination test (NAT >25), dificultando a comparação dos resultados.

Os valores dos títulos de anticorpos contra *N. caninum* variaram de 50 a 800, sendo 200 o título de maior ocorrência. A RIFI é a prova mais utilizada para pesquisa de anticorpos contra este coccídio e o ponto de corte na diluição de 1:50 o recomendado e estes foram utilizados em 55 dos 68 estudos de ocorrência com cães no Brasil, sendo considerada a prova e ponto de corte padrão para esta espécie (revisado por CERQUEIRA-CEZAR et al., 2017)

No Brasil uma série de estudos realizados com cães para pesquisa de anticorpos contra este coccídio também encontraram resultados mais elevados aos observados no presente estudo, valores variando de 3,1% a 67,6%, como apresentado por Cerqueira-Cezar et al., (2017) em revisão sobre *N. caninum* no país. Na mesma revisão, cães de ambiente urbano, quando comparados aos de ambiente rural ou semi-rural mostraram menores valores de ocorrência, indicando menor oportunidade de cães urbanos terem contato com as formas infectantes do parasito, geralmente presentes em fetos bovinos abortados, membranas fetais, carcaças e presas (MINEO et al., 2004; FRIFLUNG-PLUGGE et al., 2008; da CUNHA et al., 2008; de MORAES et al., 2008; VALADAS et al., 2010; SOUSA et al., 2012; SICUPIRA et al., 2012; BRUHN et al., 2012; RAIMUNDO et al., 2015) Segunda as informações obtidas através do questionário epidemiológico, praticamente todos os cães amostrados somente frequentavam ambiente urbano.

Devido à baixa prevalência observada, análise estatística dos achados referentes a *N. caninum* não foram realizadas e os resultados somente apresentados de forma descritiva. Entretanto, apesar da baixa prevalência, cães positivos foram encontrados em todas as regiões da grande São Paulo, tanto machos como fêmeas e em animais com e sem raça definida. Nenhum dos cães

com menos de um ano de idade apresentou anticorpos contra o coccídio e sete dos nove positivos possuíam mais de oito anos, indicando, como anteriormente comentado para *T. gondii*, um aumento da prevalência com o aumento da idade dos animais. Vários estudos, realizados no Brasil e em outros países, também observaram maior prevalência em animais com mais idade (ANDREOTTI et al., 2003; de OLIVEIRA et al., 2004; CAPELLI et al., 2004)

Nenhum dos cães soropositivos para *N. caninum* apresentavam descrição de problemas neurológicos quando analisadas as fichas dos mesmos feitas pelos veterinários que os atenderam. Em cães, estudos feitos em várias partes do mundo têm demonstrado que a prevalência de anticorpos séricos em cães pode ser relativamente alta, entretanto a doença clínica é relativamente rara. Pouco ainda se sabe sobre o porquê alguns cães desenvolvem sintomatologia clínica e outros não, se devido a diferenças na virulência dos isolados, se devido a susceptibilidade dos hospedeiros ou se ambos os fatores estão envolvidos. Quadros clínicos de neosporose são geralmente observados em cães bastante jovens, bastante velhos ou imunossuprimidos (DUBEY et al., 2017).

7.CONCLUSÕES

Os resultados do presente estudo permitem concluir que em todas as zonas da região metropolitana de São Paulo há cães domiciliados positivos a anticorpos IgG anti-*Toxoplasma gondii,* com menor ocorrência na região oeste. Foram considerados fatores de risco para a infecção por *T. gondii* a idade, com cães mais velhos com maior número de positivos, os sem raça definida e os cães que não têm acesso às ruas.

A prevalência de anticorpos IgG anti-*N. caninum* foi inferior a 1%, entretanto também para este coccídio cães positivos foram detectados em todas as zonas do município.

REFERÊNCIAS

A fresh way to do statistics. Disponível em: https://jasp-stats.org/. Acesso em: 8 jan. 2023

ABINPET. **A Indústria Pet e seus números**. Disponível em: https://abinpet.org.br/infos_gerais . Acesso em: 10 mai. 2021

ABINPET. **Faturamento do Setor pet**. ABINPET, 2019. Disponível em: http://abinpet.org.br/mercado/. Acesso em: 12 jun. 2021

AGUIAR, D. M. et al. **Canine distemper virus and *Toxoplasma gondii* co-infection in dogs with neurological signs**. Arquivo brasileiro de medicina veterinaria e zootecnia, v. 64, n. 1, p. 221–224, 2012. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/s0102-09352012000100032. Acesso 05 jan. 2023

AGUIRRE, A. A. et al. **The one health approach to toxoplasmosis: Epidemiology, control, and prevention strategies**. EcoHealth, v. 16, n. 2, p. 378–390, 2019. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/s10393-019-01405-7. Acesso em: 23 jun. 2021

ANCLIVEPA-SP. **História**. Disponível em: https://hospitalveterinariopublico.com.br/historia. Acesso em: 08 jan. 2023

ANDREOTTI, R.; PINCKNEY, R.D.; PIRES, P.P.; SILVA, E. A. **Evidence of *Neospora caninum* in beef cattle and dogs in the state of Mato Grosso do Sul, center-western region, Brazil**. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 13, n. 3, p. 129-131, 2004.

