

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**CAMPANHA DE VACINAÇÃO CONTRA CINOMOSE COMO FERRAMENTA
DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA, RESPOSTA IMUNE HUMORAL PARA
PARVOVIRUS CANINO E EVENTOS ADVERSOS PÓS-VACINAIS EM CÃES
NO DISTRITO DE RUBIÃO JÚNIOR, BOTUCATU- SP.**

CAMILA FERNANDA DOS SANTOS SANTANA

Botucatu - SP
Junho de 2018.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

**CAMPANHA DE VACINAÇÃO CONTRA CINOMOSE COMO FERRAMENTA
DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA, RESPOSTA IMUNE HUMORAL PARA
PARVOVIRUS CANINO E EVENTOS ADVERSOS PÓS-VACINAIS EM CÃES
NO DISTRITO DE RUBIÃO JÚNIOR, BOTUCATU- SP.**

CAMILA FERNANDA DOS SANTOS SANTANA

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

Orientadora: Prof.^a Titular Jane Megid

Botucatu - SP
Junho de 2018.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM. DIVISÃO TÉCNICA
DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

Santana, Camila Fernanda dos Santos.

Campanha de vacinação contra cinomose como ferramenta de vigilância epidemiológica, resposta imune humoral para parvovirus canino e eventos adversos pós-vacinais em cães no Distrito de Rubião Júnior, Botucatu- SP / Camila Fernanda dos Santos Santana. - Botucatu, 2018

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Orientador: Jane Megid

Capes: 50500007

1. Epidemiologia. 2. Doenças transmissíveis. 3. Saúde pública. 4. Medicina veterinária. 5. Cães.

Palavras-chave: Doenças infecciosas em cães; Epidemiologia;

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: LUCIANA PIZZANI-CRB 8/6772

Nome do autor: Camila Fernanda dos Santos Santana

Título: CAMPANHA DE VACINAÇÃO CONTRA CINOMOSE COMO FERRAMENTA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA, RESPOSTA IMUNE HUMORAL PARA PARVOVIRUS CANINO E EVENTOS ADVERSOS PÓS VACINAIS EM CÃES NO DISTRITO DE RUBIÃO JÚNIOR, BOTUCATU- SP.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof.^a Titular Jane Megid
Presidente e Orientadora
Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública
FMVZ- UNESP- Botucatu

Prof. Adj. Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza
Membro
Departamento de Doenças Tropicais e Diagnóstico por Imagem
FMB- UNESP- Botucatu

Prof.^a Ass. Dr. José Carlos de Figueiredo Pantoja
Membro
Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública
FMVZ- UNESP- Botucatu

Prof. Ass. Dr. Cassiano Victória

Suplente

Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública

FMVZ- UNESP- Botucatu

Prof. Dr^a. Adriana Cortez

Suplente

UNISA- São Paulo

Data: 15 de junho de 2018.

*Àqueles que sempre me apoiaram e orientaram em
todos os momentos da minha vida:*

À minha mãezinha, Dinda e Vovô (in memoriam).

AGRADECIMENTOS

À Deus por mais essa etapa concluída e por todas as oportunidades de evolução que tenho vivenciado desde a minha vinda ao mundo.

À minha mãe, Marilene Santana, mulher guerreira e batalhadora. Obrigada por ter dedicado sua vida a mim, mãezinha. Espero poder retribuir tudo o que a sra já fez por mim!

À minha Dinda Fernanda Velloso, personificação do sentimento mais generoso que existe nesse mundo: amor. Obrigada por ter escolhido se responsabilizar por mim independente de laços familiares ou qualquer obrigação. Se eu cheguei até aqui, a sra foi e é o meu maior exemplo e inspiração para isso.

Ao meu dindo/pai/vô Fernando Velloso (*in memoriam*). Gratidão eterna pela oportunidade de viver e aprender contigo. Te amo, vô!

À família Canteli, especialmente Dona Leonice Canteli, terceira mãe que conheci nesse caminho e que me “adotou” desde que cheguei à Botucatu. Seu carinho e cuidado foram muito importantes pra mim.

À minha orientadora Prof^a Jane Megid, por ser a idealizadora da campanha de vacinação contra a cinomose do presente estudo. Gratidão pela amizade, pelo convite de mestrado, por ter me inserido no “mundo” da saúde única e, principalmente, pela compreensão e apoio nessa caminhada.

Ao Prof. Márcio Garcia Ribeiro, meu preceptor desde a primeira vinda à Botucatu, na época de estágio, até a residência. Gratidão pela oportunidade de aprendizado e pela grande contribuição em minha banca de qualificação.

À Prof^a Marília Junqueira pela contribuição em minha banca de qualificação, enfatizando minha atenção à medicina veterinária preventiva e que eu me posicionasse para jamais esquecer o papel do médico veterinário na saúde pública.

Ao Prof. Pantoja pelo apoio nas análises estatísticas, pelo aprendizado durante as aulas e por aceitar participar dessa banca de defesa. Espero poder aprender cada vez mais sobre epidemiologia.

Ao Prof. Carlos Magno por, prontamente, aceitar a participação nesta banca de defesa.

À equipe técnica do Laboratório de Biologia Molecular pela oportunidade de aprender e vivenciar um pouco da rotina de trabalho exercida ali, principalmente, à Bruninha, sempre prestativa e que me salvou várias vezes baixando artigos que eu não conseguia abrir em casa.

Às amigas que conheci ao morar com a família Canteli: Bruna (arriégua), Mirian (Sorriso), Carla (Rekebrada) e a Hermana Marina Gobbo. Obrigada pelas risadas, jantares compartilhados e produtivos finais de semana. Vocês fizeram minha mudança à Botucatu ser mais leve.

A amiga Ana Cláudia, paraense que o universo fez questão que eu conhecesse e então sincronizou nosso encontro em Botucatu. Obrigada por me inspirar na jornada acadêmica. Agora é rumo ao doutorado!

Aos amigos de residência que me fizeram fazer parte da família MI. Foram os momentos de maior transformação e aprendizado da minha vida, gratidão por fazerem parte dessa fase!

Aos amigos de pós-graduação: Carol Lechinski, André Rocha (vulgo, dedezin do arrocha), Noelle e Marília Caxito (Uro). Obrigada pelo companheirismo e apoio nessa caminhada em comum.

Aos técnicos e funcionários: Cris, Cleide, Sr. Roberto, Adilson (Pardal) e Adriana pela amizade, momentos de descontração e pelo cafezinho da copa.

À FMVZ-Unesp/ Botucatu pela oportunidade de aprimoramento profissional e a todos os professores que contribuíram para minha formação nesse processo.

À CAPES pelo apoio financeiro, permitindo que eu conseguisse me manter em Botucatu para a realização desse estudo.

Gratidão a todos aqueles que, de alguma forma, colaboraram para a realização desse estudo!

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Inquérito epidemiológico aplicado aos tutores participantes da campanha de vacinação contra a cinomose, Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.	21
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Características demográficas dos cães participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013 (variáveis categóricas).	29
Tabela 2- Associação das variáveis sexo e idade com o histórico de vacinação contra cinomose reportado por tutores participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.....	30
Tabela 3- Frequência relativa de respostas relacionadas a guarda responsável, dos tutores participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.....	31
Tabela 4- Associação do histórico de vacinação contra cinomose e o conhecimento da doença, reportado por tutores participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.....	32
Tabela 5- Histórico de vacinação contra cinomose de acordo com o conhecimento a doença, reportado por tutores participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.....	32
Tabela 6- Associação da realização de vacina ética e o conhecimento da doença, reportado por tutores participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.....	33
Tabela 7- Uso de vacina ética de acordo com o conhecimento a doença, reportado por tutores participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.....	33

Tabela 8- Associação da vacina administrada previamente nos cães e o ano da última dose administrada, segundo o histórico vacinal reportado pelos tutores durante a campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013	35
--	----

Tabela 9- Uso de vacina antirrábica de acordo com o ano da última dose administrada, segundo o histórico vacinal, reportado pelos tutores durante a campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013	35
--	----

Tabela 10- Associação dos animais desvermifugados e o ano de realização da última dose de antiparasitário, reportado pelos tutores durante a campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013	36
---	----

Tabela 11- Tipo de alimento fornecido, reportado pelos tutores, aos animais participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013	36
---	----

Tabela 12- Variáveis contínuas dos títulos de anticorpos dos cães submetidos à colheita de sangue durante a campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013	37
--	----

Tabela 13- Associação de possíveis fatores de risco de leptospirose, em amostras sororreagentes (N=52) para <i>Leptospira</i> spp. de cães participantes da campanha de vacinação contra cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013... ..	41
--	----

Tabela 14- Distribuição dos títulos máximos dos sorovares dominantes e das co-aglutinações anti- <i>Leptospira</i> spp. na prova de soroaglutinação microscópica (SAM) em 52 amostras sororreagentes de cães participantes da campanha de vacinação contra cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.....	42
---	----

Tabela 15- Associação de possíveis fatores de risco de toxoplasmose em amostras sororreagentes (N=178) para <i>T. gondii</i> , de cães participantes da campanha de vacinação contra cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013	43
Tabela 16- Associação de possíveis fatores de risco de erliquiose em amostras sororreagentes (N=316) para <i>E. canis</i> , de cães participantes da campanha de vacinação contra cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013	44
Tabela 17- Associação entre os títulos de anticorpos contra <i>E. canis</i> na prova de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) (N=189) e o exame de Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) em cães participantes da campanha de vacinação contra cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013	45
Tabela 18- Associação de possíveis fatores de risco de cinomose em amostras sororreagentes (N=94) para o Vírus da Cinomose canino, em cães participantes da campanha de vacinação contra cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013	46
Tabela 19- Associação de possíveis fatores de risco de parvovirose em amostras sororreagentes (N=305) para o Parvovirus canino, em cães participantes da campanha de vacinação contra cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013	47
Tabela 20- Valores de média, desvio padrão, mediana, 1° e 3° quartis, mínimo e máximo da titulação de anticorpos contra Parvovirus canino, imediatamente antes da aplicação da vacina em cães (N=187) participantes da campanha no de vacinação contra cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013	49

Tabela 21- Associação entre as variáveis explanatórias e o aumento percentual relativo à soroconversão de anticorpos anti- Parvovirus canino de cães participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013 50

Tabela 22- Distribuição das amostras destinadas à sorologia para detecção de anticorpos contra o Virus Cinomose canina, Parvovirus Canino, Toxoplasma gondii, Ehrlichia canis e Leptospira spp. de cães participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013..... 77

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1- Vacinas administradas previamente nos cães participantes da campanha de vacinação contra a cinomose, segundo o histórico vacinal reportado pelos tutores. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013. 34
- Figura 2- Representação gráfica dos valores de mediana, 1º e 3º quartis, valores mínimos, máximos do título de anticorpos contra leptospirose, toxoplasmose, erliquiose, cinomose e parvovirose pré-vacinação em cães participantes da campanha de vacinação contra a cinomose, Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013. 38
- Figura 3- Distribuição do título de anticorpos contra *Leptospira* spp., *T. gondii*, *E. canis*, CDV e CPV em cães participantes da campanha de vacinação contra a cinomose, Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013. 40
- Figura 4- Representação gráfica dos valores de mediana, 1º e 3º quartis, valores mínimos, máximos do título de anticorpos contra parvovirose pré e pós vacinação em cães (N=187) participantes da campanha de vacinação contra a cinomose, Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013 48
- Figura 5- Distribuição dos títulos de anticorpos anti- Parvovirus pré-vacinação e pós vacinação em cães (N=187) participantes da campanha de vacinação contra a cinomose, Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013. 49
- Figura 6- Observação de alterações clínicas após vacinação de cães (N=19) participantes da campanha de vacinação contra a cinomose, Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013 51

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	5
2.1. Ações de Vigilância Epidemiológica	5
2.2. Campanhas de Vacinação	6
2.3. Diretrizes Vacinais de cães e gatos.....	6
2.4. Resposta Imunogênica.....	8
2.5. Eventos Adversos Pós-vacinais	8
2.6. Enfermidades infectocontagiosas em animais de companhia.....	9
2.6.1. Leptospirose	9
2.6.2. Toxoplasmose.....	10
2.6.3. Erliquiose	12
2.6.4. Parvovirose	13
2.6.5. Cinomose.....	15
3. OBJETIVOS	17
3.1. Geral	17
3.2. Específicos.....	17
4. MATERIAL e MÉTODOS.....	18
4.1. Área de estudo.....	18
4.2. Campanha de vacinação.....	18
4.3. Colheita das amostras e vacinação dos animais	20
4.4. Métodos diagnósticos.....	22
4.4.1. Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)	22

4.4.2.	Soroaglutinação Microscópica (SAM).....	24
4.4.3.	Soroneutralização (SN)	24
4.4.4.	Inibição da Hemaglutinação (HI)	25
4.4.5.	Avaliação da imunogenicidade pós-vacinal	27
4.4.6.	Reação em Cadeia Polimerase (PCR)	27
4.5.	Métodos estatísticos: coleta, organização de dados e análises.....	28
4.5.1.	Organização de dados (planilha).....	28
4.5.2.	Análises estatísticas.....	28
5.	RESULTADOS.....	29
5.1.	Características demográficas dos cães participantes da campanha.....	29
5.2.	Perfil do tutor participante da campanha quanto à guarda responsável	30
5.3.	Perfil sorológico de anticorpos contra <i>Leptospira</i> spp, <i>T. gondii</i> , <i>E. canis</i> , CDV e CPV	37
5.3.1.	Distribuição de anticorpos contra leptospirose	41
5.3.2.	Distribuição de anticorpos contra toxoplasmose.....	43
5.3.3.	Distribuição de anticorpos contra erliquiose	44
5.3.4.	Distribuição de anticorpos contra cinomose	46
5.3.5.	Distribuição de anticorpos contra parvovirose	47
5.4.	Resposta Imunogênica.....	48
5.5.	Alterações clínicas observadas após a vacinação.....	51
6.	Discussão.....	52
6.1.	Características demográficas dos cães participantes da campanha.....	52
6.2.	Perfil do tutor participante da campanha quanto à guarda responsável.....	54
6.2.1.	Imunização.....	54
6.2.2.	Controle de parasitos	58
6.2.3.	Nutrição.....	60

6.3.	Perfil sorológico de anticorpos contra <i>Leptospira</i> spp, <i>T. gondii</i> , <i>E. canis</i> , CDV e CPV	60
6.3.1.	Distribuição de anticorpos contra leptospirose	60
6.3.2.	Distribuição de anticorpos contra toxoplasmose.....	63
6.3.3.	Distribuição de anticorpos contra erliquiose	65
6.3.4.	Distribuição de anticorpos contra cinomose	68
6.3.5.	Distribuição de anticorpos contra parvovirose	69
6.4.	Resposta Imunogênica.....	70
6.5.	Alterações clínicas observadas após a vacinação	74
7.	LIMITAÇÕES	76
8.	CONCLUSÕES	78
9.	REFERÊNCIAS.....	79
10.	TRABALHO CIENTÍFICO	113

RESUMO

SANTANA, C.F. S. **Campanha de vacinação contra cinomose como ferramenta de vigilância epidemiológica. Resposta imune humoral para Parvovirus canino e eventos adversos pós vacinais em cães no Distrito de Rubião Júnior, Botucatu- SP.** Botucatu, 2017. 124 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

Foi realizada uma campanha de vacinação contra a cinomose no período de 2013 a 2014, em bairros periféricos da região de Botucatu, SP, a fim de imunizar os cães contra cinomose devido às elevadas taxas de morbimortalidade, ampla disseminação e prognóstico reservado da enfermidade. O objetivo do presente estudo foi analisar a situação de saúde dos cães por meio da avaliação da soropositividade para agentes infecciosos, verificar a proteção induzida contra parvovirus canino pela vacina comercial utilizada e o perfil de práticas de guarda responsável dos tutores. Foram realizados os testes sorológicos de reação de imunofluorescência indireta, soroaglutinação microscópica, soroneutralização e inibição da hemaglutinação, respectivamente, para: *Toxoplasma gondii* e *Ehrlichia canis*; *Leptospira* spp.; Virus Canino da Cinomose (CDV) e Parvovirus canino (CPV). A avaliação da parasitemia por *E. canis* foi realizada por meio da PCR. A proteção vacinal induzida contra parvovirose foi avaliada por meio da soroconversão de anticorpos anti- CPV. Foi observada sororreatividade nos testes sorológicos para *Lepstospira* spp. (43,33%), *T.gondii* (52,97%), *E. canis* (72,14%), CDV (17,24%) e CPV (91,86%). A parasitemia por *Ehrlichia canis* foi confirmada em 13,33% das amostras. O aumento percentual médio da soroconversão foi de 1545,65%. Maior percentual de práticas de guarda responsável foi observada entre os tutores que afirmaram conhecer a cinomose e entre os que confirmaram realização de vacina antirrábica. Os dados encontrados poderão auxiliar no planejamento de condutas multidisciplinares entre setores públicos e sociedade para promover ações voltadas para melhor qualidade de vida dos animais e da população.

Palavras-chave: epidemiologia; doenças infecciosas em cães; guarda responsável; medicina veterinária preventiva.

ABSTRACT

SANTANA, C.F. S. **Canine distemper vaccination campaign as tool for epidemiological surveillance, humoral immune response to Canine Parvovirus and post-vaccinal adverse events in dogs from district of Rubião Júnior, Botucatu- SP.** Botucatu, 2017. 124 p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".

A vaccination campaign against canine distemper was carried out between 2013 and 2014, in peripheral districts of the Botucatu region, SP, aiming to immunize dogs against distemper due to the high rates of morbidity and mortality, widespread dissemination and reserved prognosis of the disease. The objective of the present study was to analyze the participating dogs health status by seropositivity evaluation for infectious agents, to verify the induced protection against Canine Parvovirus by the commercial vaccine used during the campaign and the profile of responsible pet ownership practices of the tutors. The following tests of indirect immunofluorescence, microscopic sero-agglutination, seroneutralization and haemagglutination inhibition were performed for: *Toxoplasma gondii*, *Leptospira* spp., Canine Canine Virus (CDV) and Canine Parvovirus (CPV). Indirect immunofluorescence reaction and PCR were performed for ehrlichiosis. . Vaccine protection induced against parvoviruses was evaluated by seroconversion of antibodies to Canine Parvovirus. Seroreactivity was observed in the serological tests performed with the following percent of positivity: *Leptospira* spp. (43.33%), *T. gondii*, (52.97%), *E. canis* (72.14%), CDV (17.24%%) and CPV (91.86%%). *Ehrlichia canis* was detected in 13.33% (28/210) of the samples by PCR in blood. The mean percentage variation of seroconversion was 1545.65%. A higher proportion of responsible pet ownership practices was observed among the tutors who confirmed knowledge about the distemper and who confirmed the accomplishment of anti-rabies vaccine. The data found could help to plan multidisciplinary actions between public sectors and civil societies aimed to improve the animal and human's life quality.

Key words: epidemiology; canine infectious diseases; responsible keeper; preventive veterinary medicine.

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

No Brasil, a população de animais de companhia ocupa o 4º lugar no ranking mundial. Em relação a cães e gatos, o país ocupa o 2º lugar com, aproximadamente, 106 milhões de animais (DOMINGUES, 2012; LIMA; LUNA, 2012). O estudo das populações caninas, visando o conhecimento do potencial desempenhado por estes animais como reservatórios de zoonoses representa uma ferramenta importante uma vez que o cão é fonte de infecção de inúmeras doenças transmissíveis reservatórios de zoonoses, (HAN et al., 2017).

As zoonoses estão entre as principais doenças que afetam o homem. Dentre elas, leptospirose, brucelose e toxoplasmose são importantes enfermidades infecciosas que possuem ampla distribuição mundial, podendo ser transmitidas pelo cão e acometer o homem como hospedeiro acidental na cadeia epidemiológica (ALTON et al., 2009; BENITEZ et al., 2017).

As doenças virais nos cães representam as principais causas de mortes, nesta espécie, durante os primeiros anos de vida, principalmente em animais não vacinados. Parvovirose e hepatite infecciosa canina permanecem com elevados índices de morbidade e mortalidade em cães do mundo. A cinomose destaca-se devido à ampla disseminação e contagiosidade viral (KNOBEL et al., 2014).

Apesar da alta taxa de morbidade e mortalidade, a ocorrência da doença é considerada bem controlada e até rara em muitos países desenvolvidos devido à ampla cobertura vacinal (MACLACHLAN; DUBOVI, 2011). Entretanto, no Brasil, ainda é endêmica e uma das principais causas de doenças infecciosas em cães. Tem-se observado o aumento da descrição da doença em hospedeiros não-convencionais no meio selvagem, podendo representar risco de vida dessas espécies pois os cães são os principais hospedeiros de manutenção e fonte de infecção do vírus para essas espécies (HÜBNER et al., 2010; MEGID et al., 2013; BEINEKE et al., 2015).

Considera-se que o grau de infecção da cinomose seja maior que o grau de doença clínica, e que acima de 50% das infecções em cães domésticos

possam ser subclínicas (GREENE; VANDEVELDE, 2012). Estudos soroepidemiológicos realizados em diferentes regiões do Brasil demonstraram percentuais de prevalência com ampla variabilidade, desde 6,5% a 71,2% (BRITO et al., 2016; FERNANDES et al., 2013). No entanto, essa diferença pode estar relacionada a fatores como o método de investigação realizado, o estado imunológico dos animais e as condições locais (HEADLEY et al., 2012).

Embora a vacinação tenha reduzido a incidência da cinomose, fatores como a presença do vírus no ambiente e em animais doentes, o aparecimento de novas cepas virais e o desenvolvimento do quadro clínico mesmo em animais vacinados têm contribuído para a manutenção do caráter enzoótico e a ocorrência ocasional de surtos (FREITAS-FILHO et al., 2014).

Segundo Headley et al. (2012), estima-se que os impactos econômicos relativos ao tratamento e consulta de cães com suspeita de cinomose, baseado em dados de pesquisas realizadas no Brasil, seja de, aproximadamente, R\$ 258,3 milhões ao ano. Embora sejam valores baseados em estimativas, ainda que os valores reais fossem 50% ou até mesmo 25% menores, os custos anuais são elevados uma vez que podem corresponder de 0,01% - 0,007% no crescimento anual do PIB (Produto Interno Bruto) no país.

Com a finalidade de imunizar os animais e conscientizar os tutores sobre a importância da vacinação para prevenção de doenças, foi realizada campanha de vacinação direcionada a proteção contra a cinomose no período de 2013 a 2014, em um bairro periférico da região de Botucatu, SP.