ARANTES, T. P. et al. ***Toxoplasma gondii*: Evidence for the transmission by semen in dogs**. Experimental parasitology, v. 123, n. 2, p. 190–194, 2009.

Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.exppara.2009.07.003. Acesso em: 20 jun. 2021

ARRUDA, I. F. et al. ***Toxoplasma gondii* in domiciled dogs and cats in urban areas of Brazil: risk factors and spatial distribution**. Parasite (Paris, France), v. 28, p. 56, 2021. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1051/parasite/2021049. Acesso em 30 dez. 2022

BAHIA-OLIVEIRA, L. M. G. et al. **Highly endemic, waterborne toxoplasmosis in north Rio de Janeiro state, Brazil**. Emerging infectious diseases, v. 9, n. 1, p. 55–62, 2003. Disponível em: http://dx.doi.org/10.3201/eid0901.020160. Acesso em 03 jul 2021

BENITEZ, A. DO N. et al. **Seroepidemiology of toxoplasmosis in humans and dogs from a small municipality in Parana, Brazil**. Ciência animal brasileira, v. 18, n. 0, 2017. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/1089-6891v18e-42102. Acesso em 08 jan. 2022

BJERKÅS, I.; MOHN, S. F.; PRESTHUS, J. **Unidentified cyst-forming sporozoon causing encephalomyelitis and myositis in dogs**. Zeitschrift für Parasitenkunde (Berlin, Germany), v. 70, n. 2, p. 271–274, 1984. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/bf00942230. Acesso em 05 jun 2021

BRUHN, F. R. P. et al. **Occurrence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs in rural areas in Minas Gerais, Brazil**. Revista brasileira de parasitologia veterinaria [Brazilian journal of veterinary parasitology], v. 21, n. 2, p. 161–164, 2012. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/s1984-29612012000200017. Acesso em 08 jan. 2023

CALERO-BERNAL, R.; GENNARI, S. M**. Clinical toxoplasmosis in dogs and cats: An update**. Frontiers in veterinary science, v. 6, p. 54, 2019. Disponível em: http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2019.00054. Acesso em 06 jun. 2021

CAMARGO, M. E. **Improvided technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis**. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v. 6, n. 3, p. 117-118, 1964.

CAPELLI, G.; NARDELLI, S.; DI REGALBONO, A. F.; SCALA, A.; PIETROBELLI, M. **Sero-epidemiological survey of *Neospora caninum* infection in dogs in north-eastern Italy**. Veterinary parasitology, v. 123, n. 3–4, p. 143–148, 2004. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.06.012. Acesso em 08 jan. 2023

CAVALCANTE, G. T. et al. **Experimental infection with *Neospora caninum* in pregnant bitches**. Revista brasileira de parasitologia veterinaria [Brazilian journal of veterinary parasitology], v. 21, n. 3, p. 232–236, 2012. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/s1984-29612012000300010. Acesso em 10 jun. 2021

CERQUEIRA-CÉZAR, C. K.; CALERO-BERNAL, R.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M. Revista brasileira de parasitologia veterinária [Brazilian journal of veterinary parasitology], v. 26, n. 3, p. 253–279, 2017. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612017045. Acesso em 09 jun. 2021

COELHO, A. M. et al. **Serological prevalence of toxoplasmosis and neosporosis in dogs diagnosed with suspected meningoencephalitis in the UK: Toxoplasmosis/neosporosis in meningoencephalitis**. The journal of small animal practice, v. 60, n. 1, p. 44–50, 2019. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1111/jsap.12937. Acesso em 27 mai. 2021

DA CUNHA, N. A. et al. **Fatores de risco e prevalência de anticorpos anti-*Neospora caninum* em cães urbanos e rurais do Rio Grande do Sul, Brasil**. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 17, n. 1, p. 301-306, 2008. Disponível em: https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=397841469060. Acesso em 08 jan. 2023

DA SILVA, R. C. et al**. Risk factors and presence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in dogs from the coast of São Paulo State, Brazil**. Pesquisa veterinaria brasileira [Brazilian journal of veterinary research], v. 30, n. 2, p. 161–166, 2010. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2010000200011. Acesos em 03 jan. 2023

DANTAS, S. B. A. et al. **Ocorrência e fatores de risco associados às infecções por *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães no município de Natal, Estado do Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil**. Ciencia rural, v. 43, n. 11, p. 2042–2048, 2013. Disponível em: https://www.scielo.br/j/cr/a/PcDH9N8SJvrVSzGkhLkrdsD/abstract/?lang=en. Acesso em: 08 jan. 2022

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**. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 97, n. 1, p. 31–35, 2002. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/s0074-02762002000100003. Acesso em: 07 jan. 2022

DE MORAES, C. C. G. et al. **Occurrence of antibodies anti-*Neospora caninum* in dogs of Botucatu range Micro region, State of São Paulo, Brazil**. Revista brasileira de parasitologia veterinaria [Brazilian journal of veterinary parasitology], v. 17, n. 1, p. 1–6, 2008. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/s1984-29612008000100001. Acesso em 08 jan. 2023

OLIVEIRA, J.M.; MATOS, M.F.C.; OSHIRO, L.M.; ANDREOTTI, R. **Prevalence of anti-*Neospora caninum* antibodies in dogs in the urban area of Campo Grande, MS, Brazil**. Revista Brasileira Parasitologia Veterinária, v. 13, n. 4, p. 155-158, 2004.

DE OLIVEIRA, G. M. S. et al. **Frequency and factors associated with *Toxoplasma gondii* infection in pregnant women and their pets in Ilhéus, Bahia, Brazil**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 52, p. e20190250, 2019. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0250-2019. Acesso em 08 jan. 2022

DE SEABRA, N. M.; PEREIRA, V. F.; KUWASSAKI, M. V.; BENASSI, J. C.; OLIVEIRA, T. M. F. DE S. ***Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Leishmania* spp. serology and *Leishmania* spp. PCR in dogs from Pirassununga, SP**. Revista brasileira de parasitologia veterinária [Brazilian journal of veterinary parasitology], v. 24, n. 4, p. 454–458, 2015. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612015046. Acesso em 05 jan. 2023

DE SOUSA, M. E. et al. **Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs in the state of Alagoas, Brazil**. Revista brasileira de parasitologia veterinaria [Brazilian journal of veterinary parasitology], v. 21, n. 3, p. 287–290, 2012. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/s1984-29612012000300019. Acesso em 08 jan. 2023

DE SOUZA, S. L. P. et al. **OCCURRENCE OF *Toxoplasma gondii* ANTIBODIES IN SERA FROM DOGS OF THE URBAN AND RURAL AREAS FROM BRAZIL**. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária. v. 12, p 1-3, 2003. Disponível em: http://www.ufrrj.br/rbpv/1212003/c1211_3.pdf. Acesso em: 08 jul. 2021

DELAIR, E. et al. **Clinical manifestations of ocular toxoplasmosis**. Ocular immunology and inflammation, v. 19, n. 2, p. 91–102, 2011. Disponível em: http://dx.doi.org/10.3109/09273948.2011.564068. Acesso em 08 jul. 2021

DORSCH, M. A. et al. **Fatal *Toxoplasma gondii* myocarditis in an urban pet dog**. Veterinary parasitology (Amsterdam: Online), v. 27, n. 100659, p. 100659, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vprsr.2021.100659>. Acesso em 23 nov. 2021

DOTSON, M. J.; HYATT, E. M. **Understanding dog–human companionship**. Journal of business research, v. 61, n. 5, p. 457–466, 2008. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0148296307002214. Acesso em 12 out. 2021

DUBEY, J. P. et al. **Diverse and atypical genotypes identified in *Toxoplasma gondii* from dogs in São Paulo, Brazil**.The journal of parasitology, v. 93, n. 1, p. 60–64, 2007. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1645/GE-972R.1. Acesso em 03 jun. 2021

DUBEY, J. P. et al. ***Toxoplasma gondii* infections in dogs: 2009-2020**. Veterinary parasitology, v. 287, n. 109223, p. 109223, 2020. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109223. Acesso em 08 jan. 2023

DUBEY, J. P. **Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals**.The Korean journal of parasitology, v. 41, n. 1, p. 1, 2003. Disponível em: http://dx.doi.org/10.3347/kjp.2003.41.1.1. Acesso em 03 jun. 2021

DUBEY, J. P. **Toxoplasmosis of animals and humans.** 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, Florida, 313 p, 2016.

DUBEY, J. P.; HATTEL, A. L.; LINDSAY, D. S.; TOPPER, M. J. **Neonatal *Neospora caninum* infection in dogs: isolation of the causative agent and experimental transmission**. Journal of the American Veterinary Association, v. 193, p. 1259-1263, 1988.

DUBEY, J. P.; HEMPHILL, A.; CALERO-BERNAL, R.; SCHARES, G. **Neosporosis in Animals**. Boca Raton: Taylor & Francis, 2017.: CRC Press, 2017.