O presente estudo foi realizado com o objetivo de analisar as informações obtidas com base no inquérito epidemiológico aplicado durante campanha de vacinação e os exames laboratoriais realizados a fim de caracterizar a população de cães participantes, analisar o perfil dos tutores quanto à guarda responsável, a proteção para parvovirose induzida pela vacina comercial utilizada e os eventos adversos reportados pelos tutores após a vacinação.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Ações de Vigilância Epidemiológica

A epidemiologia de saúde pública produz conhecimento capaz de promover saúde individual por meio de medidas de alcance coletivo. Para definir um diagnóstico global e estabelecer intervenções adequadas, o método epidemiológico se inicia com o estudo dos fatores determinantes da saúde de uma população, a partir de informações obtidas em levantamentos primários (ROGAWSKI et al., 2016).

A Vigilância Epidemiológica é definida pela Lei nº 8.080/90 como “um conjunto de ações que proporciona o conhecimento, a detecção ou prevenção de qualquer mudança nos fatores determinantes e condicionantes de saúde individual ou coletiva, com a finalidade de recomendar e adotar as medidas de prevenção e controle das doenças ou agravos”. (BRASIL, 1990)

As principais fontes de informação para os sistemas de vigilância epidemiológica das zoonoses são: sistemas de informação em saúde, laboratórios de diagnóstico humano e veterinário e dados obtidos por meio de estudos de investigação, inquéritos ou levantamentos epidemiológicos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009). O diagnóstico laboratorial, quando corretamente utilizado, complementa as ações de controle e prevenção, além de fornecer embasamento clínico para a investigação da doença e orientar as medidas de controle mais adequadas (VELASCO et al., 2014).

As primeiras iniciativas voltadas à aplicação da vigilância epidemiológica no Brasil ocorreram na década de 1970, durante a campanha de erradicação da varíola, onde se iniciou o processo de introdução de vacinas, campanhas de vacinação e de vacinação em massa (HOCHMAN, 2011).

2.2. Campanhas de Vacinação

A realização de campanhas de vacinação tem sido sugerida como a principal ferramenta para o controle e prevenção da transmissão de doenças para a população humana e outros animais, além de oferecer boa oportunidade para obtenção de dados epidemiológicos e demográficos de populações caninas (DODET; MESLIN, 2001; CLEVELAND et al., 2006; BELSARE et al., 2013).

No município de Botucatu- SP, a participação dos acadêmicos da Faculdade de Medicina Veterinária em parceria com a Prefeitura Municipal no planejamento das campanhas de vacinação antirrábica permitiu a realização de várias pesquisas ao aproveitar o momento estratégico de execução anual da campanha para coletar dados (BABBONI; MODOLO, 2015).

A aplicação de inquéritos aos tutores e colheita de amostras de sangue dos animais participantes das campanhas de vacinação já resultou em estudos epidemiológicos sobre a soroprevalência de doenças como leptospirose, toxoplasmose e neosporose em cães, além da caracterização demográfica da população canina e o perfil dos tutores quanto às práticas de guarda responsável (MODOLO et al., 2006. MORAES et al., 2008; LANGONI et al., 2011; COSTA et al., 2013).

2.3. Diretrizes Vacinais de cães e gatos

As diretrizes internacionais para vacinação de cães e gatos da Associação Veterinária Mundial de Pequenos Animais (WSAVA) recomendam a administração de vacinas que todo cão deve receber, independente de sua origem e estilo de vida. São produtos classificados como essenciais e que protegem contra doenças de distribuição global, que possam representar risco zoonótico, e/ou que não tenham tratamento eficaz, e/ou risco de óbito, sendo elas: raiva, cinomose, parvovirose e hepatite infecciosa canina (DAY et al., 2016).

Vacinas não-essenciais são indicadas para cães cuja localização geográfica, ambiente doméstico ou estilo de vida se apresentem como fator de

risco para contrair infecções específicas como a leptospirose (ANGÉLICO; PEREIRA, 2012; DAY et al., 2016).

As vacinas essenciais, em geral, são vacinas com longa duração e, recentemente, foram licenciadas com indicação para revacinação trienal dos animais, em países europeus e norte-americanos. No entanto, no Brasil os mesmos produtos ainda são licenciados para revacinação anual devido menor cobertura vacinal e elevada prevalência de doenças virais como cinomose e parvovirose (ANGÉLICO; PEREIRA, 2012).

O conceito de “imunidade de rebanho” dos animais tem sido lentamente incorporado às práticas da medicina de pequenos animais, onde através da imunização individual busca-se também reduzir o número de animais susceptíveis na população regional e, conseqüentemente, a prevalência de doenças. Para isso, é necessário vacinar a maior quantidade possível de animais em uma população (MITCHELL et al. 2012).

Em países desenvolvidos, estima-se que a população de cães e gatos vacinada contra as principais doenças infecciosas virais varie de 30 a 50%. Embora não sejam valores precisos, essa estimativa é menor nos países em desenvolvimento (ANON, 2013).

No Brasil, o fornecimento gratuito da vacina antirrábica aos animais reduziu eficientemente os casos de raiva humana e animal (BRASIL, 2017). No entanto, as vacinas contra cinomose e parvovirose, também essenciais aos cães, são fornecidas apenas pelo setor privado e a cobertura vacinal acaba sendo menor (FIGHERA et al., 2008; DEL PUERTO, 2010).

A adaptação e adesão às atualizações dos protocolos vacinais para cães dependem, na prática, do papel educativo dos veterinários, exercido através da divulgação aos tutores de informações sobre guarda responsável para que as práticas preventivas sejam executadas adequadamente e bem sucedidas (ANGÉLICO e PEREIRA, 2012; CIPOLLA et al., 2015).

2.4. Resposta Imunogênica

O método mais objetivo de se avaliar a eficácia de uma vacina é monitorar animais desafiados com o agente patogênico após a vacinação. Nesse caso, a eficácia é avaliada pela capacidade de reduzir a excreção do agente e, principalmente, pela prevenção da doença. No entanto, esse método apresenta alguns obstáculos como o custo mais elevado, a dificuldade crescente do uso de animais para experimentação e incerteza quanto à cepa e dose viral a ser utilizadas no desafio (CANAL; VAZ, 2012).

No controle de qualidade de vacinas, a capacidade imunogênica pode ser avaliada pela detecção e quantificação da resposta sorológica após a vacinação, tanto em animais de biotério (camundongos, cobaias e coelhos) quanto nas espécies-alvo para as quais a vacina é indicada (CRAVEIRO, 2008).

A quantificação de anticorpos é o método mais utilizado para avaliar o potencial imunogênico de antígenos vacinais em curto prazo (30 a 60 dias). Vários estudos apontam para uma boa correlação entre a imunidade humoral e a proteção antiviral, ou seja, os níveis de anticorpos são bons indicadores da capacidade de resistência antiviral do animal vacinado (ABDELMAGID et al., 2004; ALMENDRA et al., 2005; TAGUCHI et al., 2012; VILA NOVA, 2017).

2.5. Eventos Adversos Pós-vacinais

O conceito de reação adversa à vacina é definido como sendo qualquer manifestação clínica desfavorável que ocorra no indivíduo que recebeu a vacina, implicando em relação causal com o produto biológico administrado. Manifestações clínicas que ocorram após a vacinação e que não tenham sido necessariamente causadas pela mesma, são referidas como eventos adversos (BRASIL, 2003; AAHA, 2011).

Os efeitos associados mais comuns são eventos adversos, transitórios em geral, tais como apatia, febre, inapetência e dor no local da aplicação.

Contudo, podem ocorrer reações de hipersensibilidade do tipo I, II, III e IV (WOLF, 2010; CANAL; VAZ, 2012).

Nenhuma vacina é totalmente isenta de riscos. Reações adversas podem ocorrer devido à composição dos produtos como a presença de adjuvantes e o agente infeccioso vivo (atenuado/ modificado) ou morto (inativado). As vacinas recombinantes são mais seguras, uma vez que o agente infeccioso é submetido a processos que neutralizam seu potencial infeccioso e impossibilita o desenvolvimento da doença (CAETANO, 2011; CANAL; VAZ, 2012).

Determinar a frequência de efeitos adversos ao uso de vacina depende do relato dos veterinários ou tutores junto aos fabricantes do produto, sendo a incidência uma informação amplamente desconhecida. (TIZARD; SCHUBOT, 2009; DAY et al., 2016).

2.6. Enfermidades infectocontagiosas em animais de companhia

2.6.1. Leptospirose

A leptospirose é uma doença infectocontagiosa sistêmica, causada por bactérias do gênero *Leptospira*, de distribuição mundial e ocorrência sazonal de maior frequência em regiões tropicais e subtropicais associada a altos índices de pluviosidade (ADLER; MOCTEZUMA, 2010). Acomete diversas espécies de animais domésticos, silvestres, roedores e, acidentalmente, o homem resultando em importante problema de saúde pública, além das perdas econômicas quando presente em animais de produção (MONAHAN et al., 2009; CASTRO, 2011).

Diversos animais domésticos e selvagens são considerados portadores renais responsáveis pela manutenção da *Lepstospira* spp. no ambiente. Um hospedeiro de manutenção é definido como um animal capaz de atuar como fonte natural de infecção de sorovares específicos de *Lepstospira* spp. para sua própria espécie (LEVETT et al., 2001; TAGLIABUE et al., 2016). No meio

urbano, o rato de esgoto (*Rattus norvegicus*) e os cães são os principais reservatórios da leptospirose (ROJAS et al., 2010).

Inquéritos sorológicos realizados em populações caninas brasileiras apresentam índices de prevalência variando desde < 10% até 85% (VIEGAS et al., 2001; FAVERO et al., 2002; MASCOLLI et al., 2002; BATISTA et al., 2004; BATISTA et al., 2005; BRANDESPIM et al., 2005; BLAZIUS et al., 2005; MODOLO et al., 2006; SILVA et al., 2006; MAGALHÃES et al., 2007; SARMENTO et al., 2007).

A técnica padronizada e recomendada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) e pelo Ministério de Saúde no Brasil (BRASIL, 2009), estabelecida como padrão-ouro no diagnóstico de leptospirose humana e animal, é a Soroaglutinação Microscópica (SAM) com a utilização de antígenos vivos. No entanto, esse método detecta principalmente imunoglobulinas da classe IgM, não relacionadas à proteção uma vez que a imunidade gerada pela vacina resulta no aumento predominante de anticorpos da classe IgG. A vacinação induz a produção de IgG com títulos baixos (100 a 400) e transitórios (um a quatro meses), portanto, títulos negativos ou baixos na SAM não indicam ausência de proteção (COYNE et al., 2001; LANGONI et al., 2012).

2.6.2. Toxoplasmose

A toxoplasmose é uma zoonose amplamente distribuída no mundo, causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*). Acomete todos os animais homeotérmicos, sendo os gatos e outros felídeos hospedeiros definitivos do agente, e principais fontes de infecção para os animais de companhia e de produção (PINHEIRO Jr. et al., 2009; DUBEY, 2010; CARNEIRO et al., 2014).

Em geral apresenta-se assintomática tanto em humanos quanto em animais, permanecendo em estágio latente ou crônico. Quadros clínicos com manifestações mais grave estão relacionados à doenças imunossupressoras, que caracteriza o agente como oportunista (SANTOS et al., 2000; DUBEY et al., 2012).

No Brasil, há relatos de prevalência em humanos alcançando valores acima de 80% em regiões específicas (GLASNER et al., 1992; GARCIA et al., 2003; GOMES, 2004). Em felídeos, espécie essencial para a manutenção do ambiente contaminado pelo protozoário, prevalência de 18 a 73% já foi observada enquanto que em cães essa variação, no Brasil, foi de 8,2 a 88,2% comparada a 16,8 e 67,4% no restante do mundo (SILVA; SILVA, 2016).

Do ponto de vista da saúde pública, cães servem como sentinela para infecção ambiental e indicam que a população humana da área onde estes animais se localizam estão expostas aos mesmos fatores de risco para infecção por *T. gondii* (ULLMANN et al. 2008).

As principais vias de transmissão de *T. gondii* são através da ingestão de água e alimentos contaminados com oocistos esporulados ou através da ingestão de cistos teciduais (bradizoítos) em carne crua ou mal cozida (DUBEY, 2010). Os cães são importantes na epidemiologia da toxoplasmose como portadores assintomáticos podendo contribuir na transmissão mecânica dos oocistos no ambiente, após a ingestão de água ou alimentos contaminados, sem a replicação do parasita no intestino (MEIRELES et al., 2004; VANWORMER et al., 2013).

A presença de cães, ou mesmo de outras espécies domésticas infectadas reflete o nível da educação em saúde dos habitantes no local (DA SILVA, et al., 2010; DUBEY et al., 2012; YAN et al., 2012)

O diagnóstico é usualmente baseado em métodos indiretos com testes sorológicos, uma vez que a produção de anticorpos pelo organismo infectado é intensa e precoce, e testes disponíveis apresentam boa sensibilidade e especificidade (GOMES, 2004).

Aspectos de imunoprofilaxia vêm sendo estudados para a produção de vacinas, no entanto, ainda não existem produtos comerciais recomendados para humanos e animais. A maneira mais eficiente de controle da toxoplasmose é a prevenção por meio de medidas relacionadas a evitar

ingestão de cistos e oocistos (GERMANO et al., 1985; SCHARES et al., 2005; COSTA et al., 2013; SILVA; SILVA, 2016).

2.6.3. Erliquiose

Erliquiose Monocítica Canina (EMC) está entre as hemoparasitoses mais graves que acometem os cães, causada pela proteobactéria *Ehrlichia canis*. É uma doença infecciosa, multisistêmica, não contagiosa, com maior prevalência nas áreas de maior distribuição geográfica do carrapato vetor (*Rhipicephalus sanguineus*), principal fator de risco para a infecção (MORAES-FILHO et al., 2011; PAROLA et al., 2013). No Brasil, a doença é endêmica devido à alta exposição dos cães aos carrapatos infectados (FIGUEREDO et al., 2017).

A prevalência da EMC varia de 0,7% a 92% dependendo da população estudada e da técnica utilizada (esfregaço sanguíneo, ELISA, RIFI e técnicas moleculares) (OLIVEIRA et al., 2000; LABARTHE et al., 2003; DAGNONE et al., 2003; BULLA et al., 2004; SAITO et al., 2008; RAMOS et al., 2009; SANTOS et al., 2009; UENO et al., 2009; MELO et al., 2011; SILVA et al., 2012; ROTANDANO et al., 2017).

A EMC manifesta-se sob as formas aguda, subclínica ou crônica, dependendo da virulência da cepa de *E. canis* (VIEIRA et al., 2011). Os cães infectados apresentam sinais clínicos de comprometimento sistêmico, gerais e inespecíficos, tais como depressão, perda de peso, letargia, hiporexia ou anorexia e febre, além de esplenomegalia e linfadenomegalia (CASTRO et al., 2004; HASEGAWA, 2005; NEER, 2006).

O diagnóstico confirmatório ocorre pela visualização de mórulas bacterianas nos monócitos, em exame de esfregaço sanguíneo, por cultivo celular ou detecção do DNA de *E. canis* na Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), esta última capaz de detectar a presença de *E. canis*, antes mesmo da produção de anticorpos devido a sua precisão, sensibilidade e acurácia (WANER; HARRUS, 2000).

O diagnóstico por meio de exames sorológicos deve ser concluído em conjunto com os achados clínicos e resultados de outros exames

complementares. A imunidade humoral não é, aparentemente, protetora, mais indicativa de estímulo antigênico prolongado devido à presença do agente (HARRUS et al., 1997; WANER; HARRUS, 2013). Animais com títulos a partir de 40 indicam exposição prévia ao patógeno, não apresentando obrigatoriamente quadro clínico da doença. É válido ressaltar que não há relação direta entre os títulos de anticorpos anti-*Ehrlichia* e a gravidade dos sinais clínicos. Assim como cães assintomáticos podem apresentar altos títulos de anticorpos, cães sintomáticos podem não apresentar títulos detectáveis (HARRUS et al., 2015).

Devido a inexistência de vacinas disponíveis comercialmente e a ausência de imunidade protetora induzida pela doença, a profilaxia é baseada essencialmente do controle do vetor, o carrapato *R. sanguineus*. Para tanto, o uso de produtos acaricidas no ambiente, aliado ao uso de produtos tópicos e orais no animal são eficazes, desde que seja realizado o manejo correto com aplicação periódica, de acordo com as condições do habitat do animal (WOODY et al., 1991; SANTARÉM; AGUIAR, 2016).

2.6.4. Parvovirose

A parvovirose canina é uma das principais causas de diarreia de origem infecciosa em cães no mundo, caracterizada por gastroenterite hemorrágica e imunossupressão (CARMICHAEL, 2005; GODDARD; LEISEWITZ, 2010).

Acomete principalmente filhotes entre seis semanas e seis meses de idade, via oronasal ou conjuntival, gerando altas taxas de morbidade e mortalidade (MEUNIER et al., 1985; MORAES; COSTA, 2012). A morbidade da doença pode chegar a 100% e a mortalidade, a 91% em filhotes (entre 6 semanas e 4 meses) e até 10% em adultos (DEZENGRINI et al., 2007; NANDI et al., 2010).

Desde os primeiros relatos da ocorrência da doença no Brasil (ANGELO et al., 1980; HAGIWARA et al., 1980), o CPV vem se mantendo endêmico na população canina. Estudos realizados no Brasil pela técnica de inibição da hemaglutinação (HI) revelaram resultados com elevada prevalência de 90,9%

em Pelotas- RS (HASS et al., 2008); 94% em Passo Fundo- RS (FRANDALOSO et al., 2004) e 95,1% em Santa Maria- RS (BARCELOS et al., 1988).

O diagnóstico geralmente é presuntivo, baseado no histórico do animal, sinais clínicos e hemograma (MORAES; COSTA, 2007). Contudo, o diagnóstico definitivo é realizado por meio da identificação viral. A detecção indireta do vírus por meio de testes sorológicos pode ser realizada para o diagnóstico de infecção pregressa, ou mesmo para o acompanhamento da condição imunológica do animal (HOSKINS, 2004; CASTANHEIRA et al., 2014).

A forma mais efetiva de prevenção da parvovirose é a vacinação dos cães, particularmente filhotes com idade entre seis e oito semanas, a fim de evitar a susceptibilidade com a queda dos anticorpos maternos. Recomenda-se o isolamento dos animais até a completa imunização em associação às práticas de desinfecção ambiental devido à resistência do vírus, fato que dificulta seu controle (MORAES; COSTA, 2012).

É pressuposto que a duração da imunidade após infecção natural possa durar a vida toda na maioria dos cães e, após protocolo vacinal completo, nove anos ou mais, baseado em estudos experimentais de desafios, seguido de testes sorológicos (SCHULTZ et al. 2010).

Embora a vacinação tenha reduzido bastante a prevalência dessa enfermidade, é de conhecimento geral que continua a afetar grande número de animais e que o agente etiológico está presente na população canina. Isso pode ocorrer devido à resistência do vírus no ambiente (um ano ou mais) e à resposta imunitária variável dos animais por fatores relativos ao imunógeno utilizado, a interferência de anticorpos maternos ou até mesmo a forma de armazenamento da vacina, comprometendo proteção eficaz (TIZARD; NI, 1998; GREENE; VANDEVELDE, 2012).

2.6.5. Cinomose

A cinomose canina é uma doença infectocontagiosa viral, de distribuição mundial que acomete carnívoros domésticos e selvagens (McCARTHY et al., 2007; BEINEKE et al., 2009; GILBERT et al., 2014). É um importante patógeno que apresenta alta morbidade e mortalidade, com letalidade inferior apenas à raiva canina (APPEL; SUMMERS, 1995).

Animais doentes podem apresentar sinais clínicos sistêmicos (digestórios e respiratórios) e/ou neurológicos e que resultam em severa doença. Maior ocorrência é associada a animais jovens, de 3 a 4 meses de idade, relacionada ao desmame e a consequente perda da imunidade passiva (GAMA et al., 2007; MARTELLA et al., 2008; ORSINI; BONDAN, 2008).

Estudos realizados para determinar a prevalência de anticorpos soroneutralizantes para a doença no Brasil apresentaram resultados com índices variando entre 11,6% em Porto Alegre (HARTMANN et al., 2007); 27,3% em Santa Maria, RS (DEZENGRINI et al., 2007), 58,3% em Pelotas, RS e na região sudeste, 71,2% em Taubaté, SP (FERNANDES et al., 2013). Trabalhos realizados em outras regiões do país utilizano a mesma técnica são escassos embora a ocorrência da infecção na população canina do Brasil seja conhecida (GOUVEIA et al., 1987; HEADLEY; GRAÇA, 2000).

A prevenção é realizada por meio da vacinação dos cães, particularmente no período entre ses e oito semanas de idade. No caso de filhotes que não tenham recebido colostro ou que tenham entrado em contato com cães doentes, mas ainda não apresentam sinais clínicos, pode-se administrar soro hiperimune com gamaglobulinas específicas. O soro homólogo pode permanecer ativo entre 15 e 30 dias e, após esse período, recomenda-se a vacinação para induzir imunidade duradoura (MANGIA, 2008).

A proteção após a recuperação de uma infecção natural pode ser vitalícia para a maioria dos cães enquanto que, após protocolo vacinal completo, considera-se por até seis anos (SCHULTZ et al. 2010). Essa proteção é considerada segura a menos que o animal seja submetido a

estirpes da alta virulência, título viral elevado ou quando exposto em estado de imunossupressão. Em países onde a disseminação viral é ampla e o desafio é contínuo, recomenda-se que a vacinação seja anual (GREENE; VANDEVELDE, 2012).

3. OBJETIVOS

3.1. Geral

- Identificar o nível de exposição aos agentes etiológicos de cinco doenças infecciosas e avaliar o desempenho de uma vacina comercial utilizada durante a realização da campanha de vacinação contra a cinomose para cães do Distrito de Rubião Junior, Botucatu- SP em 2013.