DUBEY, J. P.; JONES, J. L. ***Toxoplasma gondii* infection in humans and animals in the United States**. International journal for parasitology, v. 38, n. 11, p. 1257–1278, 2008. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0020751908001100. Acesso em 21 mai. 2021

DUBEY, J. P.; LAGO, E. G.; GENNARI, S. M.; SU, C.; JONES, J. L. **Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology**. Parasitology, v. 139, n. 11, p. 1375–1424, 2012. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1017/S0031182012000765. Acesso em 21 jul. 2021

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. **Gerbils (*Meriones unguiculatus*) are highly susceptible to oral infection with *Neospora caninum* oocysts.** Parasitology research, v. 86, n. 2, p. 165–168, 2000. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/s004360050027. Acesso em 21 mai. 2021

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S. **Neosporosis**. Parasitology today (Personal ed.), v. 9, n. 12, p. 452–458, 1993. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/0169-4758(93)90099-2. Acesso em 02 jun. 2021

DUBEY, J. P.; LINDSAY, D. S.; SPEER, C. A**. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts**. Clinical microbiology reviews, v. 11, n. 2, p. 267–299, 1998. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1128/cmr.11.2.267. Acesso 21 jun. 2021

DUBEY, J. P.; SCHARES, G. **Neosporosis in animals--the last five years**. Veterinary parasitology, v. 180, n. 1–2, p. 90–108, 2011. Disponível em:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401711003840. Acesso 24 jun. 2021

DUBEY, J. P.; SREEKUMAR, C. **Redescription of *Hammondia hammondi* and its differentiation from *Toxoplasma gondii***. International journal for parasitology, v. 33, n. 13, p. 1437–1453, 2003. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/s0020-7519(03)00141-3. Acesso em 18 jun. 2021

FRANTZ, L. A. F. et al. **Genomic and archaeological evidence suggest a dual origin of domestic dogs**. Science (New York, N.Y.), v. 352, n. 6290, p. 1228–1231, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1126/science.aaf3161. Acesso em 11 nov. 2021

FRIDLUND-PLUGGE, N. et al. **Frequency of antibodies against *Neospora caninum* in stray and domiciled dogs from urban, periurban and rural areas from Paraná State, Southern Brazil.** Revista brasileira de parasitologia veterinaria [Brazilian journal of veterinary parasitology], v. 17, n. 4, p. 222–226, 2008. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/s1984-29612008000400010. Acesso em 08 jan. 2023

GENNARI, S. M. et al. **Presence of anti- *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs with visceral leishmaniosis from the region of Araçatuba, São Paulo, Brazil.** Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, v. 43, n. 5, p. 613-619, 2006. Disponível em: https://core.ac.uk/download/pdf/268256019.pdf. Acesso em 08 jan. 2022

GENNARI, S. M. ***Neospora caninum* no Brasil: situação atual da pesquisa**. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária, v. 13 n. 1, p. 23-28, 2004.

GENNARI, S.M; et. al. **Occurrence of *Neospora caninum* antibodies in sera from dogs of the city of São Paulo, Brazil**. Veterinary parasitology, v. 106, n. 2, p. 177–179, 2002. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/s0304-4017(02)00052-

3. Acesso em: 23 set. 2021

GERHOLD, R. et al. **Acute onset of encephalomyelitis with atypical lesions associated with dual infection of *Sarcocystis neurona* and *Toxoplasma gondii* in a dog**. Veterinary parasitology, v. 205, n. 3–4, p. 697–701, 2014. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401714004932. Acesso em 22 out. 2021

GLASNER, P. D. et al. **An unusually high prevalence of ocular toxoplasmosis in southern Brazil**. American journal of ophthalmology, v. 114, n. 2, p. 136–144, 1992. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/s0002-9394(14)73976-5. Acesso em 25 mai. 2021

GONDIM, L. F. P.; GAO, L.; MCALLISTER, M. M. **Improved production of *Neospora caninum* oocysts, cyclical oral transmission between dogs and cattle, and in vitro isolation from oocysts**. The journal of parasitology, v. 88, n. 6, p. 1159–1163, 2002. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1645/0022-3395(2002)088[1159:IPONCO]2.0.CO;2. Acesso em 10 jul. 2021

GUIMARÃES, A. M. et al. **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 [Brazilian journal of veterinary parasitology], v. 18, n. e1, p. 49–53, 2009. Disponível em: http://dx.doi.org/10.4322/rbpv.018e1009. Acesso em: 07 jan. 2022

HOLLAND, G. N. **Ocular toxoplasmosis: a global reassessment. Part I: epidemiology and course of disease**. American journal of ophthalmology, v. 136, n. 6, p. 973–988, 2003. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.ajo.2003.09.040. Acesso em 23 jun. 2021

IBGE. **IBGE - População de animais de estimação no Brasil – 2019**. Dísponivel

em: https://www.ibge.gov.br/estatisticas/sociais/saude/9160-pesquisa-nacional-de-saude.html?edicao=28655&t=resultados. Acessado em: 29 mai. 2021

INNES, E. A. **A brief history and overview of *Toxoplasma gondii***. Zoonoses and public health, v. 57, n. 1, p. 1–7, 2010. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1111/j.1863-2378.2009.01276.x. Acesso 20 mai. 2021

KOLÖREN, Z.; DUBEY, J. P. **A review of toxoplasmosis in humans and animals in Turkey**. Parasitology, v. 147, n. 1, p. 12–28, 2020. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1017/S0031182019001318. Acesso em 23 jun. 2021

LANGONI, H. al. **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. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822012000300016. Acesso em 05 jan. 2023

LANGONI, H. et al. **Serological profile of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in apparently healthy dogs of the city of Botucatu, São Paulo State, Brazil**. The journal of venomous animals and toxins including tropical diseases, v. 12, n. 1, p. 142–148, 2006. Disponível em: https://www.scielo.br/j/jvatitd/a/VtCpjV4DRWRfpyQC86Tn7tn/?lang=en. Acesso em: 25 mai. 2021

LANGONI, H.; FORNAZARI, F.; DA SILVA, R. C.; MONTI, E. T.; VILLA, F. B. **Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs**. Brazilian journal of microbiology, v. 44, n. 4, p. 1327–1330, 2013. Disponível em: https://www.scielo.br/j/bjm/a/rW3wk3Jy7YLfKgxjfBbKvDL/?lang=en. Acesso em: 05 jan. 2022

LANGONI, H.; FORNAZARI, F.; DA SILVA, R. C.; MONTI, E. T.; VILLA, F. B. **Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum***

in dogs. Brazilian journal of microbiology, v. 44, n. 4, p. 1327–1330, 2013. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/s1517-83822013000400043. Acesso em 05 jan. 2023

LEAL, P. D. S; COELHO, C. D. **Toxoplasmose em cães: uma breve revisão**. Coccidia, v. 2, n. 1, p. 2-39, 2014.Dísponivel em: https://r1.ufrrj.br/lcc/Coccidia/vol/v2n1/p2-39.pdf. Acesso em 15 mai. 2021

LINDSAY, D. S.; DUBEY, J. P. **Toxoplasmosis in wild and domestic animals**. *Toxoplasma gondii*. p.293–320, 2020. Elsevier. Disponível em: https://vtechworks.lib.vt.edu/bitstream/handle/10919/103017/1573496.pdf;jsessionid=EBA0EF0E249EB5BA1419129AE58C2627?sequence=1. Acesso em 03 jan. 2023

LYKINS, J. et al. **Understanding toxoplasmosis in the United States through "large data" analyses. Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases.** Society of America, v. 63, n. 4, p. 468–475, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1093/cid/ciw356. Aceso em 15 jun. 2021

MASCOLLI, R. et al. **Seroprevalence and risk factors for toxoplasmosis and neosporosis in the dog population of Ibiúna, São Paulo, Brazil**. Semina. Ciencias agrarias, v. 36, n. 6, p. 3777, 2015. Disponível em: http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/20957. Acesso em 08 jan. 2023

MCCONKEY, G. A.; MARTIN, H. L.; BRISTOW, G. C.; WEBSTER, J. P. ***Toxoplasma gondii* infection and behaviour - location, location, location?** The journal of experimental biology, v. 216, n. Pt 1, p. 113–119, 2013. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1242/jeb.074153. Acesso 17 nov. 2022

MCLEOD, R. et al. **Management of congenital toxoplasmosis**. Current pediatrics reports, v. 2, n. 3, p. 166–194, 2014. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/s40124-014-0055-7. Acesso em 21 jun. 2021

MEIRELES, L. R.; GALISTEO, A. J., Jr; POMPEU, E.; ANDRADE, H. F., Jr. ***Toxoplasma gondii* spreading in an urban area evaluated by seroprevalence in free-living cats and dogs**. Tropical medicine & international health: TM & IH, v. 9, n. 8, p. 876–881, 2004. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-3156.2004.01280.x. Acesso em: 01 jan. 2022

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

MIGLIORE, S.; LA MARCA, S.; STABILE, C.; DI MARCO LO PRESTI, V.; VITALE, M. **A rare case of acute toxoplasmosis in a stray dog due to infection of T. gondii clonal type I: public health concern in urban settings with stray animals?** BMC veterinary research, v. 13, n. 1, 2017. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1186/s12917-017-1176-3. Acesso em 23 jun. 2021

MILNE, G.; WEBSTER, J. P.; WALKER, M. ***Toxoplasma gondii*: An Underestimated threat?** Trends in parasitology, v. 36, n. 12, p. 959–969, 2020. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.pt.2020.08.005. Acesso em 23 out 2022

MINEO, T. W. P. et al. ***Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* serological status of different canine populations from Uberlândia, Minas Gerais**. Arquivo brasileiro de medicina veterinaria e zootecnia, v. 56, n. 3, p. 414–417, 2004. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/s0102-09352004000300022. Acesso em 08 jan. 2023

MOURA, A. B. et. al. **Ocorrência de gripe 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. 03, pág. 52–56, 2009. Disponível em: http://dx.doi.org/10.4322/rbpv.01803009. Acesso em: 01 jan. 2022

NICOLLE, M. M. C.; MANCEAUX, I. **Sur une infection à corps de Leishmann (organisms voisins) du gondi**. Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Academie des Sciences. Paris, v. 147, p. 763-766, 1908.