3.2. Específicos

- Apresentar as características demográficas da população de cães participantes da campanha de vacinação contra a cinomose;
- Apresentar o perfil do tutor participante da campanha de vacinação contra cinomose quanto às práticas de guarda responsável de cães;
- Apresentar o percentual de soropositividade de anticorpos contra *Leptospira* spp., *Toxoplasmas gondii*, *Ehrlichia canis*, Parvovírus canino e Vírus Canino da Cinomose de cães avaliados durante a campanha de vacinação contra a cinomose;
- Apresentar o percentual de parasitemia por *E. canis* dos cães submetidos ao teste sorológico de detecção de anticorpos anti-*E. canis*;
- Apresentar a soroconversão 30 dias após a primovacinação para anticorpos anti-Parvovírus canino induzidos pela vacina nacional Imuno-vet® (Laboratório BioVet S/A, Vargem Grande Paulista, SP), em cães participantes da campanha de vacinação contra a cinomose;
- Verificar a existência de associação entre a soroconversão de anticorpos anti- Parvovírus canino e as características demográficas dos cães participantes da campanha de vacinação contra a cinomose;
- Apresentar o perfil de eventos adversos após 30 dias da primovacinação reportado pelos tutores dos animais participantes da campanha de vacinação contra a cinomose.

4. MATERIAL e MÉTODOS

4.1. Área de estudo

O estudo foi realizado no Distrito de Rubião Júnior, situado na região mais elevada do município de Botucatu (930m), região centro sul do Estado de São Paulo. Segundo o IBGE, a população estimada no município, em 2017, era de 142.546 habitantes e a população de cães foi estimada em 26.721 no ano de 2015.

O público-alvo da campanha foram tutores de baixa-renda e local em questão foi escolhido como área de estudo por ser um bairro periférico e também estar próximo à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ, no campus da Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", a UNESP, situada no distrito.

4.2. Campanha de vacinação

A campanha de vacinação contra cinomose foi organizada em colaboração com estudantes, residentes e professores do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública e parceria do Laboratório Biovet, sob coordenação da Prof^a Jane Megid, professora titular da disciplina de Enfermidades Infecciosas dos Animais Domésticos e de Cassiano Victória, professor assistente da disciplina de Planejamento em Saúde da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ- UNESP, campus Botucatu) no período de 2013 a 2014. Antes de cada campanha, foram realizadas palestras nas Unidades Básicas de Saúde (UBS) para esclarecer a proposta do evento e a importância da cinomose por meio de vídeos demonstrando os sinais clínicos da doença. Foram distribuídos folders contendo breve resumo das principais doenças infecciosas de cães, bem como a importância da vacinação para prevenção dessas enfermidades.

A campanha de vacinação foi esquematizada prevendo colheitas de sangue, durante o período da primovacinação, realizada em três finais de semana seguidos, para avaliação da exposição prévia dos animais a agentes

infecciosos de importância aos cães e para analisar os títulos de anticorpos induzidos pela primovacinação 30 dias após a vacinação coincidente com o momento de revacinação. Visando estimular o retorno dos tutores para a reavaliação dos animais primovacinados, com o objetivo, também, de realizar a vermifugação dos animais, doses de vermífugo Vermivet Plus® 600mg (Laboratório BioVet S/A, Vargem Grande Paulista, SP) foram distribuídos.

Cartazes no distrito de Rubião Jr. e anúncios no site da FMVZ-UNESP/Botucatu, SP, foram publicados para divulgar data e local da campanha de vacinação. Os animais foram vacinados com a vacina Imuno-vet® (Laboratório BioVet S/A, Vargem Grande Paulista, SP), vacina polivalente V8 contendo associação dos vírus da cinomose, hepatite infecciosa canina, adenovírus tipo 2, Parainfluenza e Parvovirose (CPV-2), modificados por passagens em cultura celular, liofilizados e do concentrado e lisado de *Leptospira Canicola*, *L. Icterohaemorrhagiae*, *L. Grippotyphosa*, *L. Copenhageni* e *L. Pomona*, ressuspendidas no antígeno de coronavírus, inativado, gentilmente cedida pelo laboratório produtor.

A campanha de vacinação teve o apoio da Pró-Reitoria de Extensão da UNESP, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, do Laboratório Biovet e da Secretaria de Saúde do Município de Botucatu, sem custo algum para os tutores.

Como critério de protocolo vacinal, foi estipulado que animais com mais de 1 ano que apresentavam vacinas atualizadas ou desatualizadas receberiam apenas uma dose; os nunca vacinados receberiam 2 doses e cães com menos de 1 ano e não vacinados receberiam 3 doses, especialmente filhotes com base nas diretrizes para vacinação de cães e gatos da World Small Animal Veterinary Association (WSAVA) (DAY et. al., 2010). Fêmeas prenhes e filhotes com menos de 30 dias foram critérios de exclusão na participação deste estudo e não foram vacinados. Para avaliar a resposta humoral conferida pela vacina utilizada durante a campanha e outras análises associadas à titulação de

exames sorológicos, os cães foram divididos em 4 faixas etárias: 0 a 1 ano; >.1 a 2 anos; >2 a 5 anos e >5 anos (DAY, et al., 2016).

4.3. Colheita das amostras e vacinação dos animais

Não houve parâmetro para estabelecer o tamanho da amostra, sendo obtida por conveniência, de acordo com a participação de tutores que concordaram em responder ao questionário aplicado.

Os tutores assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e preencheram o questionário de identificação, junto com um membro da equipe. Após o consentimento, foi realizado inquérito epidemiológico a fim de identificar possíveis fatores de risco. O questionário abordou variáveis referentes à idade, sexo, dieta (comida caseira ou ração comercial), histórico de vacinação, contato com animais, conhecimento da doença, dentre outras (Quadro1).

Quadro 1: Inquérito epidemiológico aplicado aos tutores participantes da a campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Nº cadastro animal:

Nome do animal: _____ idade _____

Sexo M() F () raça: _____

Endereço _____ Bairro: _____

Proprietário _____

Foi vacinado contra cinomose? ☐sim ☐não

Vacina ética? ☐sim ☐não Qual vacina? _____

Data da última vacina: ____/____/____

Quantas doses foram administradas? _____

Proprietário tem conhecimento da doença? ☐sim ☐não

Tem outros animais ☐sim ☐não

Can () felino () ov () bov () suíno () aves ()

Presença de morcegos residência ☐sim ☐não Presença de roedores ☐sim ☐não

Animal vermifugado? ☐sim ☐não

Data da última dose: ____/____/____

Alimentação: ração () Comida ()

Diarreia ☐sim ☐não Vômitos ☐sim ☐não

Perda de peso ☐sim ☐não

Tosse ☐sim ☐não

Secreção respiratória ☐sim ☐não Secreção ocular ☐sim ☐não

Temp () FC () FR ()

Auscultação normal ☐sim ☐não

Swab fezes ☐sim ☐não

Observações:

Ao término da entrevista, foi entregue um folder contendo informações sobre as principais doenças infecciosas de cães e a importância da vacinação.

Após realização do inquérito, os animais foram submetidos ao exame físico geral com avaliação da frequência respiratória, cardíaca e temperatura. Como critério de inclusão, somente animais com parâmetros físicos dentro da faixa de normalidade (FEITOSA, 2014) foram destinados à colheita de sangue

em tubo seco e em tubo com anticoagulante e, por fim, submetidos à vacinação.

As amostras foram colhidas por punção da veia jugular com agulhas estéreis (30x8mm) e armazenadas em tubos sem anticoagulante. Após retração do coágulo, as amostras foram centrifugadas por dez minutos a 2000g, obtendo-se soros límpidos, que foram conservados à -20°C em alíquotas até a realização das provas sorológicas.

4.4. Métodos diagnósticos

As amostras de sangue colhidas durante a campanha foram destinadas a testes sorológicos para avaliação da resposta vacinal induzida contra parvovirose, além de avaliar a sororreatividade para toxoplasmose, leptospirose, parvovirose, cinomose e erliquiose em cães. Também foi realizado PCR para erliquiose.

4.4.1. Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

A detecção de anticorpos contra *T. gondii* foi realizada pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI), segundo metodologia descrita por Camargo (1974). As amostras séricas permaneceram congeladas a -20°C até seu processamento realizado no Núcleo de Pesquisa em Zoonoses (NUPEZO) FMVZ /UNESP – Botucatu/SP. Foram transferidos 10 µL dos soros testes e dos controles positivo e negativo para uma microplaca. Adicionados 150 µL de em solução salina de fosfato tamponada (PBS- pH 7,2). Após esse procedimento foram colocados 150 µL desta mesma solução nos três poços subsequentes da placa e transferidos 50 µL do 1º para o 2º poço e assim por diante, quadruplicando a diluição de 1:16, 1:64, 1:256 e 1:1024. As lâminas previamente sensibilizadas com taquizoítos foram retiradas do congelador e secas em estufa à 37°C por cerca de 10 minutos. Em seguida, foram transferidos 10 µL de cada diluição do soro para as mesmas, que foram incubadas novamente à 37°C por 30 minutos em câmara úmida. Procedeu-se

duas lavagens em PBS pH 7,2, por um período de 10 minutos cada uma, e subsequente secagem em estufa à 37°C. A diluição do conjugado espécie-específico foi realizada em solução de Azul de Evans 2%, previamente diluída em PBS pH 7,2 na proporção de 1:5. A seguir, foram adicionados 10 µL do conjugado então diluído, em cada poço da lâmina, incubando-se a 37°C por 30 minutos em câmara úmida. Procedeu-se mais 2 lavagens em PBS pH 7,2 como descrito anteriormente, com posterior secagem em estufa à 37°C. Foram adicionadas duas gotas de glicerina tamponada pH 8,5, cobrindo-se com lamínula 24mm x 60mm, procedendo-se a leitura em microscópio de imunofluorescência Zeiss (aumento de 400x). Para cada lâmina testaram-se soros controles negativo e positivo, concomitantemente. Foram consideradas sororeagentes títulos $\geq 16/\text{UI}$ (DA SILVA et al., 2002).

Mesma técnica também foi utilizada para erliquiose, segundo Aguiar et al., (2007), realizada no Laboratório de Virologia e Rickettsioses (LVR) do Hospital Veterinário (HOVET) da Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia, da Universidade Federal de MatoGrosso (UFMT), Cuiabá, MT, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Daniel Moura de Aguiar. As amostras de soro destinadas a RIFI foram submetidas à diluição inicial de 1:40 com PBS pH 7,2 acrescido de 1% de soroalbumina bovina e depositadas em lâminas contendo cepa São Paulo de *E. canis* juntamente com controles positivos e negativos previamente testados. Em seguida, as lâminas foram incubadas a 37°C em câmara úmida durante 30 minutos. Após esse período, as lâminas foram lavadas em PBS pH 7,2, secas em temperatura ambiente e, em cada poço, foi adicionado (diluição de 1:1000) conjugado de coelho anti-IgG canino (Sigma® Diagnostics, St. Louis, Mo) para novamente serem incubadas a 37°C por 30 minutos, lavadas em PBS pH 7,2 e submetidas a secagem. Por fim, as lâminas foram devidamente examinadas em microscópio de epifluorescência e as amostras positivas foram diluídas sucessivamente na razão de dois para obtenção do título final. Foram consideradas sororreagentes amostras com títulos $\geq 40/\text{UI}$ (AGUIAR et al., 2007).

4.4.2. Soroaglutinação Microscópica (SAM)

A pesquisa de anticorpos para *Leptospira* spp. foi realizada pela prova de soroaglutinação microscópica (SAM), segundo as normas do Ministério da Saúde (BRASIL, 2009), no Laboratório de Leptospirose do Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP) da Universidade Estadual de Londrina (UEL)- PR, sob responsabilidade do Prof. Dr. Julio Cesar de Freitas. As amostras foram estocadas a -20°C e enviadas em caixas de isopor e gelo reciclável para a manutenção da temperatura adequada até seu processamento.

Foram utilizados como antígenos culturas de cepas-padrão de *Leptospira* spp. mantidas por repiques semanais em meio líquido de Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH). Foram utilizados 22 sorovares: Australis, Bratislava, Autumnalis, Butembo, Castellonis, Bataviae, Canicola, Whitcombi, Cynopteri, Djasiman, Grippotyphosa, Hebdomadis, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Javanica, Panama, Pomona, Pyrogenes, Hardjo, Wolffi, Shermani e Tarassovi. O grau de aglutinação das diluições seriadas das amostras frente aos sorovares foi observado em microscópio de campo escuro no aumento 100X, considerando-se positivo/ reagente os soros que apresentaram 50% ou mais de aglutinação à triagem, onde foram então diluídos seriadamente para a determinação da diluição máxima positiva, resultando em diluições de 1:100 até 1:1280 por amostra (MYERS,1985). Na eventualidade do maior título ser apresentado para mais de um sorovar, a amostra foi caracterizada como co-aglutinação (BOLIN, 1996). Para a interpretação dos resultados, as amostras foram consideradas sororreagentes com títulos a partir de 100/UI (LANGONI et al., 2015).

4.4.3. Soroneutralização (SN)

A avaliação quantitativa de anticorpos contra o vírus da cinomose canina (CDV) foi realizada pela prova de Soroneutralização microscópica e as amostras foram processadas pelo Laboratório de Controle de Qualidade da

empresa Bio-Vet S/A, localizado em Vargem Grande Paulista, São Paulo, seguindo a descrição de Appel e Robson (1973). A técnica foi adaptada com a utilização de CDV linhagem Lederle Bio-Vet para passagem em fibroblastos de embriões de galinha (FEG) com oito dias de vida (BIAZZONO et al., 2001). As amostras de soro foram descongeladas no momento de utilização em temperatura ambiente, inativadas a 56°C por 30 minutos em banho-maria, mantidas por 12 horas entre 2 a 8°C e diluídas serialmente 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 e 1/256. As amostras diluídas foram incubadas em microplacas de 96 orifícios de fundo chato com 100 doses infectantes de CDV capazes de causar efeito citopático em 50% das células em cultura (100 TCID₅₀) por 60 minutos a 37°C em estufa com 3% a 5% de CO₂. A seguir, foram adicionados 100 µL da suspensão celular de FEG com concentração de 5x10⁵ células/mL em todas as cavidades e, em seguida, incubadas por cinco dias a 37°C em estufa com 3% a 5% de CO₂. Após este período, foram realizadas as leituras das placas em microscópio invertido para verificar a presença ou ausência de efeito citopático que, quando presentes, indicavam a ausência de anticorpos em títulos suficientes para neutralizar o vírus e, assim, impedir sua replicação pelo tapete celular. O título para o CDV foi determinado como o inverso da maior diluição que determinou proteção completa do tapete celular (100%), sendo este considerado como ponto final (HOOVER; BALDWIN; RUPPRECHT, 1989). As amostras foram consideradas sororreagentes com título ≥8/UISN (FIORELLO et al., 2004). Títulos de anticorpos a partir da diluição 1:100 conferem proteção aos cães domésticos contra o vírus (YORK; BURCH, 1961; APPEL 1969; POVEY, 1986; MCCAW et al., 1998).

4.4.4. Inibição da Hemaglutinação (HI)

A titulação de anticorpos contra o Parvovírus Canino (CPV) foi realizada com base na prova de Inibição da Hemaglutinação, segundo Carmichael et al. (1980) no Laboratório de Imunodiagnóstico aplicado a Enfermidades Infecciosas dos Animais do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde

Pública (DHVSP) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu.

As amostras de soro conservadas a -20°C foram descongeladas. Após o descongelamento, foram separados 100 µL de soro e inativados a 56°C em banho-maria por 30 minutos. Visualizando neutralizar possíveis inibidores da hemaglutinação inespecíficos, foram acrescentados, a cada soro inativado, 900 µL de tampão borato salina (PBS), resultando em uma diluição inicial da amostra a 1:10. Em seguida foram adicionados 100 µL de suspensão a 50% de hemácias de suíno. Esta mistura foi então incubada por 2 horas a temperatura ambiente. Após este período, as amostras foram centrifugadas a 1.500 g por 10 minutos para a retirada dos eritrócitos e o sobrenadante foi separado para a realização do teste.

Em uma placa de 96 orifícios com fundo em “U”, foi adicionado 50 µL do soro tratado na primeira coluna, seguido por 25 µL de PBS nas colunas 2 a 8. Em seguida, foram realizadas diluições dos soros na base 2, de 1:10 até 1:1280 e adicionados 25 µL de vírus atenuado da vacina Parvoguard (Solvay Saúde Animal Ltda., Brasil) contendo 8 unidades hemaglutinantes (UHA) a todos os orifícios. As placas foram então incubadas por 1 hora a temperatura ambiente. Após este período, foram acrescentados 50 µL de suspensão de hemácias a 1% em PBS com soro albumina bovina (0,1%). As placas foram incubadas em geladeira por 24 horas após o que foi realizada a leitura. Foram considerados positivos para exposição ao Parvovirus canino os soros dos animais que apresentaram inibição da hemaglutinação evidenciada pela formação do “botão” de hemácias na diluição 1:80. O título de anticorpos foi considerado o inverso da maior diluição das amostras de soro que foi capaz de inibir a hemaglutinação. Em cada lote de placas foram incluídos controles do antígeno (representado somente pela vacina atenuada), de hemácias, de uma amostra de soro sabidamente positiva e de soro negativo. As amostras foram testadas em duplicata e, no caso de resultados incompatíveis, o procedimento foi repetido. As amostras foram consideradas sororreagentes com título

>20/UIHI. Títulos de anticorpos iguais ou maiores que 80/UIHI conferem proteção aos cães domésticos (POLLOCK; CARMICHAEL, 1982; HOARE et al., 1997).

4.4.5. Avaliação da imunogenicidade pós-vacinal

A resposta imunogênica pós-vacinal foi avaliada por meio dos resultados sorológicos de anticorpos anti-Parvovirus canino obtidos pela inibição da hemagutinação, observando-se a mudança do estado de soronegativo para soropositivo (titulação pós-vacinal ≥ 64 UIHI) ou aumento do título pós-vacinal em, pelo menos, quatro vezes após 30 dias da primovacinação (POLLOCK; CARMICHAEL, 1982).

4.4.6. Reação em Cadeia Polimerase (PCR)

A PCR foi realizada em 210 amostras de sangue, colhidas com anticoagulante armazenadas em tubo Eppendorf com EDTA no Laboratório de Virologia e Rickettsioses (LVR) do Hospital Veterinário (HOVET) da UFMT. A extração de DNA foi realizada por meio Kit de extração comercial (Axygen®) a partir do sangue total. A reação de PCR foi delineada visando amplificar um fragmento de 409 pares de base do gene *dsb* de *Ehrlichia* spp., utilizando os iniciadores Dsb-330 (GATGATGTCTGAAGATATGAAACAAAT') e Dsb-728 (CTGCTCGTCTATTTTACTTCTTAAAGT) conforme Aguiar et al. (2013). A purificação dos produtos amplificados foi realizada utilizando o kit comercial Illustra GFX PCR DNA (GE Healthcare®) e as sequências foram obtidas através de kit BigDye Terminator Cycle Sequencing (Applied Biosystems®) e analisadas em sequenciador automático Applied Biosystems 3500/3500xL Genetic Analyzer. O programa BLAST (Bethesda, MD) foi usado para comparar as semelhanças entre as sequências geradas no presente trabalho e as depositadas no GenBank.

4.5. Métodos estatísticos: coleta, organização de dados e análises

4.5.1. Organização de dados (planilha)

A amostra do presente estudo foi constituída por dados levantados a partir de 644 questionários epidemiológicos selecionados sem critério estatístico, de forma não aleatória (amostra não probabilística) e de 603 amostras de sangue coletadas durante a campanha de vacinação. Os dados foram inseridos em planilha no Microsoft Office Excel® (versão 2013 Microsoft Corporation).

4.5.2. Análises estatísticas

Realizou-se a análise estatística descritiva para cálculos das frequências relativa e absoluta dos resultados obtidos no teste sorológico. O estudo de associação entre as variáveis epidemiológicas e os resultados dos exames sorológicos foi realizado utilizando análise univariada com o teste do quiquadrado ou o teste exato de Fischer.

Para avaliar diferença estatística entre aumento percentual da soroconversão (mudança do estado de soronegativo para soropositivo após vacinação ou aumento do título após da vacinação em, pelo menos, quatro vezes, segundo Pollock e Carmichael (1982) de anticorpos anti- Parvovirus e as demais variáveis presentes no inquérito, foram utilizados os testes não-paramétricos de Wilcoxon e Kruskal-Wallis.

Para o processamento das análises foi utilizado o software Statistical Analyses System SAS®, free statistical software online, adotando-se o nível de significância (α) de 5% (THRUSFIELD, 2004).

5. RESULTADOS

5.1. Características demográficas dos cães participantes da campanha

Foi identificada através do inquérito participação de 272 (51,81%) machos e 253 (48,19%) fêmeas. A idade média dos cães registrados no inquérito foi de 3,85 anos, com maior frequência de animais entre 0 a 1 ano (27,77%;135/486), com raça aparente predominante de animais SRD (77,33%;348/450). Demais características demográficas da população de cães participantes são descritas na tabela 1.

Tabela 1: Características demográficas categóricas dos cães que compareceram a campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013 (variáveis categóricas).

Variável	N	%
Sexo		
Macho	272	51,81
Fêmea	253	48,19
Idade		
0 — 1 ano	135	27,77
1 — 2 anos	84	17,28
2 — 5 anos	130	26,74
> 5 anos	137	28,18
Raça aparente		
Raça definida	102	22,66
SRD	348	77,33
Contato com outros animais domésticos	441	84,48
Presença de Morcegos na residência	119	24,34
Presença de Roedores na residência	287	56,72
Alimentação		
Caseira	33	6,43
Caseira e industrializada	267	52,96
Industrializada	213	41,52
Animal desvermifugado	327	64,37
Vacinado contra cinomose	163	31,71

*SRD: sem raça definida.

A associação das variáveis: sexo, idade e raça aparente com o histórico de vacinação contra cinomose é apresentado na tabela 3. Foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) do histórico de vacinação contra cinomose entre as faixas etárias dos cães e entre as raças aparentes, onde a frequência

relativa de animais vacinados foi menor entre os animais de 0 a 1 ano (20%;26/130) e entre os animais sem raça definida (25,07%;85/339). (Tabela 2).

Tabela 2: Associação das variáveis sexo e idade com o histórico de vacinação contra cinomose, reportado por tutores participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior. Botucatu, SP. 2013.

Variável	Percentual de animais vacinados contra cinomose	Valor P	Teste estatístico
Sexo		0,77	Exato de Fischer
Macho	31,03 (81/261)		
Fêmea	32,40 (81/250)		
Idade		0,003	Qui-quadrado
0 — 1 ano	20,00 (26/130)		
1 — 2 anos	32,14 (27/84)		
2 — 5 anos	34,37 (44/128)		
> 5 anos	40,90 (54/132)		
Raça Aparente		<0,001	Qui-quadrado
Raça definida	54,08 (53/98)		
SRD	25,07 (85/339)		

SRD: sem raça definida.