OLBERA, A. V. G. et al. **Cumulative incidence and spatial distribution of dogs exposed to *Toxoplasma gondii***. Revista brasileira de parasitologia veterinária [Brazilian journal of veterinary parasitology], v. 29, n. 2, p. e000820, 2020. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/s1984-29612020025. Acesso em 05 jan. 2023

PAPINI, R.; MANCIANTI, F.; SACCARDI, E. **Noise sensitivity in a dog with toxoplasmosis**. The veterinary record, v. 165, n. 2, p. 62–62, 2009. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1136/vetrec.165.2.62-b. Acesso em 23 out. 2021

PAPPAS, G.; ROUSSOS, N.; FALAGAS, M. E. **Toxoplasmosis snapshots: global status of *Toxoplasma gondii* seroprevalence and implications for pregnancy and congenital toxoplasmosis**. International journal for parasitology, v. 39, n. 12, p. 1385–1394, 2009. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpara.2009.04.003. Acesso em 21 jun. 2021

PASSOS, A. D. C. et al. **Prevalence and risk factors of toxoplasmosis among adults in a small Brazilian city**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 51, n. 6, p. 781–787, 2018. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0214-2017. Acesso em 21 mai. 2021

PATITUCCI, A. N.; ALLEY, M. R.; JONES, B. R.; CHARLESTON, W. A. **Protozoal encephalomyelitis of dogs involving *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in New Zealand**. New Zealand veterinary journal, v. 45, n. 6, p. 231–235,

1997. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1080/00480169.1997.36035. Acesso em 21 jul. 2021

PAULAN, S. DE C.et al. **Seroprevalence rates of antibodies against *Leishmania infantum* and other protozoan and rickettsial parasites in dogs**. Revista brasileira de parasitologia veterinária [Brazilian journal of veterinary parasitology], v. 22, n. 1, p. 162–166, 2013. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/s1984-29612013000100031. Acesso em 04 jan. 2023

PENA, H. F. J. et al. **Isolation and biological and molecular characterization of *Toxoplasma gondii* from canine cutaneous toxoplasmosis in Brazil**. Journal of clinical microbiology, v. 52, n. 12, p. 4419–4420, 2014. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1128/JCM.02001-14. Acesso em 12 jun. 2021

PEPPER, A.; MANSFIELD, C.; STENT, A.; JOHNSTONE, T. **Toxoplasmosis as a cause of life-threatening respiratory distress in a dog receiving immunosuppressive therapy**. Clinical case reports, v. 7, n. 5, p. 942–948, 2019. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1002/ccr3.2121. Acesso em 16 jun. 2022

PEYRON F, WALLON M, KIEFFER F, GARWEG J. **Toxoplasmosis**. In: Wilson CB, Nizet V, Maldonado YA, Remington JS, Klein JO, editors. Remnington and Klein's Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant. 8. Philadelphia: Elsevier Saunders; 8 p. 949–1042, 2018.

POSTMA, G. et al. **Canine distemper virus, atypical *Toxoplasma gondii,* and *Neospora caninum* co-infection, in a dog with neurological signs from Argentina**. Brazilian journal of veterinary pathology, v. 12, n. 3, p. 101–105, 2019. Disponível em: https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/131046. Acesso em 29 jun. 2021

RAIMUNDO, J. M. et al. ***Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Tocantins: serology and associated factors**. Revista brasileira de parasitologia veterinaria [Brazilian journal of veterinary parasitology], v. 24, n. 4, p. 475–481, 2015. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612015068. Acesso em 21 jun. 2021.

RIPLEY, B. D. **The R project in statistical computing**. MSOR connections, v. 1, n. 1, p. 23–25, 2001. Disponível em: https://www.R-project.org/.. Acesso em: 8 jan. 2023

SERPELL, J. **Beneficial effects of pet ownership on some aspects of human health and behaviour**. Journal of the Royal Society of Medicine, v. 84, n. 12, p. 717–720, 1991. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1177/014107689108401208 . Acesso em 07 out. 2021

SEVÁ, A. DA P. et al. **Seroprevalence and incidence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection in naturally exposed domestic dogs from a rural area of São Paulo state, Brazil**. Revista brasileira de parasitologia veterinária [Brazilian journal of veterinary parasitology], v. 29, n. 3, p. e008820, 2020. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612020053. Acesso em 03 jan. 2023

SICUPIRA, P. M. L. et al. **Factors associated with infection by *Neospora caninum* in dogs in Brazil**. Veterinary parasitology, v. 185, n. 2–4, p. 305–308, 2012. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.09.029. Acesso em 08 jan. 2023

SILVA, R.; MACHADO, G. **Canine neosporosis: perspectives on pathogenesis and management**. Veterinary medicine (Auckland, N.Z.), p. 59, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.2147/vmrr.s76969. Acesso em 27 jun. 2021

SOARES, J. A. S.; NÁSSER, L. S.; CARVALHO, S. F. G.; CALDEIRA, A. P.