5.2. Perfil do tutor participante da campanha quanto à guarda responsável

Através do registro nominal dos tutores no inquérito, foi identificada a participação de 151 homens (47,94%; 151/315) e 164 mulheres (52,06%; 164/315) na campanha de vacinação contra cinomose.

Quanto ao perfil das espécies contactantes domésticas, 77,58% (391/504) dos entrevistados relataram contato de seu animal com outro cão e 31,25% (160/512), com outro felino. Demais informações relativas à guarda responsável são descritos da tabela 3.

Tabela 3: Frequência relativa de respostas relacionadas à guarda responsável, dos tutores participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Variáveis	N	(%)
Contato com cão	391	77,58
Contato com felino	160	31,25
Contato com ovino	3	0,62
Contato com bovino	16	3,14
Contato com suíno	8	1,58
Contato com aves	68	13,55
Conhece a doença	247	49,40
Vacinado contra cinomose	163	31,71
Vacina ética*	122	60,10
Qual vacina utilizada?		
AR	93	45,37
Polivalente	85	41,46
AR e Polivalente	4	1,95
NR	23	11,22
Data da última vacinação		
2013	22	11,22
2012	103	52,55
Antes de 2012	71	36,22
Data da última desvermifugação		
2013	174	57,62
2012	97	33,90
Antes de 2012	21	8,47

*Vacina ética: vacina importada e administrada por veterinário.

AR: antirrábica; NR: não registrado.

Quando questionados sobre o conhecimento da cinomose, 49,40% (247/500) dos tutores afirmaram ter conhecimento da doença e 31,71% (163/514) dos entrevistados responderam que seus cães haviam sido vacinados. Ao associar o histórico de vacinação contra cinomose com o conhecimento da doença pelos tutores, o percentual de animais vacinados foi maior (72,78%;115/158) entre os tutores que conheciam a doença (Tabela 4).

Tabela 4: Associação do histórico de vacinação contra cinomose e o conhecimento da doença, reportado por tutores participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Conhece a doença	Foi vacinado contra cinomose?	
	Vacinado N (%)	Não Vacinado N (%)
Sim	115 (72,78)	132 (38,94)
Não	43 (27,22)	207 (61,06)
Total	158 (100)	339 (100)

N: número de animais.

A frequência relativa de cães vacinados entre os tutores que conheciam a doença foi estatisticamente diferente em relação aos tutores que relataram não conhecer (Tabela 5).

Tabela 5: Histórico de vacinação contra cinomose de acordo com o conhecimento da doença, reportado por tutores participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Variável	Percentual de animais vacinados contra cinomose	Valor P*
Conhece a doença		0,00001
Sim	46,56 (115/247)	
Não	17,02 (43/250)	

Valor P*: Teste Exato de Fischer.

Quando questionados sobre a realização de vacina ética, 60,10% (122/203) dos tutores afirmaram ter realizado. Ao associar a realização de vacina ética com o conhecimento da doença pelos tutores, o percentual de animais vacinados com vacina considerada ética foi maior (63,64%;77/121) entre os tutores que a conheciam (Tabela 6).

Tabela 6: Associação da realização de vacina ética e o conhecimento da doença, reportado por tutores participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Conhece a doença	Foi realizada vacina ética*	
	Sim N (%)	Não N (%)
Sim	77 (63,64)	41 (51,25)
Não	44 (36,36)	39 (48,75)
Total	121(100)	80 (100)

*vacina importada e realizada com veterinário

A frequência relativa de cães vacinados com vacina considerada ética entre os tutores que conheciam a doença não apresentou diferença estatística entre os que não conheciam (Tabela 7).

Tabela 7: Uso de vacina considerada ética de acordo com o conhecimento da doença reportado por tutores participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Variável	Percentual do uso de vacina ética	Valor P*
Conhece a doença		0,1072
Sim	65,25 (77/118)	
Não	53,01 (44/83)	

No inquérito aplicado durante a campanha, o tipo de vacina utilizada foi registrado em 205 entrevistas. A especificação no questionário sobre qual produto havia sido utilizado se referia à cinomose, no entanto, alguns tutores registraram no local o uso de vacina antirrábica.

Ao avaliar o tipo de vacina utilizada entre os tutores que relataram não ter vacinado seus cães contra cinomose, 86,67% (91/105) haviam utilizado vacina antirrábica e entre os que relataram ter vacinado contra cinomose, 84% (84/100) especificaram o uso da vacina polivalente (Figura 1).

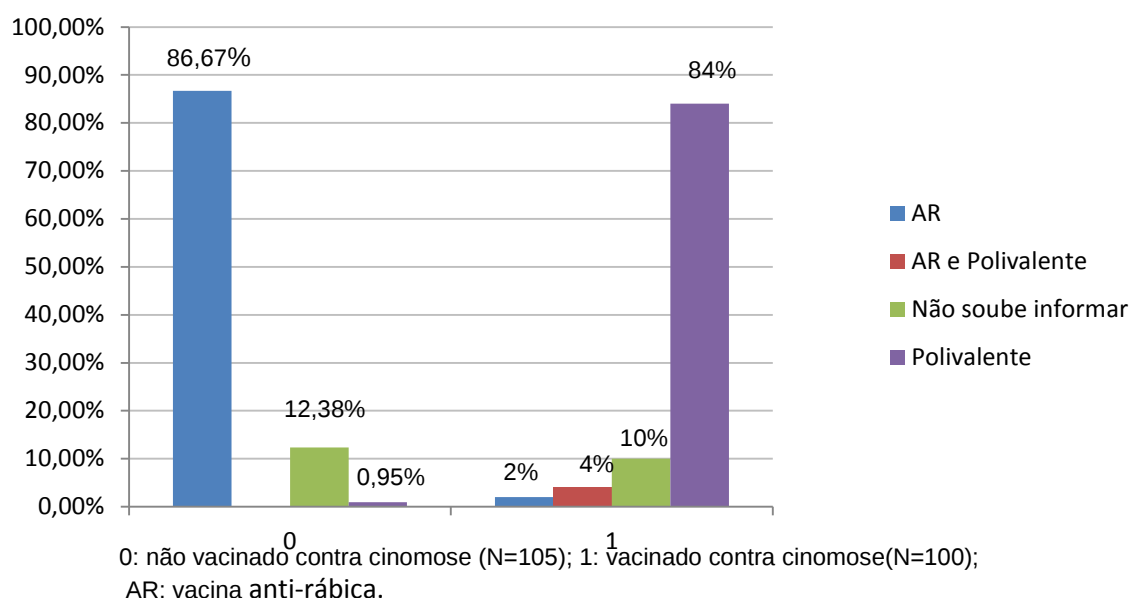


Figura 1: Vacinas administradas previamente nos cães participantes da campanha de vacinação contra a cinomose, segundo o histórico vacinal reportado pelos tutores. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Foram observados respostas de tutores que relataram não ter vacinado seus cães contra cinomose, mas que registraram uso de vacina polivalente (0,95%; 1/105) e tutores que relataram ter vacinado, mas que registraram somente uso da vacina anti-rábica (2%; 2/100).

Ao associar o tipo de vacina utilizada com o ano da última vacina aplicada, o percentual de animais com vacina antirrábica atualizada (realizada até 2012) foi maior (90,91%; 50/55) do que o percentual de animais com vacina polivalente atualizada (49,38%; 40/81) (Tabela 8).

Tabela 8: Associação da vacina administrada previamente nos cães e o ano da última dose administrada, segundo o histórico vacinal reportado pelos tutores durante a campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Vacina atualizada*	Qual vacina foi administrada?	
	Antirrábica (0)	Polivalente (1)
Sim	50 (90,91)	40 (49,38)
Não	5 (9,09)	41 (50,62)
Total	55(100)	81 (100)

Vacina atualizada*:realizada até 2012; 0: não vacinado contra cinomose; 1: vacinado contra cinomose.

A frequência relativa de cães com vacina antirrábica atualizada foi estatisticamente diferente em relação aos animais com vacina desatualizada (realizada antes de 2012) (Tabela 9).

Tabela 9: Uso de vacina antirrábica de acordo com o ano da última dose administrada, segundo o histórico vacinal reportado pelos tutores durante a campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Variável	Percentual do uso de vacina AR	Valor P*
Vacina atualizada*		0,00001
Sim	55,55 (50/90)	
Não	10,87 (5/46)	

Vacina atualizada*:realizada até 2012; 0: não vacinado contra cinomose; 1: vacinado contra cinomose.

Quanto ao controle de endoparasitas, entre os tutores que relataram ter desvermifugado seus animais, o percentual de cães com desvermifugação atualizada (realizada em 2013) foi de 59,59% (174/271) (Tabela 10).

Tabela 10: Associação dos animais desvermifugados e o ano de realização da última dose de antiparasitário, reportado pelos tutores durante a campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Data da última desvermifugação	Animal desvermifugado	
	Sim N (%)	Não N (%)
2013	174 (59,59)	0 (0)
2012	97 (33,22)	3 (100)
Antes de 2012	21 (7,19)	0 (0)
Total	292(100)	3 (100)

N: número de animais.

Em relação aos hábitos alimentares, 6,43% (33/513) relataram fornecer apenas comida aos seus animais. A maioria dos tutores (52,05%; 267/513) relatou fornecer ração e comida caseira (Tabela 11).

Tabela 11: Tipo de alimento fornecido, reportado pelos tutores, aos animais participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Variável	N	%
Alimentação		
Caseira	33	(6,43)
Caseira e industrializada	267	(52,96)
Industrializada	213	(41,52)
Tipos de alimentação		
1 tipo (caseira ou industrializada)	246	47,95
2 tipos (caseira e industrializada)	267	52,05
Total	513	100

N: número de animais.

5.3. Perfil sorológico de anticorpos contra *Leptospira* spp, *T. gondii*, *E. canis*, CDV e CPV

Foram observados cães sororreagentes para leptospirose, toxoplasmose, erliquiose, cinomose e parvovirose. A descrição e o resumo do conjunto de variáveis contínuas relativas ao título de anticorpos são apresentados na tabela 12, incluindo as medidas de tendência central (média, mediana), dispersão (valor máximo e mínimo) e desvio padrão. A representação gráfica desses valores é visualizada na figura 2.

Tabela 12: Variáveis contínuas dos títulos de anticorpos dos cães submetidos à colheita de sangue durante a campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Variável	N	Média	Desvio Padrão	Mediana	Mínimo	Máximo
Titulação anti- <i>Leptospira</i> spp. (SAM)	120	481,6	1471,86	0	0	12.800
Titulação anti- <i>T. gondii</i> (RIFI)	336	35,7	108,5	16	0	1024
Titulação anti- <i>E. canis</i> (RIFI)	438	38.946,6	61.972,7	2.560	0	163.840
Titulação anti- Vírus da Cinomose Canino (SN)	545	15,09	27,26	<8	<8	256
Titulação anti- Parvovirus canino pré- vacinação (HI)	332	211,98	266,73	128	2	2048

N= nº de animais avaliados; HI= Teste de Inibição de Hemaglutinação; SN= Teste de Soroneutralização; SAM= Soroaglutinação Microscópica; RIFI= Reação de Imunofluorescência;

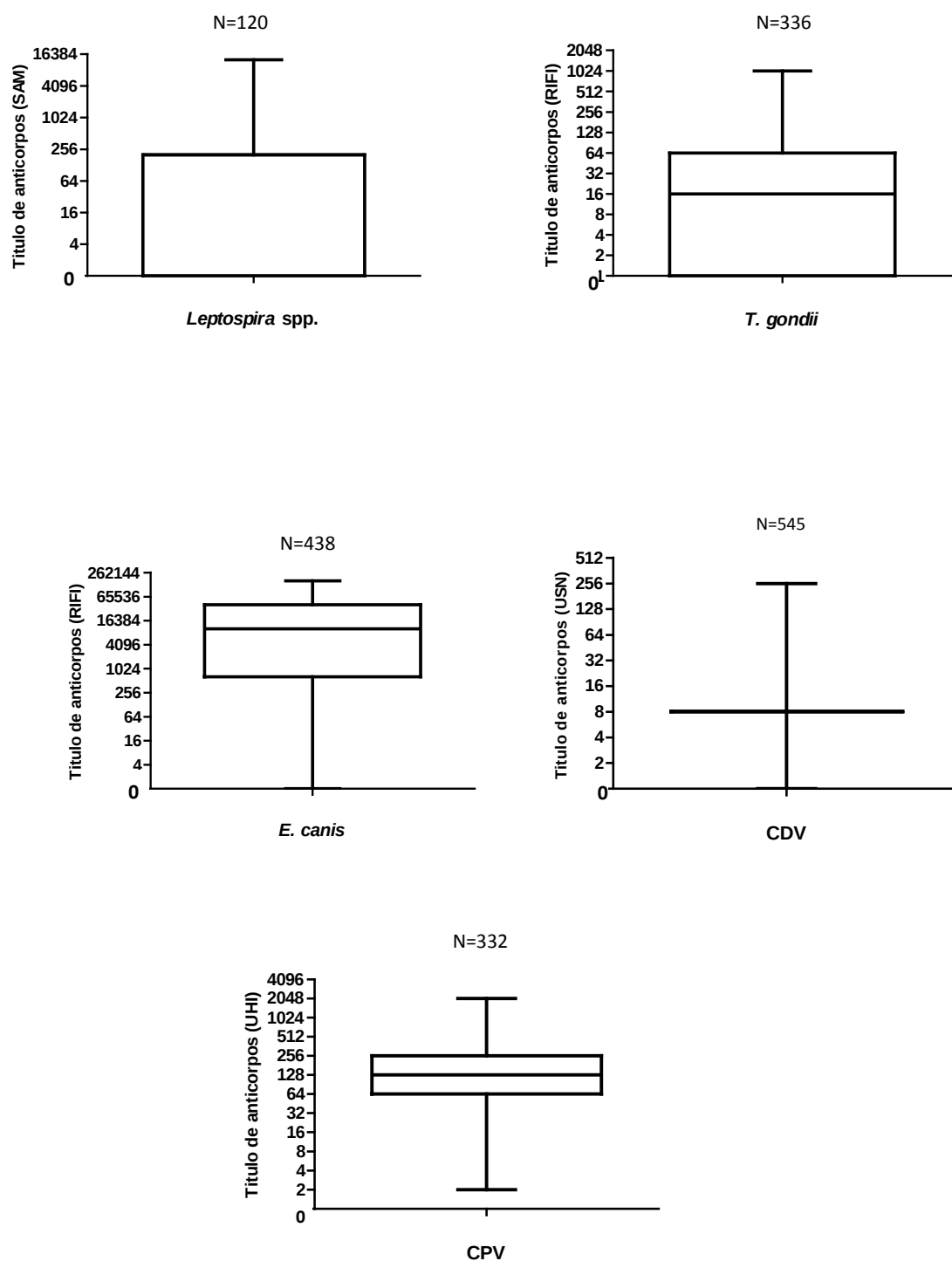


Figura 2: Representação gráfica dos valores de mediana, 1° e 3° quartis, valores mínimos, máximos do título de anticorpos contra *Leptospira* spp., *T. gondii*, *E. canis*, Vírus da Cinomose (CDV) e Parvovírus Canino (CPV) pré-vacinação em cães participantes da campanha de vacinação contra a cinomose, Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Anticorpos contra *Leptospira* spp. foram detectados em 43,33% (52/120), em 52,97% (178/336) contra *T. gondii* e em 72,14% (316/438) contra *E. canis*. Anticorpos contra Vírus da Cinomose Canino (CDV- Canine Distemper Virus) foram detectados em 17,24% (94/545) das amostras, com níveis protetores em 2,84% (16/545) e contra Parvovírus Canino (CPV- Canine Parvovirus), em 91,86% (305/332), apresentando níveis protetores de anticorpos em 64,15% (213/332) das amostras. A figura 5 apresenta o resultado integrado dos testes sorológicos e a frequência dos títulos de anticorpos para cada agente pesquisado em todas as amostras avaliadas, incluindo os resultados soronegativos.

A soropositividade para cada agente foi descrita em associação com as seguintes categorias: sexo, idade e contato com outros cães. Também foram realizadas associações da soroprevalência com demais variáveis disponíveis no inquérito, convenientes para cada enfermidade. A saber, leptospirose associada à presença de roedores; toxoplasmose associada ao contato com felinos; cinomose e parvovirose associados ao histórico de vacinação contra cinomose e ano de última dose.

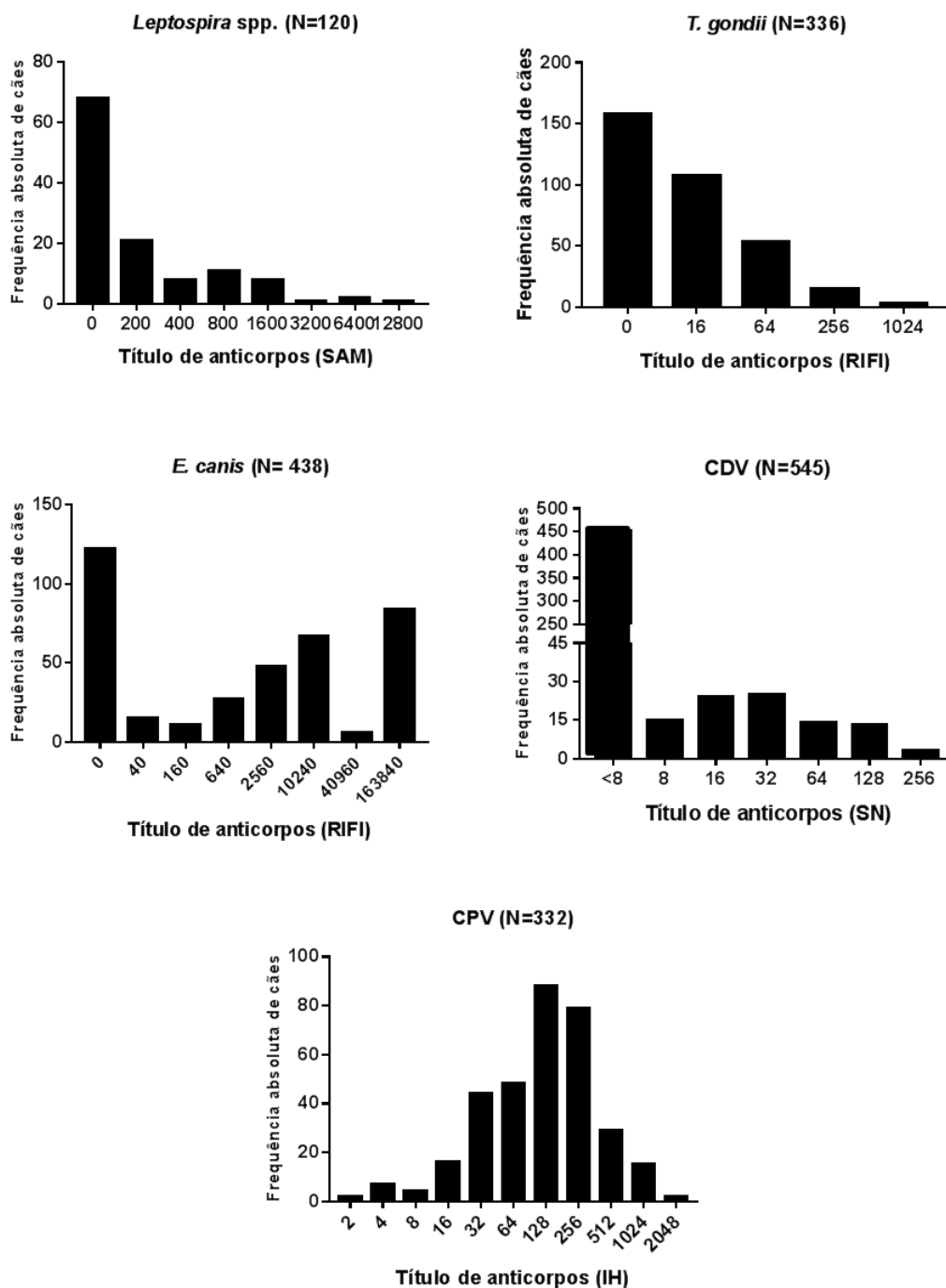


Figura 3: Distribuição do título de anticorpos contra *Leptospira* spp., *T. gondii*, *E. canis*, CDV e CPV em cães participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Os exames de SAM para leptospirose detectaram 43,33% de animais reagentes (52/120) com títulos variando de 200 a 12800. A média de idade de cães sororreagentes foi de $3,16 \pm 2,89$ anos. Os possíveis fatores de risco analisados não demonstraram associação com os cães sororreagentes na SAM (valor $p > 0,05$) (Tabela 13).

Tabela 13: Associação de possíveis fatores de risco de leptospirose, em amostras sororreagentes (N=52) para *Leptospira* spp. de cães participantes da campanha de vacinação contra cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Variável	Percentual de animais sororreagentes na SAM	Valor P	Teste estatístico
Sexo		1,00	Exato de Fischer
Macho	36,07 (22/61)		
Fêmea	36,96 (17/46)		
Idade		0,21	Qui-quadrado
0 — 1 ano	44,44 (12/27)		
1 — 2 anos	44,44 (8/18)		
2 — 5 anos	37,50 (9/24)		
> 5 anos	25,58 (7/31)		
Contato com cães		0,64	Exato de Fischer
Sim	38,27 (31/81)		
Não	32,00 (8/25)		
Presença de roedores		0,54	Exato de Fischer
Sim	33,33 (16/48)		
Não	41,07 (23/56)		

SAM: Soroaglutinação Microscópica.

Na investigação das sorovariantes mais frequentes entre as 52 amostras soropositivas, 86,53% (45/52) dos animais apresentaram um sorovar com título dominante. O sorovar identificado com maior frequência foi o Canicola, em 67,30% (35/52) das amostras, seguido do Pyrogenes, em 9,62% (5/52). Coaglutinações foram observadas entre as variantes sorológicas Canicola, Pyrogenes, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Pomona e Gryppotyphosa, sendo a combinação observada mais frequente entre Canicola e Pyrogenes em 5,77% (3/52) dos soropositivos (Tabela 14).

Tabela 14: Distribuição dos títulos máximos dos sorovares dominantes e das co-aglutinações anti- *Leptospira* na prova de soroaglutinação microscópica (SAM) em 52 amostras sorreagentes de cães participantes da campanha de vacinação contra cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Sorovar	Titulo							Total
	200	400	800	1600	3200	6400	12800	N (%)
Canicola	10	5	8	8	1	2	1	35 (67,30)
Pyrogenes	4	1	-	-	-	-	-	5 (9,62)
Copenhageni	2	-	1	-	-	-	-	3 (5,77)
Butembo	1	1	-	-	-	-	-	2 (3,86)
Canicola/ Pyrogenes	2	1	-	-	-	-	-	3 (5,77)
Copenhageni/ Pyrogenes	1	-	-	-	-	-	-	1 (1,92)
Icterohaemorrhagiae/ Pyrogenes	1	-	-	-	-	-	-	1 (1,92)
Pomona/ Grippotyphosa	-	-	1	-	-	-	-	1 (1,92)
Canicola/ Pomona/ Grippotyphosa	-	-	1	-	-	-	-	1 (1,92)
TOTAL	21	8	11	8	1	2	1	52 (100)

5.3.2. Distribuição de anticorpos contra toxoplasmose

Os exames de RIFI resultaram positivos para anticorpos anti-*T. gondii* em 52,97% (178/336) dos cães, com títulos variando de 16 a 1024. A idade média de idade dos cães reagentes foi de 3,39 $\pm$ 3,39 anos. Quanto aos possíveis fatores de risco analisados, a idade demonstrou associação com a soroprevalência de toxoplasmose nos cães, apresentando maior frequência em animais de 2 a 5 anos (62,66;47/75) ($p < 0,05$) (Tabela 15).

Tabela 15: Associação de possíveis fatores de risco de toxoplasmose em amostras sororreagentes (N=178) para *T. gondii*, de cães participantes da campanha de vacinação contra cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Variável	Percentual de animais sororreagentes na RIFI	Valor P	Teste estatístico
Sexo		0,002	Exato de Fischer
Macho	60,43(110/182)		
Fêmea	43,04(65/151)		
Idade		0,02	Qui-quadrado
0 — 1 ano	42,35 (36/85)		
1 — 2 anos	58,62 (34/58)		
2 — 5 anos	62,66 (47/75)		
> 5 anos	62,16 (69/111)		
Contato com cães		0,68	Exato de Fischer
Sim	52,54 (134/255)		
Não	55,55 (40/72)		
Contato com felinos		0,46	Exato de Fischer
Sim	56,12 (55/98)		
Não	51,54 (117/227)		

RIFI: Reação de Imunofluorescência Indireta.

5.3.3. Distribuição de anticorpos contra erliquiose

Os exames de RIFI para anticorpos anti- *Ehrlichia* foram reagentes em 72,14% (316/438) amostras com títulos variando de 40 a 163.840. A idade média de idade dos cães reagentes foi de 3,31 $\pm$ 3,86 anos. Os possíveis fatores de risco analisados não demonstraram associação com os cães sororreagentes na RIFI (valor $p > 0,05$) (Tabela 16).

Tabela 16: Associação de possíveis fatores de risco de erliquiose em amostras sororreagentes (N=316) para *E. canis*, de cães participantes da campanha de vacinação contra cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Variável	Percentual de animais sororreagentes na RIFI	Valor P	Teste estatístico
Sexo		0,51	Exato de Fischer
Macho	70,92 (161/227)		
Fêmea	73,76 (149/202)		
Idade		0,84	Qui-quadrado
0 — 1 ano	69,44 (75/108)		
1 — 2 anos	71,62 (53/74)		
2 — 5 anos	73,26 (74/101)		
> 5 anos	74,77(83/111)		
Contato com cães		1,00	Exato de Fischer
Sim	72,04 (232/322)		
Não	72,52 (66/91)		

RIFI: Reação de Imunofluorescência Indireta.

O exame de PCR foi realizado em 210 amostras, com positividade em 13,33% (28/210). Anticorpos anti-*E. canis* foram detectados em 90% (189/210) das amostras submetidas à PCR. A distribuição dos títulos de anticorpos anti-*E. canis* dentre as amostras submetidas ao exame molecular é apresentado na tabela 17.

Tabela 17: Associação entre os títulos de anticorpos contra *E. canis* na prova de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) (N=189) e o exame de Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) em cães participantes da campanha de vacinação contra cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Título anti- <i>E. canis</i>	PCR		Total (%)
	Positivo	Negativo	
	N (%)	N (%)	
0	4 (16,00)	44 (26,83)	48 (25,40)
40	-	9 (5,49)	9 (4,76)
160	-	6 (3,66)	6 (3,17)
640	1 (4,00)	11 (6,71)	12 (6,35)
2560	4 (16,00)	18 (10,98)	22 (11,64)
10240	6 (24,00)	31 (18,90)	37 (19,58)
40960	6 (24,00)	19 (11,59)	25 (13,23)
163840	4 (16,00)	26 (15,85)	30 (15,87)
TOTAL	25 (100)	164 (100)	189 (100)

PCR: Reação em Cadeia Polimerase (Polymerase Chain Reaction).

5.3.4. Distribuição de anticorpos contra cinomose

Os soros submetidos a soroneutralização foram sororreagentes (títulos ≥ 8 USN) para anticorpos anti-CDV em 17,24% (94/545) das amostras, apresentando níveis protetores (título ≥ 100 USN) em 2,93% (16/545). Os animais apresentaram, em sua maioria, anticorpos com títulos ≤ 8 USN (82,75%; 451/545). A idade média dos cães reagentes foi de $3,49 \pm 3,27$ anos. Os possíveis fatores de risco analisados não apresentaram associação com os animais sororreagentes para cinomose nos cães ($p > 0,05$) (Tabela 18).

Tabela 18: Associação de possíveis fatores de risco de cinomose em amostras sororreagentes (N=94) para o Vírus da Cinomose canino em cães participantes da campanha de vacinação contra cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Variável	Percentual de animais sororreagentes na SN	Valor P	Teste estatístico
Sexo		0,79	Exato de Fischer
Fêmea	15,19 (31/204)		
Macho	16,37 (38/232)		
Idade		0,14	Qui-quadrado
0 — 1 ano	16,66 (18/108)		
1 — 2 anos	21,92 (16/73)		
2 — 5 anos	15,38 (16/104)		
> 5 anos	9,64 (11/114)		
Contato com cães		0,63	Exato de Fischer
Sim	16,45 (53/322)		
Não	13,54 (13/96)		
Vacinado contra cinomose?		0,26	Exato de Fischer
Sim	18,24 (27/148)		
Não	14,02 (39/278)		
Ano da última dose		0,43	Qui-quadrado
2013	15,78 (3/19)		
2012	23,80 (20/84)		
Antes de 2012	15,87 (10/63)		

SN: soroneutralização.

5.3.5. Distribuição de anticorpos contra parvovirose

Resultaram reantes pela prova de inibição da hemaglutinação (títulos >20UIH) para anticorpos anti-CPV 91,86% (305/332) das amostras, apresentando níveis protetores (título $\geq$ 80UIH) 64,15% (213/332). Os animais apresentaram, em sua maioria, anticorpos com títulos de 256/UIH (23,79%; 79/332). A idade média dos cães reagentes foi de 3,49 $\pm$ 3,27 anos. Os possíveis fatores de risco analisados não apresentaram associação com os animais sororreagentes para parvovirose nos cães ($p>0,05$) (Tabela 19).

Tabela 19: Associação de possíveis fatores de risco de parvovirose em amostras sororreagentes (N=305) para o Parvovirus canino em cães participantes da campanha de vacinação contra cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Variável	Percentual de animais sororreagentes na IH	Valor P	Teste estatístico
Sexo		0,82	Exato de Fischer
Fêmea	95,53 (124/134)		
Macho	91,53 (119/130)		
Idade		0,60	Qui-quadrado
0 — 1 ano	91,80 (56/61)		
1 — 2 anos	86,95 (40/46)		
2 — 5 anos	92,42 (61/66)		
> 5 anos	93,93 (62/66)		
Contato com cães		1	Exato de Fischer
Sim	92,30 (180/195)		
Não	91,80 (56/61)		
Vacinado contra cinomose?		0,62	Exato de Fischer
Sim	91,40 (85/93)		
Não	93,41 (156/167)		
Ano da última dose		0,73	Qui-quadrado
2013	92,86 (13/14)		
2012	93,18 (41/44)		
Antes de 2012	88,63 (39/44)		

IH: Inibição da hemaglutinação.

5.4. Resposta Imunogênica

A resposta ao estímulo antigênico, conferida pela primovacinação pôde ser verificada em 187 animais que retornaram à campanha após 30 dias, avaliada por meio da soroconversão de anticorpos anti- CPV. Dentre os animais avaliados, 70,05% (131/187) já apresentavam anticorpos anti-CPV em níveis protetores (≥ 80 UHI) antes da vacinação. O aumento percentual média da soroconversão foi de 1545,65%. A figura 4 apresenta graficamente os valores mínimos, máximos e mediana dos títulos de anticorpos anti-CPV pré e pós-vacinação.

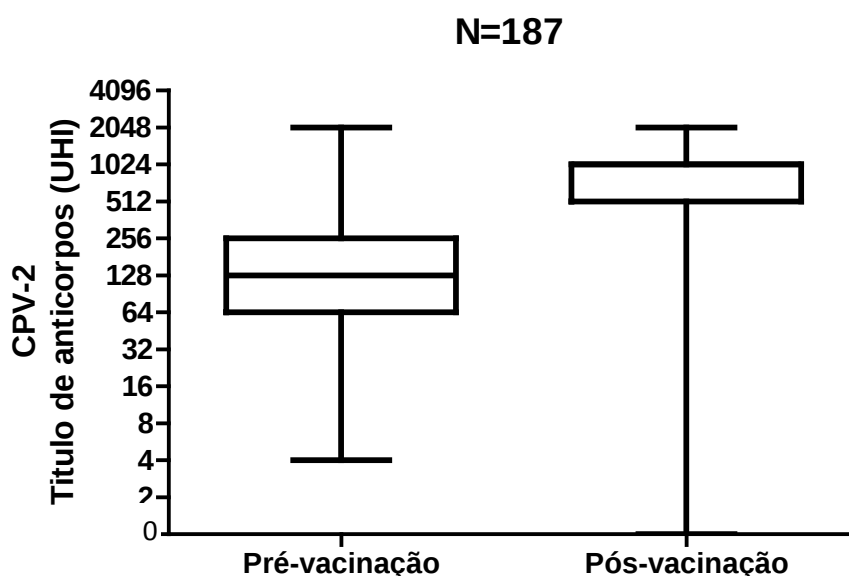


Figura 4: Representação gráfica dos valores de mediana, 1º e 3º quartis, valores mínimos, máximos do título de anticorpos contra parvovirose pré e pós vacinação em cães (N=187) participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013;

A aplicação do teste não paramétrico de Wilcoxon identificou diferença significativa ($p < 0,001$) dos títulos de anticorpos anti-CPV após 30 dias de aplicação da vacina contra parvovirose (Tabela 20).

Tabela 20: Valores de média, desvio padrão, mediana, 1° e 3° quartis, mínimo e máximo da titulação de anticorpos contra Parvovirus canino, imediatamente antes da aplicação da vacina em cães (N=187) participantes da campanha de vacinação contra cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013

Título anti- CPV								
	N	Média	Desvio Padrão	Mínimo	1° Q	Mediana	3° QI	Máximo
Pré vacinação	187	246,07	300,23	4	64	128	256	2048
Pós vacinação	187	991,31	562,76	0	512	1024	1024	2048

<0,0001

*. Teste de Wilcoxon; Q:quartil; N= número de animais

Todos os animais avaliados (N=187) apresentavam títulos de anticorpos anti-CPV prévios à vacinação. A soroconversão foi observada em 98,93% (185/187) dos cães e, dentre esses, 3,78% (7/185) tinham menos de 14 semanas de idade. Distribuição dos títulos antes e 30 após vacinação é apresentado na figura 5.

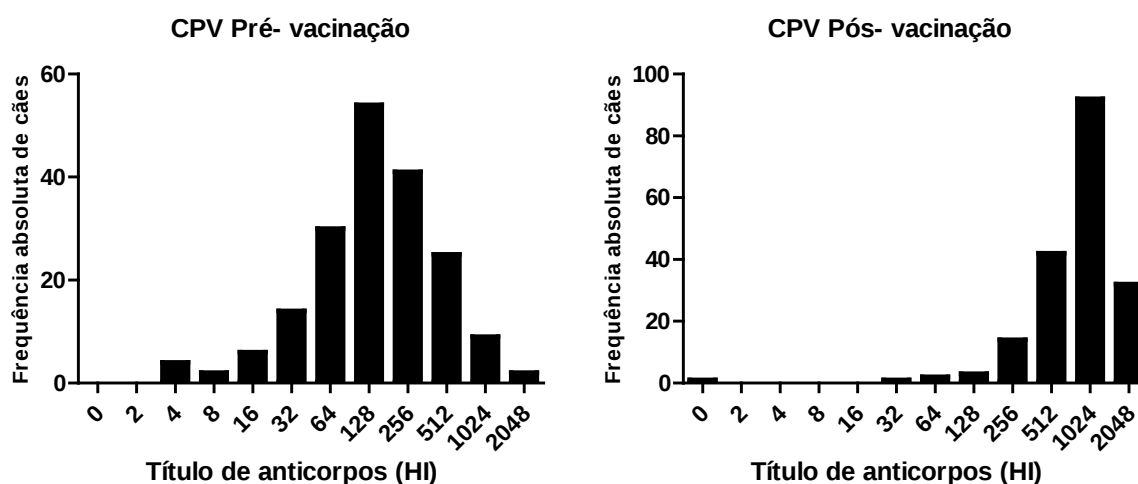


Figura 5. Distribuição dos títulos de anticorpos anti- Parvovirus pré-vacinação e pós vacinação em cães (N=187) participantes da campanha de vacinação contra a cinomose, Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013 a 2014.

Em seguida, foi realizada associação entre o aumento percentual do título de anticorpos anti-CPV dos animais que soroconverteram e o perfil sorológico de leptospirose, toxoplasmose e erliquiose, bem como com as demais variáveis presentes no inquérito para verificar se houve diferença na soroconversão (Tabela 21).

Tabela 21: Associação entre as variáveis explanatórias e o aumento percentual relativo à soroconversão de anticorpos anti- Parvovirus canino de cães participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013 a 2014.

Variáveis	Aumento percentual de soroconversão M (SD)	N	Valor p*
Leptospirose			0,52
Negativo	29,42 (55,93)	39	
Positivo	26,38 (55,93)	17	
Toxoplasmose			0,79
Negativo	77,05 (278,32)	78	
Positivo	78,96 (278,32)	77	
Erliquiose			0,71
Negativo	91,42 (293,29)	44	
Positivo	88,19 (293,29)	133	
Idade			0,81
0 — 1 ano	86,94 (270,50)	39	
1 — 2 anos	88,31 (268,02)	38	
2 — 5 anos	80,24 (287,82)	47	
> 5 anos	89,09 (287,82)	47	
Sexo			0,85
Macho	93,17 (359,49)	95	
Fêmea	91,77 (359,49)	89	
Vacina ética			0,18
Não ético	32,63 (85,14)	23	
Ético	39,69 (85,14)	51	
Conhece a doença			0,06
Não conhece	83,39 (343,98)	97	
Conhece	97,81 (343,98)	82	
Presença de outros animais			0,87
Não	92,87 (266,03)	31	
Sim	91,21 (266,03)	151	
Animal vermifugado			0,88
Não	91,76 (333,04)	62	
Sim	90,60 (333,04)	119	
Alimentação			0,14
Caseira	58,18 (147,52)	8	
Industrializada	92,72 (362,21)	97	
Caseira e industrializada	96,81 (359,31)	80	
Diarreia			0,37
Não	92,79 (154,28)	174	
Sim	76,66 (154,28)	9	
Vômito			0,08
Não	90,38 (115,66)	177	
Sim	130,80 (115,66)	5	
Perda de peso			0,68
Não	91,40 (167,66)	170	
Sim	84,72 (167,66)	11	
Tosse			0,98
Não	92,01 (195,72)	168	
Sim	91,80 (195,72)	15	
Secreção respiratória			0,46
Não	87,28 (50,00)	173	
Sim	124,00 (50,00)	1	
Secreção ocular			0,39
Não	88,21 (138,53)	166	
Sim	72,68 (138,53)	8	

Soroconversão: mudança do estado de soronegativo para soropositivo após vacinação ou aumento do título após da vacinação em, pelo menos, quatro vezes.

(variação %): porcentagem de variação da titulação após a vacinação.

M (SD): média (desvio padrão); N= número de animais; p*= Teste qui-quadrado.

Soropositividade: Titulação pós vacinal > 64 UHI.

5.5. Alterações clínicas observadas após a vacinação

O inquérito epidemiológico aplicado durante a campanha, 30 dias após a primovacinação, registrou 7,9% (19/240) de alterações clínicas, correspondentes a possíveis eventos adversos relatados pelos tutores. Dentre os animais com alterações clínicas (N=19), apatia, tosse e emagrecimento foram as mais frequentes (Figura 6).

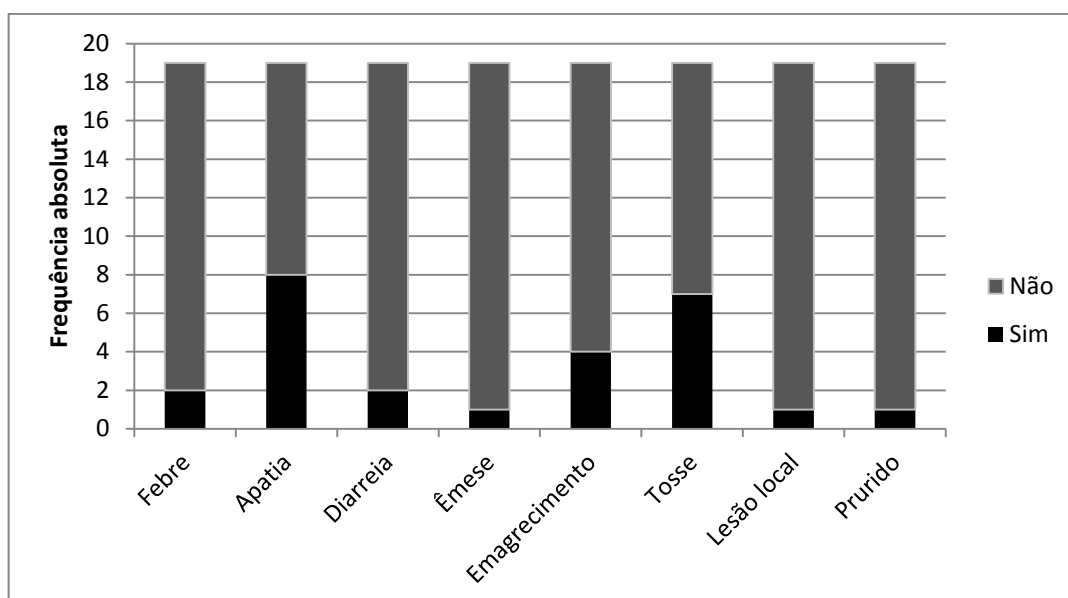


Figura 6: Observação de alterações clínicas após vacinação de cães (N=19) participantes da campanha de vacinação contra a cinomose Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013 a 2014.

6. Discussão

6.1. Características demográficas dos cães participantes da campanha

No presente estudo, a idade média dos cães foi de 3,85 anos com predomínio de cães com idade igual ou inferior a um ano, representando 27,77% (135/486) do total.

Maior presença de cães jovens, entre 0 e 1 ano, também foi relatado em trabalho realizado por Babboni et al. (2016) no município de Botucatu/ SP sobre a dinâmica populacional de cães vacinados em campanhas de vacinação anti-rábica. A caracterização demográfica de uma população de animais é útil para o planejamento e a prática de ações preventivas prioritárias, tais como a realização de campanhas de vacinação canina (SILVA, 2010; BABBONI et al., 2016).

Houve maior percentual de cães machos (51,81%) em relação às fêmeas. Segundo Silva (2010), geralmente é observado predomínio de machos em populações caninas. Trabalhos realizados na região sul e sudeste do Brasil que mediram a razão macho/fêmea relataram valores de 1,17 em Ouro Preto/ MG (NAVEDA, 2005), 1,5 em Barbacena/ MG (SILVA, 2007), 1,1 em São Paulo/ SP (CANATTO et al., 2012) e 1,2 em Jaguapitã/ PR (TRAPP et al., 2015). O predomínio de machos na população canina pode estar relacionado a fatores que podem ser considerados negativos em fêmeas por alguns tutores, tais como: época do cio, procriação, complicações do parto, entre outros (SILVA, 2007; CANATTO et al., 2012).

Em relação à raça aparente, foi predominante a presença de cães SRD (77,33%). Pesquisas de caracterização demográfica demonstraram diferenças no perfil racial de acordo com a classificação dos espaços onde, áreas urbanas apresentavam maior proporção de animais com raça definida (SILVA, 2007; CANATTO, 2012) e áreas rurais, animais SRD (TRAPP, et al., 2015). O Distrito de Rubião Júnior é caracterizado como área urbana sugerindo que o

predomínio de animais SRD talvez esteja associado à dinâmica populacional do município, avaliada pelo Índice Paulista de Vulnerabilidade (IPVS), segundo a renda média dos domicílios. Em Botucatu, o grupo de vulnerabilidade muito baixa é o mais frequente, representando 51% da população, caracterizado por rendimento médio nos domicílios de R\$ 2.964 (IBGE, 2010).

A diferença observada do histórico de vacinação contra cinomose segundo a idade ($p=0,003$) demonstrou que a cobertura vacinal aumentou gradativamente, de acordo com as faixas etárias, apresentando menor relato de vacinação em animais de 0 a 1 ano (20%;26/130). Esses dados demonstram que os tutores demoram a se conscientizar sobre a importância da vacinação, essencial, principalmente, nos primeiros meses de vida, e sugere que é necessário esclarecer a população quanto ao protocolo vacinal dos animais. A correta orientação dos tutores para a realização dos esquemas vacinais faz-se necessário uma vez que, doenças infecciosas como cinomose e parvovirose que podem levar o animal à óbito tem seu controle baseado na prevenção por meio da vacinação (DEZENGRINI et al., 2007).