Achados oculares em crianças com toxoplasmose congênita Arquivos brasileiros de oftalmologia, v. 74, n. 4, p. 255–257, 2011. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/s0004-27492011000400005. Acesso em 19 jun. 2021

SPLENDORE, A. **Un nuovo protozoa parasita de conigli incontrato nelle lesionianatomiche d'una malattia che ricorda in molti punti il kala-azar dell'umo. Nota preliminare**. Revista Sociedade Scientifica São Paulo, v. 3, p. 109-112, 1908.

STRITAL, A. D. et al. **Estudo epidemiológico e avaliação de fatores de risco da infecção por *Toxoplasma gondii* e achados clinico-patológicos da infecção aguda em cães admitidos em um Hospital Escola Veterinário**. Pesquisa veterinaria brasileira [Brazilian journal of veterinary research], v. 36, n. 10, p. 993–998, 2016. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/s0100-736x2016001000012. Acesso em 10 jan. 2023

SWINGER, R. L.; SCHMIDT, K. A., Jr; DUBIELZIG, R. R. **Keratoconjunctivitis associated with *Toxoplasma gondii* in a dog**. Veterinary ophthalmology, v. 12, n. 1, p. 56–60, 2009. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1111/j.1463-5224.2009.00675.x. Acesso em 26 jul. 2021

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 (San Antonio, Tex.: 2001), v. 15, n. 2, p. 119–127, 2005. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-4431.2005.00134.x. Acesso em 22 ago. 2022

VALADAS, S.; MINERVINO, A. H. H.; LIMA, V. M. F.; et al. **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. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1007/s00436-010-1890-2. Acesso em 08 jan. 2023

WEBB, J. A. et al. **Cutaneous manifestations of disseminated toxoplasmosis in an immunosuppressed dog**. Journal of the American Animal Hospital Association, v. 41, n. 3, p. 198–202, 2005. Disponível em: http://dx.doi.org/10.5326/0410198. Acesso em 21 dez. 2022

ZANETTE, M. F.; LIMA, V. M. F. DE; LAURENTI, M. D.; et al. **Serological cross-reactivity of *Trypanosoma cruzi*, *Ehrlichia canis*, *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Babesia canis* to *Leishmania infantum chagasi* tests in dogs**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 47, n. 1, p. 105–107, 2014. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-1723-2013. Acesso em 05 jan. 2023

ANEXOS

Anexo 1. Questionário utilizado durante as entrevistas com os tutores, com informações dos cães que participaram do estudo.

Paciente: Número de registro: Idade: Sexo: Raça: Telefone:	
Alimentação	Caseira ( ) Comercial ( ) Mista ( ) Carne crua ( )
Tem acesso a rua?	Sim ( ) Não ( ) Somente acompanhado ( )
Convive ou conviveu com outros animais?	Sim ( ) Não ( ) Se sim, com qual animal? Outros ( ) Gato ( ) Cão ( ) Por quanto tempo ( )
Tem hábito de caça?	Sim ( ) Não ( ) Roedores ( ) Aves ( ) Silvestres ( )
Já teve contato com ambiente rural?	Sim ( ) Não ( )

Anexo 2. - Termo de Assentimento e Consentimento

TERMO DE ASSENTIMENTO (Elaborado de acordo com a Resolução 466/2012-CNS/CONEP)

Projeto de mestrado Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu da Universidade Santo Amaro – UNISA - Medicina Veterinária – Bem-estar Animal.

Você está sendo convidado a participar da pesquisa intitulada**: Soroprevalência de anticorpos contra *Toxoplasma gondii e Neospora caninum* em cães domiciliados atendidos em Hospitais Públicos Veterinários da região metropolitana de São Paulo**

Pesquisador/Aluno responsável: Elidia Zotelli dos Santos
Pesquisador/Professor responsável: Solange Maria Gennari

Objetivo do projeto: Cães podem se infectar pelos protozoários *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum.* Pouco se sabe sobre prevalência e fatores de risco para infecção por *T. gondii* e *N. caninum* em cães urbanos no estado de São Paulo. Os cães são o principal animal de companhia no Brasil e podem desempenhar um papel importante na cadeia epidemiológica da infecção por estes coccídios. O presente trabalho tem por objetivos determinar a soroprevalência de anticorpos anti-*T. gondii e N. caninum* em cães domiciliados da região metropolitana de São Paulo, atendidos nos Hospitais Públicos Veterinários e identificar fatores de risco para as infecções analisando fatores pertinentes aos cães e ao ambiente onde vivem.

1.Envolvimento na pesquisa: Para realização deste trabalho usaremos os seguintes métodos: aplicação de questionário sobre ambiente e modo de vida do cão e coleta de material biológico - via venopunção – sangue do seu cão. Sendo assim, o (a) Senhor (a) Permitirá uma coleta de sangue via venosa, que possa eliminar eventuais acometimentos a saúde do animal, e responderá ao questionário de uma página. O (a) Senhor(a) tem liberdade de se recusar a participar e ainda se

recusar a continuar participando de qualquer fase da pesquisa, sem qualquer prejuízo do seu animal. Sempre que quiser poderá pedir informações sobre a pesquisa através do telefone 011 97367-7277 com a Aluna Elidia Zotelli ou pelo e-mail elidia.zotelli@gmail.com. Se necessário, poderá entrar em contato com Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).

2. **Confidencialidade**: Seu nome assim como todos os dados que lhe identifiquem serão mantidos sob sigilo absoluto, antes, durante e após o término do estudo.

3. Riscos e Desconfortos: Quanto aos riscos e desconfortos, a participação nesta pesquisa não traz complicações legais, sendo que o pesquisador prestará todo o atendimento necessário para que o animal não seja prejudicado. Os procedimentos adotados nesta pesquisa obedecem aos princípios éticos no uso de animais, elaborados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), sobre a utilização de animais em atividades educacionais e em experimentos que envolvam espécies definidas na Lei 11.794/2008.
Caso você venha a sentir desconfortável, comunique ao pesquisador para que sejam tomadas as devidas providencias (parar coleta, e não responder o questionário).

4. Benefícios esperados com resultado dessa pesquisa: exame realizado sem custo, se apresentar interesse em receber o resultado, poderá ser enviado ao final do estudo. O levantamento de fatores de riscos e áreas com maior prevalência das doenças que serão pesquisadas, gerarão medidas preventivas a fim de prevenir que futuros pacientes caninos não contraiam a doença.

No curso da pesquisa você tem os seguintes direitos: a) garantia de esclarecimento e resposta a qualquer pergunta; b) liberdade de abandonar a pesquisa a qualquer momento, mesmo que seu pai ou responsável tenha consentido sua participação, sem prejuízo para si ou para o tratamento do seu cão; c) garantia de que caso haja algum dano a sua pessoa, os prejuízos serão assumidos pelos pesquisadores ou

pela instituição responsável inclusive acompanhamento médico e hospitalar (se for o caso).

Caso haja gastos adicionais, eles serão absorvidos pelo pesquisador. Nos casos de dúvidas você deverá falar com seu responsável, para que ele procure os pesquisadores, a fim de resolver seu problema (informar nome, endereço profissional e telefone do pesquisador responsável e de toda equipe). Comitê de Ética em Pesquisa – Unisa. Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340 cep: 04829-300 São Paulo - SP Fone: (11) 2141-8687 www.unisa.br 2 Caso suas dúvidas não sejam resolvidas pelos pesquisadores ou seus direitos sejam negados, favor recorrer ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Santo Amaro, localizado à Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340, Jardim das Imbuias, São Paulo- SP. Telefone 11-2141.8687 ou ainda através do e-mail: pesquisaunisa@unisa.br.

Assentimento Livre e Esclarecido

Eu .....(nome completo do menor), após ter recebido todos os esclarecimentos e meu responsável assinado o TCLE, concorda em participar desta pesquisa. Desta forma, assino este termo, juntamente com o pesquisador, em duas vias de igual teor, ficando uma via sob meu poder e outra em poder do pesquisador.

Local, data.

Assinatura.....

Assinatura do pesquisador .....

Anexo 3 - Termo de doação de amostras biológicas

São Paulo, 20 de outubro de 2021

Prezado (a) Sr.(a)
Coordenador(a) da CEUA

Eu, Luciano Henrique Giovaninni, proprietário do laboratório Lead – auxílio ao diagnóstico veterinário, localizado na Av. Gal. Ataliba Leonel, 3080, São Paulo-SP, sob CNPJ 16.941.481-0001/70, estou ciente de que as amostras de soro e plasma colhidas neste estabelecimento serão doadas para os Projetos: "Pesquisa sorológica em cães para bactérias do gênero Rickettsia em áreas negligenciadas na região metropolitana de São Paulo, SP, Brasil" e "Soroprevalência de anticorpos contra Toxoplasma gondii e Neospora caninum em cães domiciliados atendidos em Hospitais Públicos Veterinários da região metropolitana de São Paulo", no qual serão utilizadas para sorodiagnóstico, sob orientação dos docentes Dr. Jonas Moraes Filho e Dra. Solange Maria Gennari. Declaro que estou ciente das propostas das pesquisas apresentadas.

Sem mais

Prof. Dr. Luciano Henrique Giovaninni

Prof. Dr. Luciano H. Giovaninni
Médico Veterinário
CRMV-SP 7929