Quanto à diferença observada do histórico de vacinação segundo a raça aparente ($p<0,001$), maior relato de vacinação foi observada em cães com raça aparente definida. Apesar do elevado grau de subjetividade envolvido na resposta das raças, a diferença observada no presente estudo sugere que os tutores de cães com raça aparentemente definida possam ter melhores condições financeiras e/ou serem mais conscientes quanto aos cuidados básicos necessários aos seus animais. As práticas de guarda responsável podem ser influenciadas pela escolaridade e renda familiar dos tutores (APTEKMANN, et al., 2013; ALMEIDA, 2018).

6.2. Perfil do tutor participante da campanha quanto à guarda responsável

Através do inquérito realizado foram quantificados 151 homens e 164 mulheres participantes da campanha. Foi relatado que 84,40% (441/522) de seus cães tinham contato com outros animais sendo, em sua maioria, outros cães (77,58%; 391/504). O predomínio de cães em relação a gatos foi observado em diferentes pesquisas que caracterizaram o perfil da guarda dos tutores de animais.

Em pesquisa realizada por Canatto et al. (2012) para caracterizar a população de animais do município de São Paulo, considerando a heterogeneidade de ocupação do espaço (urbano e rural) foi verificado que havia, significativamente mais cães do que gatos por pessoa, onde a razão/relação homem:cão foi de 4,34, e a razão homem:gato de 19,33.

Silva et al., (2006) identificaram 87,80% (180/205) de cães e 12,20% (25/205) de gatos em 242 casas visitadas no município de Garça/ SP; Nunes (2011) identificou 74,21% (213/287) de cães e 25,78% (74/287) de gatos por meio de entrevista a 339 moradores do município de Jaboticabal/ SP, onde a relação cão:habitante foi de 1:3,27 e a relação gatos:habitante, 1:12,43. Langoni et al., (2012) visitaram 99 domicílios em Botucatu/ SP e verificaram número mais expressivo de pessoas que possuíam cão (66,7%), em relação aquelas que possuíam gatos (12,1%).

No município de Botucatu, a população estimada de animais foi de 26.721 cães e 3.834 gatos (IBGE, 2015), sendo a razão/relação cães:gatos de 6,97, ou seja, haviam 6,97 cães para cada gato no município em 2015.

6.2.1. Imunização

O histórico de vacinação contra cinomose foi confirmado por menos da metade (31,71%; 163/514) dos tutores que registraram essa informação. A associação do histórico de vacinação contra cinomose com o conhecimento da doença pelos tutores apresentou diferença estatística ($p=0,00001$), com maior

percentual de animais vacinados entre os tutores que relataram conhecer a cinomose (46,56%;115/247). Essas informações sugerem que o conhecimento da doença favorece as práticas de vacinação de maneira adequada. No entanto, a associação da realização de vacina considerada ética, segundo o conhecimento da cinomose pelos tutores não apresentou diferença estatística ($p=1,072$), sugerindo que os tutores reconhecem a importância da vacinação, no entanto a realização do procedimento por profissionais não qualificados pode representar um problema, uma vez que os esquemas vacinais e a aplicação podem não ser adequados.

De acordo com a Resolução nº 844 do CFMV, parágrafo 2º, “A vacinação é a aplicação de qualquer produto em animal só pode ser feita sob orientação e controle do médico veterinário”.

A expressão “vacina ética” é usada de maneira informal para se referir a produtos importados e que sejam aplicados por veterinários, não sendo um conceito oficial, pois o termo “ético” é aplicado de forma errônea. O Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV, Brasília/DF) estabelece a obrigatoriedade da presença de médicos veterinários como responsáveis técnicos em estabelecimentos que comercializam produtos destinados aos animais, permitindo a venda de produtos nacionais e importados, desde que tenham garantia de qualidade e sejam aprovados pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA).

No Brasil, há estabelecimentos que comercializam produtos imunobiológicos veterinários por profissionais não qualificados, de maneira irrestrita, sem manutenção do controle de qualidade. Como a comercialização dos produtos importados é direcionada aos profissionais da área, os produtos disponíveis em estabelecimentos como casas agropecuárias e petshops costumam ser apenas nacionais. Dessa forma, pelas condições em que ocorrem a venda e aplicação das vacinas nesses locais, os produtos nacionais acabam sendo considerados não éticos (SUHETT, et al., 2013).

Entre os tutores que relataram ter conhecimento da doença, 51,25% (41/80) informaram não ter sido aplicado vacina ética, sugerindo possível inadequação de estabelecimentos comerciais que forneçam produtos sem orientação de médico veterinário ou que sejam realizados por profissionais não qualificados, conforme já citado por Langoni et al. (2011) e Loss et al. (2012).

Em pesquisa realizada por Limbert et al. (2009) ao aplicar um questionário sócio-comportamental, em tutores de um bairro periférico no município de Dourados/MS, foi identificado que uma parcela dos entrevistados (7,89%; 9/113) acreditava que as vacinas podiam ser aplicadas em casa ou casas de ração. No município de Botucatu/ SP, Langoni et al. (2011) identificou que 18,5% (16/90) dos tutores vacinava seus animais em casas agropecuárias. A qualidade das vacinas comercializadas em lojas de produtos agropecuários deve ser avaliada, uma vez que nem sempre os produtos são corretamente conservados nestes locais (temperatura inadequada, falta de equipamentos exclusivos para armazenar imunobiológicos, etc.) e os esquemas vacinais, bem como a forma de aplicação inadequada podem comprometer a imunidade induzida pela vacinação (MONTI, et al., 2004; LANGONI et al., 2011).

Geralmente os tutores que vacinam seus cães em clínicas possuem melhores condições financeiras, pois os produtos e serviços nesses estabelecimentos costumam ter maior custo (ELIZEIRE, 2013). A partir disso, pode-se supor que também recebam melhor nutrição e cuidados veterinários mais frequentes, contribuindo para melhor resposta imune frente aos imunógenos.

No município de Botucatu, apesar de haver diversas clínicas veterinárias bem como o Hospital Veterinário da FMVZ UNESP, pequena parcela da população costuma levar seus animais para atendimento veterinário periódico. A maioria procura somente quando o animal está doente, devido à falta de recursos financeiros para tal (LANGONI et. al., 2011).

O uso da vacina antirrábica foi registrado em 45,37% das entrevistas (93/205) e da polivalente, em 41,46% (85/205). O registro da vacina utilizada

sugeriu ter resultado em fator de confusão. Houve tutores que relataram não ter vacinado seus cães contra cinomose, mas que especificaram o uso de vacina polivalente (0,95%; 1/105) e os que haviam vacinado contra cinomose, mas especificaram a vacina antirrábica (2%; 2/100). Isso sugere que ou os tutores não conheciam a doença em questão ou confundiam qual vacina registrar já que, imediatamente antes, era questionado se a vacina utilizada havia sido ética.

A partir dessa suposição, foi avaliada a associação dos tutores que não vacinaram seus cães contra cinomose e especificaram o ano da última dose realizada. Dos tutores que registraram o uso de vacina antirrábica, 87,27% (48/55) a realizaram no ano anterior à campanha do presente estudo. A porcentagem de cães com vacina antirrábica atualizada (realizada até 2012) foi estatisticamente diferente ($p=0,00001$) em relação aos animais com vacina desatualizada (realizada antes de 2012).

A porcentagem de cobertura vacinal para o controle da raiva deve ser de, pelo menos, 80% (DE LUCCA et al., 2013). Em Botucatu, a cobertura vacinal se mantém em níveis satisfatórios desde 1971, não havendo casos diagnosticados de raiva canina no município desde 1985 (BABBONI; MODOLO, 2015). Os resultados encontrados sugerem que a campanha pública de vacinação antirrábica realizada anualmente no município pode motivar os tutores a vacinar seus animais e realizar o reforço anual, necessários ao controle da raiva.

A avaliação da associação dos tutores que vacinaram seus cães contra cinomose e usaram vacina polivalente, considerando os anos da última aplicação demonstrou que 49,38% (40/81) dos animais estavam com a vacina atualizada, realizada até um ano antes. A distribuição dos dados sugere que os tutores vacinam seus cães em algum período da vida, no entanto, parece não haver o hábito de realização do reforço anual, pois 50,62% (41/81) dos animais estavam com a vacina desatualizada (realizada antes de 2012) entre 1 a 9

anos. Isso pode ser atribuído pelo custo da vacina e pela população demorar a se conscientizar da importância da vacinação.

Dentre os produtos biológicos comercialmente disponíveis no Brasil, a duração da imunidade mínima estimada contra cinomose para vacinas com vírus vivo modificado (VVM), como a utilizada no presente estudo, confere proteção por até 9 anos (ANGÉLICO; PEREIRA, 2012). Cães que respondem à vacinação com VVM mantêm memória imunológica por vários anos na ausência de qualquer repetição da vacinação (BOHM et al. 2004, MOUZIN et al. 2004, SCHULTZ 2006, MITCHELL et al. 2012)

Diferenças nas recomendações feitas em diferentes países refletem a realidade do local. Países desenvolvidos adotam protocolos trienais, ou mesmo com intervalos maiores, de vacinas essenciais em cães adultos, a partir do primeiro reforço vacina (DAY et al., 2016). Apesar de promoverem longa duração de imunidade, a recomendação de reforço de vacinas essenciais no Brasil continua sendo anual devido à prevalência significativa de doenças virais como cinomose e parvovirose e baixa cobertura vacinal dos cães do país (ANGÉLICO; PEREIRA, 2012; DAY et al., 2016).

6.2.2. Controle de parasitos

Durante a campanha de vacinação, 64,37% (327/508) dos tutores relataram ter desvermifugado seus cães e 57,62% (170/295) o haviam feito no mesmo ano de realização do presente estudo.

O parasitismo gastrointestinal é observado em cães de todas as idades, com alta prevalência em cães no mundo, porém, com maior gravidade em filhotes ou animais imunossuprimidos. Alguns desses parasitos são responsáveis por importantes zoonoses, sendo também mais prevalentes e graves em crianças e em pacientes com imunossupressão (GENNARI, 2015). A vermifugação dos animais diminui o risco de doenças, como as provocadas por larva *migrans* cutânea (bicho geográfico); larva *migrans* visceral (LMV) e ocular (LMO) em humanos, e o parasitismo nos animais pela diminuição da contaminação ambiental (SILVA, 2007).

Trabalho realizado por Katagiri & Oliveira-Sequeira (2008) em Botucatu/ SP avaliando a percepção dos tutores a respeito da importância das parasitoses intestinais em cães demonstrou que a maioria dos entrevistados desconhecia sobre as zoonoses transmitidas pelos parasitos, mecanismos de transmissão e fatores de risco para a infecção. Pesquisa desenvolvida no mesmo local por Langoni et al. (2012) sobre práticas de guarda responsável demonstrou que mais da metade dos tutores (68,8%) relataram administrar vermífugos aos seus animais. Essas informações sugerem que, apesar dos tutores desconhecerem a importância das parasitoses, realizam a desvermifugação em cães e gatos, possivelmente, pelo baixo custo dos anti-helmíntico e fácil acesso em estabelecimentos comerciais próximo aos domicílios dos tutores.

6.2.3. Nutrição

É importante caracterizar o tipo de alimento fornecido aos cães uma vez que a nutrição é associada com a capacidade de resposta imune (BATISTA FILHO, 2003).

Quantificando o fornecimento de alimento por tipo, a maioria dos tutores entrevistados nesse estudo (52,05%;267/513) informou oferecer 2 tipos (comida industrializado e caseira). Entre os que forneciam somente um tipo, 86,59% (213/246) relatava produto industrializado. O fornecimento de ração aos animais tem aumentado por serem alimentos práticos, pouco perecíveis, com custo acessível e pela difusão da necessidade animal de nutrição balanceada (SILVA, 2007).

Trabalho realizado por Langoni et al. (2012) em regiões selecionadas aleatoriamente do município de Botucatu/ SP identificaram que 83% dos tutores ofereciam somente ração e, 28,7%, comida caseira e ração. Isso sugere que os tutores do município reconhecem a importância da ração como fonte de nutrição balanceada para seus animais, no entanto, é necessário recomendar que a alimentação seja somente com produtos industrializados,

preferencialmente, de boa qualidade, pois nem sempre os produtos mais acessíveis garantem nutrição adequada.

6.3. Perfil sorológico de anticorpos contra *Leptospira* spp, *T. gondii*, *E. canis*, CDV e CPV

6.3.1. Distribuição de anticorpos contra leptospirose

Os exames de SAM para leptospirose do presente estudo detectaram anticorpos anti-*Leptospira* spp. em 43,33% (52/120) de animais com títulos variando de 200 a 12800. Os possíveis fatores de risco analisados não demonstraram associação com os cães sororreagentes na SAM (valor $p > 0,05$).

O percentual de anticorpos para o agente da leptospirose canina encontrados em pesquisas realizadas no estado de São Paulo apresenta índices de 6,6% 15% a 42,7% (MASCOLLI, 2002; SILVA et al., 2006; SARMENTO et al., 2007; MASCOLLI et al., 2016; ZADRA, 2017). Em investigação soroepidemiológica realizada na região de Botucatu, Modolo et al. (2006) detectaram anticorpos anti- *Leptospira* spp. em 15,3% (119/775) dos cães.

A prova de SAM requer cautela em sua interpretação como método diagnóstico definitivo, pois trata-se de uma técnica diagnóstica indireta (TIZARD, 1998; RIBEIRO et al., 2003). A técnica depende do contato prévio com o agente, detectando os anticorpos a partir do sétimo dia de infecção (BIESDORF et al, 2008).

Fatores importantes na interpretação dos resultados laboratoriais são títulos vacinais, infecção subclínica (portadores assintomáticos) e reações cruzadas entre sorovares. Os testes sorológicos devem ser realizados levando em consideração dados epidemiológicos, bem como as informações obtidas na anamnese e no exame físico (ANZAI, 2006).

A administração de vacinas de reforço dois a três meses antes do teste pode induzir elevação do título. O título pós-vacinal varia de 1:100 a 1:400, mas

raramente haverá título elevados três meses após a vacinação (SHERDING, 2008).

Os hospedeiros que entram em contato com a *Leptospira* e possuem títulos de anticorpos preexistentes, permanecem subcl clinicamente infectados (LAPPIN, 2006). O agente se mantém nos túbulos renais e passa a ser eliminado de forma intermitente (leptospirúria), iniciando 72 horas após a infecção e permanecendo de semanas a meses nos animais domésticos (portadores assintomáticos) (JORGENS, 2011).

Para o sorodiagnóstico de animais com suspeita clínica, recomenda-se a realização de sorologia pareada, com a realização de um segundo teste sorológico com intervalo de duas a quatro semanas. A soroconversão, com aumento do título inicial em quatro vezes ou mais, é indicativa de infecção. Animais recém-vacinados também podem apresentar soroconversão com a sorologia pareada uma vez que títulos vacinais podem ser detectados até três meses após a vacinação (JASZCZERSKI, 2005).

A ocorrência de diferentes sorovares de leptospira nos animais domésticos e no cão está na dependência dos hospedeiros naturais (reservatórios) existentes no ecossistema onde vive o hospedeiro acidental. Um mesmo animal pode reagir para mais de um sorovar considerando-se como responsável pela infecção o de maior título, e como co-aglutinantes os demais sorovares reagentes com títulos inferiores (HAGIWARA, 2003). Na investigação das sorovariantes mais frequentes entre as 52 amostras sororreagentes, 45 animais apresentaram um sorovar com título dominante, com maior frequência representado pelo Canicola em 35 cães (67,30%), seguido do Pyrogenes, em 5 (9,61%).

No Brasil, os achados sorológicos em cães indicaram a soroprevalência de diferentes sorovares, como Icterohaemorrhagiae, Copenhageni, Canicola, Pyrogenes, entre outros, variando a frequência entre os vários pesquisadores e regiões (COIRO, 2011). O sorovar Canicola é apontado como a variante mais associada aos cães, seu principal reservatório (FUKUDA, 1974).

Diversos autores, no Brasil, relataram o Canicola como sorovar mais frequente na população canina, verificando prevalência elevada desta variante. Em Botucatu, Modolo et al. (2006) constatarem percentual de reagentes para este sorovar de 40,3 (48/119) e Langoni et al. (2015) 10,2 (6/59). Em Jaboticabal, Brandespim et al. (2005) relataram 50,7% e Morales et al. (1990), 51% de sororreagentes. Em Pelotas foram encontradas proporções de reatores de 58,1% (AVILA et al., 1998) e 49% (FURTADO et al., 1997) para esta variante. O potencial zoonótico do cão infectado por este sorovar não pode ser desconsiderado, pois o animal pode eliminar o agente por longo período de tempo (FURTADO et al., 1997; HAGIWARA et al., 2004).

O sorovar Pyrogenes, no Brasil, foi primeiramente isolado do mamífero silvestre *Nectomys squamipes* por Santa Rosa et al. (1980), em áreas próximas à cidade de São Paulo, e também detectados sorologicamente em cães de outras localidades (FURTADO et al., 1997; JOUGLARD e BROD, 2000; QUERINO et al., 2003; SILVA et al., 2004, MAGALHÃES et al., 2006). Embora este sorovar, já tenha sido encontrado em várias investigações sorológicas de populações caninas, é considerado por alguns autores como um patógeno acidental para cães (JOUGLARD e BROD, 2000).

Em estudo realizado com cães errantes de Santa Catarina, Blazius et al. (2005) obtiveram resultados semelhantes, embora com predominância inversa aos observados no presente estudo, relatando prevalência de 18% para o sorovar Pyrogenes, seguido de 13,8% do sorovar canicola.

Na região de Botucatu, Modolo et al. (2006) identificou o sorovar Pyrogenes como o segundo mais frequente (34,5%;41/119) em cães participantes da campanha de vacinação antirrábica. No entanto, estudo realizado por Langoni et al. (2015) com soro de cães do Centro de Controle de Zoonoses não detectaram este sorovar. Por se tratar de uma variante muitas vezes associada a animais silvestres (SANTA ROSA et al., 1980; BOLIN, 1996), sua circulação é relacionada à animais selvagens que habitam a zona rural e, possivelmente, a maioria dos cães do Centro de Controle de Zoonoses

fossem oriundos da área urbana. Diante desses resultados, enfatiza-se a importância dos animais silvestres como reservatórios de leptospirosas, atuando como fontes de infecções para os cães e, conseqüentemente, para o homem (ALVES et al., 2004).

O sorovar com maior título foi o Canicola, com 12800 UI em um animal e 6400 UI em outros dois. Um único título não tem valor diagnóstico definitivo para infecção ativa, porém, um título em SAM de 1:400, ou superior, é indicativo de infecção, título 1:800, ou superior, é altamente indicativo de leptospirose (SHERDING, 2008).

Os animais sororreagentes que participaram da campanha de vacinação contra cinomose estavam clinicamente bem no momento da colheita das amostras submetidas aos exames sorológicos do presente estudo. Visando reavaliar os animais com títulos elevados ($\geq 1:600$), foram realizadas visitas domiciliares após a primovacinação e foi constatado que muitos haviam morrido sugerindo que esses animais estavam com leptospirose (informação verbal)¹.

Não se conhece ao certo a duração da imunidade induzida pelas vacinas (KLAASEN et al., 2003). Como na maior parte das vezes, o título de anticorpos, após a infecção, praticamente torna-se nulo em 3 a 9 meses, acredita-se que a imunidade pós-vacinal também seja curta, recomendando-se dose de reforço a cada 6 meses para os animais que estão expostos ao risco da infecção. As vacinas que são aplicadas rotineiramente nos cães domésticos contra a leptospirose, são capazes de protegê-los contra a doença, mas não contra o estado de portador renal (JESUS, 2009).

6.3.2. Distribuição de anticorpos contra toxoplasmose

Os exames de RIFI identificaram títulos de anticorpos anti-*T. gondii* em 52,97% dos cães, com títulos variando de 16 a 1024. A prevalência da toxoplasmose encontrada em diversos inquéritos sorológicos realizados em populações caninas brasileiras é elevada, com índices similares e até superiores ao observado neste estudo. Prevalência de 85% foi relatada em

Rondônia (CAÑÓN-FRANCO et al., 2004), 63,5% na Bahia (BARBOSA et al., 2003), 55% em São Paulo (MASCOLLI, 2010) e 62,2% em Minas Gerais (ROSADO et al., 2004).

No período de 2009 a 2010, Langoni et al. (2012) avaliaram 50 cães internados no setor de Enfermidades Infecciosas dos Animais da FMVZ-UNESP- Botucatu, SP, com alterações neurológicas detectando soropositividade em 22% dos animais (11/50).

As prevalências de toxoplasmose podem ser muito variadas, pois a transmissão está associada a hábitos, comportamentos culturais, condições sócio-econômicas e sanitárias. O ambiente também deve ser considerado, pois desempenha papel fundamental na viabilidade do parasita (SILVA et al., 2010).

A prevalência de infecção por *T. gondii* em cães em Botucatu sugere que o local é um nicho ecológico para o agente e indica a importância do cão como sentinela. Segundo Camargo (1975), títulos menores, variando de 16 a 64, são sugestivos de fase inicial da doença, o que pode sugerir que parte da população de cães que compareceu à campanha de vacinação contra cinomose poderia estar em fase ativa de infecção.

Quanto aos possíveis fatores de risco analisados no presente estudo, sexo e idade demonstraram associação com a soroprevalência de toxoplasmose nos cães, apresentando maior prevalência em machos ($p=0,002$) e animais de 2 a 5 anos ($p=0,02$).

Costa et al. (2013) investigaram anticorpos anti- *T.gondii* em 670 amostras de cães coletadas aleatoriamente durante a campanha de vacinação anti-rábica do município de Botucatu, realizada em 2004, encontrando prevalência de 17,3% (116/670). Maior risco de infecção foi identificado em relação ao sexo ($p<0,03$), com maior prevalência em fêmeas (58,6%;68/116), e em relação a idade ($p<0,01$) em cães com menos de um ano de idade (95,4%;84/88). Outras pesquisas sobre fatores de risco associados à infecção por *T. gondii* em cães não encontraram diferença estatística da susceptibilidade de cães com relação ao sexo (LANGONI et al., 2014; RAIMUNDO et al., 2015;

RODRIGUES et al., 2016). Os resultados controversos entre os estudos sugerem que o sexo pode não ser fator determinante para susceptibilidade à toxoplasmose, podendo a significância de algumas pesquisas estar relacionadas ao acaso.

Estudo realizado por Langoni et al. (2014) para determinar a influência da idade, sexo e raça na prevalência de anticorpos contra *T. gondii* em 342 amostras de cães assintomáticos coletadas aleatoriamente do município de Brotas-SP, encontraram maior risco de infecção por *T. gondii* somente em relação a idade, com maior prevalência em cães com mais de cinco anos ($p < 0,05$).

Os animais mais velhos têm maior risco de serem infectados por *T. gondii*, (CAÑÓN-FRANCO et al., 2004; AZEVEDO et al., 2005; SILVA et al., 2010; DANTAS et al., 2013; RAIMUNDO et al., 2015) devido ao padrão crônico e oportunista da doença, o que aumenta as chances de infecção durante o tempo de vida.

O contato com felinos tem sido associado à infecção tanto em cães, quanto em humanos relacionado com a contaminação ambiental por oocistos liberados nas fezes dos gatos (FERREIRA et al., 2014). No entanto, não foi identificada associação no presente estudo ($p = 0,46$), possivelmente pelo menor contato dos cães com felinos (30,15%; 98/325).

6.3.3. Distribuição de anticorpos contra erliquiose

Os exames de RIFI para anticorpos anti- *E. canis* foram soropositivos em 72,14% (316/438) das amostras com títulos predominantes entre 2560 e 163840. Não foram identificadas associações dos possíveis fatores de risco com os cães sororreagentes na RIFI (valor $p > 0,05$).

A EMC é altamente endêmica no Brasil e no mundo todo (com exceção da Austrália). No Brasil inquéritos soroepidemiológicos com resultados elevados já foram relatados de 63,3% em Jaboticabal, SP (NAKAGHI et al., 2008), 72,5% (79/109) em Patos, PB (AZEVEDO et al., 2011) e 70,1% (54/77) em Cuiabá, MT (WITTER et al., 2013).

A prevalência de *E. canis* está intimamente associada à distribuição do vetor, principal fator de risco para a infecção, encontrado principalmente em regiões tropicais e subtropicais (RODRIGUEZ-VIVAS et al., 2005; MORAES-FILHO et al., 2011). No entanto, essa variável não pôde ser avaliada no presente estudo por não ter sido incluída no inquérito epidemiológico aplicado durante a campanha de vacinação contra cinomose.

O município de Botucatu é considerado endêmico para a doença por apresentar condições favoráveis para a manutenção do vetor *R. sanguineus*, (UENO, et al., 2009), favorecendo a infecção dos animais.

A RIFI, utilizada para investigar a infecção por *E. canis* em cães, indica apenas que houve ou há a infecção no animal, não sendo capaz de identificar a espécie envolvida, decorrente da presença de reações cruzadas. A principal desvantagem dos métodos sorológicos é a dificuldade em distinguir uma infecção atual da exposição prévia. Além disso, na técnica podem ocorrer reações cruzadas com outras espécies de *Ehrlichia* e *Anaplasma* (DAGNONE et al., 2001; WANER et al., 2001; CARDENAS et al., 2007).

Com o objetivo de aumentar a sensibilidade e a especificidade do diagnóstico laboratorial direto, tem sido utilizada a técnica de detecção molecular de *E. canis* (DAGNONE et al., 2003; BULLA et al., 2004; MACIEIRA et al., 2005). No presente estudo, dentre as amostras submetidas à RIFI para *E. canis*, em 210 (210/438; 47,94%) amostras foi constatada a presença de DNA do agente e, desses, 189 resultaram sororreagentes na RIFI.

Para *E. canis*, as prevalências baseadas na PCR variaram de 7,8% em Ilhéus-BA a 88% em Jaboticabal-SP (CARVALHO et al., 2008; DAGNONE et al., 2009). Em pesquisa realizada por Ueno et al. (2009), a prevalência por detecção molecular em 70 cães com suspeita clínica de EMC, atendidos no Hospital Veterinário da FMVZ- UNESP- Botucatu-SP, por investigou entre 2001 e 2002 detectando positividade em 40% (28/70) dos animais, confirmando a espécie *E. canis* como agente responsável pela erliquiose em Botucatu.

Nos testes diagnósticos realizados, 44 animais foram negativos tanto na sorologia, quanto na PCR sugerindo não exposição prévia ao agente. Quatro animais foram positivos na PCR e negativos na RIFI, podendo-se inferir fase inicial de infecção. Do total de 164 animais negativos na PCR, 73,2% (120/164) foram positivos na RIFI, sugerindo infecção prévia pelo agente. Testes sorológicos pareados podem indicar infecção ativa caso haja soroconversão (aumento de 4 vezes sobre o título inicial) ou a ascensão dos títulos (PERRILE; MATUS, 1991; HARRUS et al., 2002; NEER et al., 2002). A persistência de títulos de anticorpos positivos para *E.canis* pode indicar infecção não debelada, reinfecção, ou pode ser indicativa de infecção prévia (FRANK; BREITSCHWERDT, 1999; WANER et al., 2001).

Em geral, valores de prevalência baseadas na RIFI apresentam-se acima dos encontrado pela PCR (UENO, 2009). A sorologia tem um papel importante nas fases subclínica e crônica da doença. A PCR é capaz de diferenciar as espécies de *Ehrlichia*, pela identificação de sequências específicas no DNA da bactéria. Na fase aguda, o agente pode ser facilmente detectado no sangue, enquanto que na fase subclínica e crônica, os tecidos mais apropriados para confirmar o diagnóstico são o baço e a medula óssea, respectivamente (HARRUS et al., 1998; HARRUS et al., 2004; MYLONAKIS et al., 2004).

A interpretação dos resultados de exames sorológicos deve considerar o curso da doença, a reatividade cruzada com outras espécies de *Ehrlichia*, infecções múltiplas com outros agentes transmitidos por carrapatos e, também, títulos de anticorpos persistentes após o tratamento. Aguiar et al. (2007) estudando a padronização da técnica da RIFI para *E. canis*, afirmaram que esse método diagnóstico tem utilidade apenas para indicar infecção prévia. Nesse estudo, foram avaliados soros de 23 cães atendidos no Hospital Veterinário (HOVET) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (USP) com histórico pregresso compatível de erliquiose e de sete cães inoculados experimentalmente com o isolado utilizado

na padronização. Das 30 amostras totais, 33% (8/30) apresentaram títulos superiores a 10.240, dos quais cinco eram cães inoculados experimentalmente e, no momento da realização do teste sorológico, esses cães não apresentavam sintomatologia clínica. Esse resultado reforça a possibilidade do uso do teste sorológico como auxiliar no diagnóstico da erliquiose canina, desde que aliado ao histórico e ao exame clínico do cão.

6.3.4. Distribuição de anticorpos contra cinomose

Os exames de soroneutralização (SN) foram sororreagentes (títulos ≥ 8 USN) para anticorpos anti-CDV em 17,24% (94/545). Estudos de soroprevalência para cinomose realizados no Brasil apresentaram resultados variados entre de 11,6% e 21,1% em Porto Alegre e Novo Hamburgo-RS, respectivamente (SCHMIDT et al., 2004; HARTMANN et al., 2007); 27,3% em Santa Maria-RS (DEZENGRINI et al., 2007); 30% em Belém-PA (GUEDES et al., 2010); 58,3% em Pelotas, RS (HASS et al., 2008) e 90,4% em Garanhuns, PE (LÚCIO et al., 2014). As diferenças entre os resultados citados podem estar relacionadas ao delineamento amostral e possíveis variações na sensibilidade e especificidade dos métodos de diagnóstico empregados, no entanto, sugerem que o vírus da cinomose canina encontra-se amplamente disseminado pela população canina urbana do país.

A maioria dos cães apresentou títulos ≤ 8 USN (82,75%; 451/545), sendo considerados soronegativos. Quando questionados pelo inquérito sobre o histórico de vacinação contra cinomose, 65,26% (278/428) dos tutores relataram não ter vacinado seus animais. Considerando que a maioria dos cães não havia sido vacinada contra cinomose e que a maioria dos animais foram soronegativos (82,75%), os dados sugerem ausência de proteção imune contra a doença.

Os testes de soroneutralização são considerados como padrão ouro para avaliar a proteção contra infecções pelo CDV em cães. Anticorpos neutralizantes induzidos por infecção natural podem conferir imunidade vitalícia (APPEL; ROBSON, 1973; DAY et al., 2016). A detecção de anticorpos

neutralizantes contra CDV em animais não vacinados indica exposição natural ao vírus e a mensuração dos títulos de anticorpos pode avaliar o nível de proteção após infecção natural ou vacinação (PERRONE et al., 2010).

Apenas 2,93% (16/545) dos animais apresentaram títulos de anticorpos anti-CDV em níveis protetores (≥ 100 USN). Dentre os tutores que relataram ter vacinado seus cães contra cinomose (34,74%; 148/426), somente 3,38% (5/148) apresentaram anticorpos em nível protetor, sugerindo reposta pós vacinal. No entanto, título de anticorpos superior a 100 também foi observado nos animais sem histórico de vacinação (1,8%; 5/278) sugerindo proteção por exposição natural ao vírus.

96,62% (143/148) dos animais com histórico de vacinação foram soronegativos infecção. O elevado percentual de animais com histórico de vacinação, porém com títulos abaixo do considerado protetor alerta para o risco de aquisição da doença.

Em países onde a vacinação é sistemática, os estudos indicam que o título de anticorpos é adequado e se mantém até dois ou três anos após a última vacinação (BOHM et al., 2004; JOZWIK et al., 2004; MOUZIN et al., 2004). Há autores que afirmam ainda que a duração da imunidade pode ser maior, de pelo menos três anos (PHILLIPS; SCHULTZ, 1992), ou até sete anos (APPEL; GILLESPIE, 1972; OLSON et al., 1988). Essa proteção é considerada segura a menos que o animal seja submetido a estirpes de alta virulência ou a grandes quantidades, ou seja desafiado em estado de imunossupressão. Países onde a disseminação viral é ampla e o desafio é contínuo, como o Brasil, recomenda-se que a vacinação seja anual (GREENE; VANDEVELDE, 2012).

6.3.5. Distribuição de anticorpos contra parvovirose

Os exames de inibição da hemaglutinação (IH) foram sororreagentes (títulos ≥ 20 UIH) para anticorpos anti-CPV em 91,86% (305/332). Soropositividade para CPV acima de 90% foram detectados em estudos realizados no sul do Brasil (BARCELOS et al., 1988; FRANDALOSO, 2004;

HASS et al., 2008). Resultado similar ao presente estudo foi observado por Grolli et al. (2012) no município de Medianeira, PR pela técnica de HI em animais residentes de um abrigo, com soropositividade de 58,3%. Silva et al. (2014) em Botucatu, SP, detectaram anticorpos anti- CPV em 92,2% da população canina por meio da mesma técnica sorológica realizada no presente estudo.

A diferença entre os níveis de anticorpos protetores entre CDV e CPV conforme observado, provavelmente deve-se a algumas características epidemiológicas do CPV, como sua excreção em grandes quantidades pelas fezes e, sobretudo, elevada resistência no meio ambiente resultando em intensa e contínua exposição em todas as categorias avaliadas (PRATELLI et al., 2001).

Titulação de anticorpos anti- CPV em níveis protetores foram observados em 64,15% (213/332) dos cães neste trabalho o que demonstra de forma similar ao observado com o vírus da cinomose, ampla circulação do Parvovirus canino na área estudada. A porcentagem de animais com títulos em níveis protetores, segundo o histórico de vacinação, foi de 65,47% (110/168) em animais sem histórico vacinal e de 61,96% (57/92) em animais com registro de vacinação prévia.

Os possíveis fatores de risco analisados não apresentaram associação com a soroprevalência de parvovirose nos cães ($p>0,05$). A não diferença entre os níveis de anticorpos protetores conforme os fatores de risco associados, como idade, histórico vacinal e contato com outros cães provavelmente se deve as características epidemiológicas do CPV de maior resistência ambiental e excreção em grandes quantidades pelas fezes de cães doentes (BOHM et al., 2004).

6.4. Resposta Imunogênica

A vacina comercial utilizada durante a campanha do presente estudo soroconverteu 98,93% (185/187) dos animais. A diferença de anticorpos anti-CPV, decorridos 30 dias de vacinação, foi significativa ($p<0,05$) e apresentou

aumento percentual média de soroconversão de 1556,65%, indicando boa capacidade imunogênica.

O objetivo da vacinação é induzir uma resposta imune contra o antígeno vacinal, mimetizando o que aconteceria em uma infecção natural, com a consequente formação de células de memória e produção persistente de anticorpos (STRASSER et al., 2003; WANER et al., 2006; DAY et al., 2010). A indução da imunidade conferida por vacinas com vírus vivo modificado (VVM) são mais potentes, uma vez que, os antígenos vacinais apresentam-se viáveis e capazes de induzir infecção, replicação viral e desencadear resposta imune celular (FORD, 2010; DAY, 2012).

Ensaio para determinar os níveis de anticorpos após uma vacinação são os testes de maior benefício avaliar a resposta humoral (BOHM et al., 2004; MOUZIN et al., 2004; SCHULTZ, 2006; MITCHELL et al., 2012). Portanto, a presença de resposta humoral após vacinação é um importante fator para considerar a eficácia de uma vacina (LITSTER et al., 2012).

O teste sorológico considerado o "padrão ouro" para detecção de anticorpos anti-CPV é a inibição da hemaglutinação (IH). A técnica é utilizada para determinar a imunidade protetora em filhotes, avaliar necessidade de revacinação em cães adultos e como suporte no manejo de surtos de doenças infecciosas em abrigos (SCHULTZ, 2010; GREENE, et al., 2012; DAY et al., 2016).

Entre os cães avaliados após 30 dias da primovacinação, 1,06% (2/187) não soroconverteram. Esse fato pode ter sido decorrente de possíveis falhas na imunização. De acordo com as características demográficas, eram cães machos, sem histórico de vacinação contra cinomose, com idade de 2,6 e 8 anos, cada um.

A principal causa de falha na imunização é a neutralização do antígeno vacinal por anticorpos de origem materna (ACM), conferidos pela imunidade passiva por meio da ingestão do colostro nas primeiras 24 horas de vida do animal (GREENE; LEVY, 2012; DAY et al., 2016). Na maioria dos cães, os

níveis ACM diminuem entre 8 a 12 semanas de idade e há relatos de que os ACM anti-CPV tendem a durar mais tempo, podendo interferir na vacinação entre 13 e 14 semanas de idade (POLLOCK; CARMICHAEL, 1982; DECARO et al., 2005).

No presente estudo, a presença de título prévio de anticorpos anti-CPV em cães com menos de 14 semanas de idade (3,74%;7/187) não interferiu na soroconversão, contrariamente ao que é relatado sobre a principal causa de falha na imunização relacionada à presença de anticorpos de origem materna, capazes de neutralizar os antígenos vacinais com titulação a partir de 1:20 UHI (POLLOCK; CARMICHAEL, 1982; BUONAVOGLIA, 1992).

Outras falhas na imunização podem estar relacionadas a erro humano, ao imunógeno utilizado ou ao próprio animal. Os fatores relacionados ao imunógeno incluem a produção de vacinas com baixos títulos virais, conservação inadequada e uso de cepas ou linhagens pouco imunogênicas. Fatores relativos ao animal incluem variações biológicas, doenças intercorrentes, hipertermia e estado nutricional deficiente, resultando em redução na capacidade de resposta humoral ou celular (ANGELICO; PEREIRA, 2012; DAY et al., 2016).

Os animais que não soroconveteram no presente estudo eram animais adultos e, portanto, já não iriam apresentar a possibilidade de interferência de anticorpos maternos podendo a falha estar relacionada a variações biológicas individuais desses animais caracterizando-os como não responsivos à vacinação. A proporção de animais não responsivos à vacinação na população canina, segundo amplas estimativas de Day et al. (2016) é de 1:1000 cães para o Parvovirus canino.

No presente estudo, a vacinação dos animais com título prévio de anticorpos anti-CPV (70,05%;131/187) em níveis protetores (≥ 80 UHI) reforçou a imunidade por meio da soroconversão, diferente da pesquisa realizada por Taguchi et al. (2012). Neste estudo, a avaliação do reforço vacinal de 112 cães adultos vacinados pela última vez há um ano, o uso de vacina polivalente

(contra cinomose, parvovirose, e hepatite infecciosa canina), aumentou significativamente ($p < 0,05$) o título de anticorpos contra cinomose ($N=77$) e hepatite infecciosa canina ($N=84$) após 2 meses da vacinação, independente da presença de anticorpos em níveis protetores. No entanto, contra a parvovirose ($N=16$) não houve diferença significativa nos títulos de anticorpos com o reforço vacinal (TAGUCHI et al., 2012). A diferença encontrada em relação ao presente estudo pode dever-se ao reduzido número de cães avaliados ($N=16$) para a presença de anticorpos anti- CPV.

A vacinação de cães induz a imunidade por meio do estabelecimento de uma resposta ativa e específica contra o antígeno vacinal, capaz de gerar memória imunológica. Em um primeiro contato, a resposta imune leva mais tempo até desenvolver capacidade de memória nos linfócitos T e B. Em um contato posterior, a resposta é mais rápida e eficiente. Quanto mais frequente for o contato com determinado agente, mais eficaz é a resposta imune para sua eliminação (TIZARD, 2013).

O resultado da titulação de anticorpos auxilia na decisão de vacinar o animal no momento ideal e com menor frequência (SCHULTZ, et al., 2002). Para definir o número de vacinações e o intervalo de tempo adequado entre as revacinações, é importante considerar a duração da imunidade de uma vacina, que indica quanto tempo após a vacinação um animal fica protegido da infecção ou doença (SCHULTZ et al., 2010).

A duração da imunidade pós-vacinal depende de variáveis como o tipo de vacina utilizada, o nível de eficácia, a capacidade de resposta imunológica do animal e da administração correta do produto (ALMENDRA et al, 2005). Atualmente, é conhecida a duração da proteção conferida por cada tipo de vacina (DAY et al., 2016).

A revacinação de cães adultos que tenham realizado o protocolo vacinal completo quando filhotes, mas que não tenham sido revacinados regularmente quando adultos, requer apenas uma dose de vacina essencial para reforçar a imunidade (MOUZIN et al. 2004, MITCHELL et al. 2012). Similarmente, cães

adultos (ou filhote com mais de 16 semanas de idade) com histórico de vacinação desconhecido também necessitam de apenas uma dose de reforço (DAY et al., 2016).

6.5. Alterações clínicas observadas após a vacinação

Segundo levantamento realizado sobre possíveis reações adversas advindas do uso da vacina, o inquérito aplicado durante a campanha demonstra que a vacina comercial utilizada foi bem tolerada. Os sinais questionados (febre, apatia, diarreia, emagrecimento, tosse, lesão e ou coceira no local de aplicação) entre a primeira e a segunda dose foram relatados com baixa frequência (19/240; 7,9%).

As vacinas tradicionais desempenham seu papel e conferem uma boa resposta imunológica desde que o hospedeiro esteja apto para responder satisfatoriamente através de um sistema imunológico competente. Embora os benefícios obtidos pelo uso da vacinação sejam inquestionáveis, como a erradicação de várias doenças virais, nenhuma vacina é totalmente isenta de riscos (UARTH, 2011).

Diferentes tipos de vacina contra vírus estão disponíveis no mercado para uso veterinário, sendo a maioria composta por vírus inativados, como a vacina antirrábica ou por vírus vivos modificados (VVM) como as vacinas essenciais polivalentes, também utilizadas no presente estudo (ANGELICO; PEREIRA, 2012).

As VVM's induzem resposta imune mais potente e, por isso, não necessitam de adjuvante, apresentando menor risco de reações de hipersensibilidade (RASHID et al., 2009). As reações adversas que possam vir a ocorrer estão associadas com a possibilidade de reversão da virulência (FORD, 2010; DAY et al., 2016).

A real incidência de efeitos adversos pós-vacinais ainda é amplamente desconhecido, uma vez que tais ocorrências podem não ser reconhecidas como sendo relacionadas à vacinação e acabam não ser reportadas aos junto aos fabricantes do produto (TIZARD; SCHUBOT, 2009; DAY et al., 2016).

Apesar de relativamente raros, efeitos indesejáveis e prejudiciais à saúde do hospedeiro têm sido relatados pelo uso de vacinas e antes de aplicar uma vacina, o veterinário deve considerar a possibilidade de ocorrência de eventos e reações adversas. Esses fatores precisam ser ponderados, uma vez que animais com febre, desnutridos, debilitados, altamente parasitados ou imunossuprimidos frequentemente não apresentam soroconversão adequada e estão sujeitos a um risco maior de desenvolver reações adversas (TIZARD; SCHUBOT, 2009; CANAL; VAZ; 2012).

7. LIMITAÇÕES

Durante a campanha de vacinação, houve quatro momentos desde a recepção do tutor com o animal, até sua saída. A primeira consistiu no registro do animal e participação dos tutores no inquérito epidemiológico; a segunda, da realização de um exame físico geral para encaminhar o animal à vacinação; a terceira, da coleta de sangue para realização de exames laboratoriais e a última, da aplicação da vacina. No entanto, como limitação do estudo, foram observadas lacunas de informações e respostas contraditórias no inquérito aplicado, sugerindo fator de confusão aos tutores por falha na formulação do questionário. Nem todos os tutores que responderam ao inquérito tiveram seus animais vacinados devido a alterações identificadas durante o exame físico incompatíveis com a realização do procedimento. Nem todos os animais vacinados tiveram amostras de sangue coletadas em função de comportamento agitado e/ou temperamento resistentes à contenção necessária ao procedimento. Nem todas as amostras de sangue coletadas puderam ser submetidas à realização dos exames diagnósticos da presente pesquisa (seis exames laboratoriais: 5 sorologias diferentes e 1 PCR) por limitação da quantidade de amostra para todas as análises e o custo total.

Desta forma, dentre os 644 inquéritos avaliados, participantes da campanha (registrados no inquérito) foram coletadas amostras de sangue de 603 animais, dentre as quais foi realizada sorologia para cinomose em 545; sorologia para parvovirose em 332; sorologia para erliquiose em 438; sorologia para leptospirose em 120 e sorologia para toxoplasmose em 336 (Tabela 22).

Tabela 22: Distribuição das amostras destinadas à sorologia para detecção de anticorpos contra o Vírus da Cinomose canina, Parvovírus Canino, *Toxoplasma gondii*, *Ehrlichia canis* e *Leptospira* spp. de cães participantes da campanha de vacinação contra a cinomose. Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Doença	Total de amostras	Sororreagentes	Não reagentes
Cinomose	545	94	451
Parvovirose	332	305	27
Toxoplasmose	336	178	158
Erliquiose	438	316	122
Leptospirose	120	52	68

A maioria dos cães submetidos aos exames sorológicos apresentaram anticorpos para mais de um agente. Por limitações de registro no inquérito epidemiológico, não houve possibilidade de confirmar animais não reagentes na sorologia para todos os agentes testados.

Do total de 332 animais com sorologia na primovacinação, retornaram após 30 dias para revacinação 209, dos quais foi realizada sorologia em 187 amostras para avaliação de soroconversão vacinal.

8. CONCLUSÕES

- Através da Campanha de vacinação contra a cinomose realizada no Distrito de Rubião Júnior, Botucatu/SP, no período de 2013 foram obtidas as seguintes conclusões:

- As características demográficas da maioria dos cães participantes e o perfil de práticas de guarda responsável exercidos pelos tutores participantes da campanha de vacinação contra cinomose sugerem que o conhecimento sobre a doença favorece a vacinação dos animais;

- Foram encontrados cães sororreagentes para leptospirose (43,33%;52/120), toxoplasmose 52,97%;178/336), erliquiose (72,14%;316/438), cinomose (96,80%;545/563) e parvovirose (69,16%;332/480) com frequência relativamente alta, sugerindo que os agentes etiológicos de cada enfermidade avaliados estão circulando entre os animais;

- A soroconversão dos animais avaliados 30 dias após a primovacinação ocorreu na maioria dos cães (98,93%;185/187), independentemente de qualquer fator associado (variáveis explanatórias do inquérito aplicado), sugerindo que a vacina comercial utilizada na campanha de vacinação contra a cinomose foi eficaz;

- Os eventos adversos observados após a vacinação foram pouco frequentes (7,9%;19/240,) sugerindo que a vacina comercial utilizada durante a campanha de vacinação contra cinomose foi bem tolerada;

9. REFERÊNCIAS

AAHA, Canine vaccination guidelines. In: *American Animal Hospital Association*, 2011. Disponível em: < <https://www.aahanet.org/PublicDocuments/CanineVaccineGuidelines.pdf>> Acesso em 2018.

ABDELMAGID, O., LARSON, L., PAYNE, L., TUBBS, A., WASMOEN, T. & SCHULTZ, R. Evaluation of the Efficacy and Duration of Immunity of a Canine Combination Vaccine against Virulent Parvovirus, Infectious Canine Hepatitis Virus, and Distemper Virus Experimental Challenges. *Veterinary therapeutics*. 5(3) : 173-86. 2004.

ADLER, B.; MOCTEZUMA, A.L.P. *Leptospira* In: GYLES, C.L.; PRESCOTT, J.F.; SONGER, G.; THOEN, CO. *Pathogenesis of bacterial infections in animals* 4.Ed. Wiley-Blackwell cap 28 p. 527-547, 651p. 2010.

AGUIAR, D.M.; CAVALCANTE, G.T.; PINTER, A.; GENNARI, S. M.; CAMARGO, L. M., LABRUNA, M.B. Prevalence of *Ehrlichia canis* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in dogs and *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) ticks from Brazil. *Journal of Medical Entomology*, v. 44, n. 1, p.126-132, 2007.

AGUIAR, D. M.; ZHANG, X.; MELO, A. L. T.; PACHECO, T. A.; MENESES, A. M. C.; ZANUTTO, M. S.; HORTA, M. C.; SANTARÉM, V. A.; CAMARGO, L. M. A.; MCBRIDE, J. W.; LABRUNA, M. B. Genetic diversity of *Ehrlichia canis* in Brazil. *Veterinary Microbiology, Barcelona*, v. 164, n. 3-4, p. 315-321, 2013.

ALMEIDA, Lilliam Ramalho de. CONHECIMENTO DOS USUÁRIOS DO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA SOBRE GUARDA RESPONSÁVEL, BEM-ESTAR ANIMAL E ZOONOSES. 2018. Disponível em:

<<http://rei.biblioteca.ufpb.br:8080/jspui/handle/123456789/3768>>

ALMENDRA, C., PINTO, O., CARMICHAEL, L. & TAVARES, L. Determinação Dos Níveis De Imunidade Humoral Induzidos Pela Vacinação Contra A Esgana

E A Parvovirose Caninas. *Revista Portuguesa De Ciências Veterinárias*. 100: 75-84. 2005.

ALTON, G.D.; BERKE, O.; REID-SMITH, R.; et al. Increase in seroprevalence of canine leptospirosis and its risk factors, Ontario 1998–2006. *Can J Vet Res*. n. 73, p. 167–175. 2009.

ALVES, C.J.; CLEMENTINO, I.J.; OLIVEIRA, A.G.F; FREITAS, T.G; VASCONCELOS, S.A.; MORAIS, Z.M. Avaliação dos níveis de aglutininas anti-leptospira em cães de caça na Paraíba, Brasil. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, v.11, n.1-2, p.68-73, 2004.

ANGELICO, S.M.R.; PEREIRA, C.A.D. Novas diretrizes vacinais para cães – uma abordagem técnica e ética. *Ver Clin Vet*. 2012. Disponível em: < <http://www.cachorroverde.com.br/cv/wp-content/uploads/2013/04/DIRETRIZES-VACINAIS-DIAGRAMADO.pdf> >. Acesso em 2018.

ANGELO, M.J.O. et al. Isolamento de parvovírus canino no Brasil. *Revista da Faculdade de Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo*, v.25, p.123-134, 1980.

ANON. Survey suggests many pets do not receive preventive healthcare. *Veterinary Record* 172, 569. 2013.

ANZAI, E.K. Utilização da pcr para o diagnóstico da leptospirose em cães naturalmente infectados por *Leptospira* spp. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Londrina. 2006.

APPEL, M.J.G. Pathogenesis of canine distemper. *American Journal Veterinary Research*, 30:1167-82.1969.

APPEL, M. J. G.; GILLESPIE, J.H. Canine distemper virus. *Virology Monographs*. v.11, p.1-96. 1972.

APPEL, M.; ROBSON, D.S. A microneutralization test for canine distemper virus. *Am. J. Vet. Res.*, v.34, p.1459-1463, 1973.

APPEL, M.J.G.; SUMMERS, A. Patogenicity of morbilliviruses for terrestrial carnivores. *Vet. Microbiol.*, v.44, p.187-191, 1995.

APTEKMANN, K. P.; GUBERMAN, U. C.; TINUCCI-COSTA, M.; *et al.* VACCINATION PRACTICES IN DOGS AND CATS IN THE VETERINARY HOSPITAL AT UNESP - JABOTICABAL / SP / Práticas de vacinação em cães e gatos no Hospital Veterinário da Unesp- Jaboticabal/SP. *Ars Veterinaria*, v. 29, n. 1, p. 18–22, 2013.

ARAÚJO, V. E. M.; NAVEDA, L. A. B.; SILVA, J. A.; CONTRERAS, R. L. Frequência de aglutininas anti-*Leptospira interrogans* em soros sanguíneos de bovinos, em Minas Gerais, de 1980 a 2002. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, Belo Horizonte, v.57, n. 4, p.430-435, 2005.

AVILA M. O.; FURTADO, L. R. I.; TEIXEIRA, M. M.; ROSADO, R. L. I.; MARTINS, L. F. DA S.; BROD, C. S. Aglutininas anti-leptospíricas em cães na área de influência do Centro de Controle de Zoonoses, Pelotas, RS, Brasil, no ano de 1995. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 28, n. 1, p. 107-110, 1998.

AZEVEDO, S.S. *et al.* Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, Northeast region of Brazil. *Research in Veterinary Science*, v.79, n.1, p.51-56, 2005.

AZEVEDO, S.S.; AGUIAR, D.M.; AQUINO, S.F.; ORLANDELLI, R.C.; FERNANDES, A.R.F.; UCHÔA, I.C.P. Soroprevalência e fatores de risco associados à soropositividade para *Ehrlichia canis* em cães do semiárido da Paraíba. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, São Paulo, v. 48, n. 1, p. 14-18, 2011.

BABBONI, S.D.; MODOLO, JR. Evolution of annual vaccination campaign against dog and cat rabies in municipalities as extensionist activity. 8º Congresso de Extensão Universitária da UNESP, 2015.

BABBONI, S.D; POSSEBON, F; OLIVEIRA JUNIOR, GUMERCINDO, O.L.; MODOLO,J.R.. Estudo da Dinâmica da População de Cães Vacinada Contra a Raiva no Município de Botucatu/SP de 2005 a 2014. *Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.23. p.733-740. 2016.

BARBOSA, M. V. F.; GUIMARÃES, J. E.; ALMEIDA, M. A. O.; GONDIM, L. F. P.; REGIS, G. B. Frequência de anticorpos IgG anti-Toxoplasma gondii em soros de cães errantes da cidade de Salvador/Bahia, Brasil. *Brazil Journal Veterinary Research Animal Science*, São Paulo, v. 40, n. 6, p. 457-465, 2003.

BARCELOS, V.H.L. et al. Prevalência de anticorpos inibidores da hemaglutinação frente ao parvovírus canino em Santa Maria, RS, Brasil. *Revista Brasileira de Medicina Veterinária*, n.10, v.6, p.99-102, 1988.

BATISTA FILHO, M.B. Alimentação, nutrição e saúde. In ROUQUAYROL,M.Z; FILHO,N.A. *Epidemiologia & saúde*, 6.ed. Rio de Janeiro: Medsi. cap.13, p389-414. 2003.

BATISTA, C.S.A; AZEVEDO, S.S.; ALVES, C.J.; VASCONCELLOS, S.A.; MORAIS, M.; CLEMENTINO, I.J.; LIMA, F.S.; ARAUJO NETO, J.O. Soroprevalência de leptospirose em cães errantes da cidade de Patos, Estado da Paraíba, Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 41, n.2, p. 131136, 2004.

BATISTA, C.S.A. et al . Soroprevalência e fatores de risco para a leptospirose em cães de Campina Grande, Paraíba. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte , v. 57, supl. 2, p. 179-185, Sept. 2005.

BEINEKE, C.; PUFF, F.; SEEHUSEN, W. Pathogenesis and immunopathology of systemic and nervous canine distemper, *Vet. Immunol. Immunopathol.* 127. 1–18. 2009.

BEINEKE, ANDREAS, BAUMGÄRTNER, W.; WOHLSEIN, P. “Cross-Species Transmission of Canine Distemper Virus an Update.” *One Health*. 2015.

BELSARE, A.C.; GOMPPER, M.E. Assessing demographic and epidemiologic parameters of rural dog populations in India during mass vaccination campaigns. *Prev Vet Med*.1;111(1-2):139-46. doi: 10.1016/j.prevetmed.2013.04.003. 2013.

BENITEZ, A.N.; et al. Spatial and Simultaneous Representative Seroprevalence of Anti-*Toxoplasma Gondii* Antibodies in Owners and Their Domiciled Dogs in a Major City of Southern Brazil. Ed. W.F. de Boer. *PLoS ONE* 12.7 (2017): e0180906. *PMC*. Web. 14 May 2018.

BIAZONNO, L.; HAGIWARA, M. K.; CORRÊA, A. R. Avaliação da resposta imune humoral em cães jovens imunizados contra a cinomose com vacina de vírus atenuado. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v. 38, n. 5, p. 245-250, 2001.

BIESDORF, S. M. et al. Sorologia negativa e PCR positiva: a importância da biologia molecular para o diagnóstico de leptospirose aguda em um cão. In: *Revista Clínica Veterinária*. v. 13, n. 73, 2008. p. 44-48.

BIRCHARD, J. S.; SHERDING, G. R. Manual Saunders. *Clínica de Pequenos Animais*. 3ª Ed. São Paulo: Roca, p. 2072, 2008.

BLAZIUS, R. D.; ROMÃO, P. R. T.; BLAZIUS, E. M. C. G.; DA SILVA, O. S. Ocorrência de cães errantes soropositivos para *Leptospira* spp. na Cidade de Itapema, Santa Catarina, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 21, n. 6, p. 1952-1956, 2005.

BÖHM, M., THOMPSON, H., WEIR, A., HASTED, A. M., MAXWELL, N. S. & HERRTAGE, M. E. Serum Antibody Titres to Canine Parvovirus, Adenovirus and Distemper Virus in Dogs in the UK Which Had Not Been Vaccinated for at Least Three Years. *Veterinary Record* 154(15): 457-63. 2004.

BOLIN, C.A. Diagnosis of leptospirosis: a reemerging disease of companion animals. *Sem. Vet. Med. Surg. Small Animal*, v.11, n.3, p.166-171, 1996.

BRANDESPIM, D.F. GÍRIO, R.J.S.; FERRAUDO, A.S.; AMARAL NETO, J.; MAGAJEVSKY, F.S. Utilização do sistema de informação georreferenciada (SIG) no estudo de ocorrência da *Leptospira interrogans*, *sovares canicola* e *icterohaemorrhagiae*, na população canina do município de Jaboticabal, Estado de São Paulo. *Ars Veterinária*, v.21, n.1, p.51-61, 2005.

BRASIL. Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990. Dispões sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a aorganização e o funcionamento dos serviços correspondetes e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 20 set. 1990. P. 18055.

BRASIL, Programa Nacional de Imunização: 30 anos. Secretaria de Vigilância à Saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2003.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Guia de vigilância epidemiológica / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – 7. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2009. 816 p. – Série A. Normas e Manuais Técnicos.

BRASIL, Situação Epidemiológica- Raiva Humana. 2017 Disponível em: <<http://portalms.saude.gov.br/saude-de-a-z/raiva/situacao-epidemiologica>>. Acesso em 2018.

BRITO, L.B.S.; PEREIRA, O.T.; OLIVEIRA, P.A.C.;TEÓFILO, T.S.; OLIVEIRA, R.M.; SILVA, A.L.A.; TORRES, M.A.O. Aspectos epidemiológicos da cinomose em cães atendidos em um Hospital Veterinário no período de 2011 a 2013 (SÃO LUÍS- MA). 2016 vol: 10 (7) pp: 518-522.

BULLA, C.; TAKAHIRA, R. K.; ARAUJO JUNIOR, J. P.; TRINCA, L. A.; LOPES, R. S.; WIEDMEYER, C. E. The relationship between the degree of thrombocytopenia and infection with *Ehrlichia canis* in an endemic area. *Veterinary Research*, Ottawa, v. 35, n. 1, p. 141-146, 2004.

BUONAVOGLIA, C.; TOLLIS, M. BUONAVOGLIA, D.; PUCCINI, A. Response of pups with maternal derived antibody to modified-live canine parvovirus vaccine. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, v. 15, p. 281-283, 1992.

BUONAVOGLIA, C.; MARTELLA, V.; PRATELLI, A.; TEMPESTA, M.; CAVALLI, A.; GRECO, G.; BUONAVOGLIA, D. Evidence for evolution of canine parvovirus type 2 in ITALY. *J. Gen. Virol.* v.82 p.3021-3025, 2001.

CAETANO, M.G.U. NOVAS TECNOLOGIAS EM VACINAS DE ANIMAIS DE COMPANHIA (Monografia). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2011.

CAMARGO, M.E. Introdução as técnicas de imunofluorescência. *Rev Bras Patol Clín*, v.10, n.3, p.87-107, 1974.

CAMARGO, M.E. Diagnóstico sorológico da toxoplasmose na gravidez. *Revta Assoc. Méd. Bras.* 21(11):341-346, 1975.

CANAL, C. W.; VAZ, C. S. L. Vacinas víricas. IN: FLORES, E. F., et al. IN: FLORES, E. F. *Virologia Veterinária. Virologia Geral e Doenças Víricas*. 2ed. Santa Maria. UFSM. p. 367-398, 2012.

CANATTO, B.D. et al . Caracterização demográfica das populações de cães e gatos supervisionados do município de São Paulo. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte. v. 64, n. 6, p. 1515-1523. 2012.

CAÑÓN-FRANCO, W.A. et al. Occurrence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in dogs in the urban area of Monte Negro, Rondônia, Brazil. *Veterinary Research Communications*, v.28, p.113-118, 2004.

CAÑÓN-FRANCO et al., 2004; AZEVEDO et al., 2005; SILVA et al., 2010; DANTAS et al., 2013; RAIMUNDO e al., 2015

CARDENAS, A.M., DOYLE, C.K., ZHANG, X., NETHERY, K., CORSTVET, R.E., WALKER, D.H., MCBRIDE, J.W. Enzyme-linked immunosorbent assay with conserved immunoreactive glycoproteins gp36 and gp19 has enhanced sensitivity and provides species-specific immunodiagnosis of *Ehrlichia canis* infection. *Clinical and Vaccine Immunology*, v.14, p. 123–128, 2007.

CARMICHAEL, L.E. et al. Haemagglutination by canine parvovirus: serologic studies and diagnostic application. *American Journal of Veterinary Research*, v.41 n.5, p.784-791, 1980.

CARMICHAEL, L.E; JOUBERT, J.C.; POLLOCK, R.V. A modified live canine parvovirus vaccine. II. Immune response. *Cornell Vet*;73:13e29. 1983.

CARMICHAEL, L. E. An annotated historical account of canine parvovirus. *Journal of Veterinary Medicine B Infectious Diseases & Veterinary Public Health*, 52, 303–311. 2005.

CARNEIRO, B.F.; MIRANDA, M.M.; NETO, O.J.S.; LINHARES, G.F.C.; ARAÚJO, L.B.M. Inquérito sorológico para *Toxoplasma gondii* em mamíferos neotropicais mantidos no centro de triagem de animais silvestres, Goiânia, Goiás. *Rev Patol Trop*.;43(1):69-78. 2014.

CARVALHO, F.S., WENCESLAU, A.A., CARLOS, R.S.A., ALBUQUERQUE G.R. Epidemiological and molecular study of *Ehrlichia canis* in dogs in Bahia, Brazil. *Genetic and Molecular Research*, v. 7, n.3, p. 657-662, 2008.

CASTANHEIRA, P.; DUARTE, A.; GIL, S.; CARTAXEIRO, C.; MALTA, M.; VIEIRA, S. et al. Molecular and serological surveillance of canine enteric viruses in stray dogs from Vila do Maio, Cape Verde. *BMC Vet Res* 2014.

CASTRO, M. B.; MACHADO, R. Z.; AQUINO, L. P. C. T.; ALESSI, A. C.; COSTA, M. T. Experimental acute canine monocytic ehrliquitosis: clinicopathological and immunopathological findings. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 119, n. 1, p. 73-86, 2004.

CASTRO, J.R.; SALABERRY, S.R.S.; SOUZA, M.A.; LIMA-RIBEIRO, N.M.C. Predominant *Leptospira* spp. serovars in serological diagnosis of canines and humans in the city of Uberlândia, State of Minas Gerais, Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 44(2):217-222, mar-abr, 2011.

CFMV. Conselho Federal de Medicina Veterinária, Brasília/DF. Resolução nº 962, de 27 de agosto de 2010. Disponível em: <<http://www.cfmv.org.br/consulta/arquivos/962.pdf>>. Acesso em 2018.

CIPOLLA, M., BONIZZI, L., & ZECCONI, A. From “One Health” to “One Communication”: The Contribution of Communication in Veterinary Medicine to Public Health. *Veterinary Sciences*, 2(3), 135–149. 2015.

CLEAVELAND, S.; KAAR,E, M.; KNOBEL, D.; LAURENSEN, M.K., Canine vaccination—providing broader benefits for disease control. *Vet. Microbiol.* 117, 43–50. 2006.

COIRO, C.J.; LANGONI, H.; DA SILVA, R.C.; ULLMANN, L.S.; Fatores de risco para leptospirose, leishmaniose, neosporose e toxoplasmose em cães domiciliados e peridomiciliados em Botucatu-SP. *Vet Zootec.* v.18, n.3, p. 393-407, 2011.

COSTA, V.M.; SILVA, R.C.; BRANT, J.L.; MÓDOLO, J. R.; LANGONI, H. Prevalence and geographical distribution of *Toxoplasma gondii* in dogs in the urban area of Botucatu, SP, Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, São Paulo, v. 50, n. 2, p. 152-155, 2013.

COYNE, M.J.; BURR, J.H.; YULE, T.D.; HARDING, M.J.; TRESNAN, D.B.; MCGAVIN, D. Duration of immunity in dogs after vaccination or naturally acquired infection. *Veterinary Record*, v.149, n. 17, p. 509-515, 2001.

CRAVEIRO, A.M; Biotecnologia e biossegurança na produção de vacinas e kits diagnósticos. Recife, v. 11, suplemento 1, abril 2008. Disponível em: <http://www.veterinarianos-trópicos.org.br>. Acesso em 2018.

DAGNONE, A. S.; MORAIS, H. S. A.; VIDOTTO, O. Erliquiose nos animais e no homem. *Ciências Agrárias*. n. 2. p. 191- 201, 2001.

DAGNONE, A. S.; AUTRAN, H. S. M.; VIDOTTO, M. C.; JOJIMA, F. S.; VIDOTTO, O. Ehrlichiosis in anemic, thrombocytopenic, or tick-infested dogs from a hospital population in south Brazil. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 117, n. 4, p. 285-290, 2003.

DAGNONE, A.S., SOUZA, A.I., ANDRÉ, M.R., MACHADO, R.Z. Molecular diagnosis of Anaplasmatidae organisms in dogs with clinical and microscopical signs of ehrlichiosis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 18, n.4, p. 20- 25, 2009.

DANTAS, S.B.A.; FERNANDES, A.R.F.; SOUZA, O.L.S.; *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. *Ciência Rural*, v. 43, n. 11, p. 2042–2048, 2013.

DA SILVA, A.V.; CULOTO, A.A.; LANGONI, H. Comparação da reação de Reação de Imunofluorescência Indireta e do Método de Aglutinação direta na detecção de anticorpos anti- *Toxoplasma gondii* em soro de ovino, caprino, canino e felino. *Arquivo do Instituto Biológico*, v. 69, n.1, p.7-11, 2002.

DA SILVA RC, DE LIMA VY, TANAKA EM, DA SILVA AV, DE SOUZA LC, LANGONI H. Risk factors and presence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in dogs from the coast of São Paulo State, Brazil. *Pesq Vet Bras*; 30: 161 166. 2010.

DAY, M. J.; HORZINEK, M.; SCHULTZ, R. D. Guidelines for the vaccination of dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice* 51, 338-356. 2010.

DAY, M. J. Vaccination. In: M. J. Day (Ed.), *Clinical Immunology of the Dog and Cat*. (2nd ed.). Bristol: Manson Publishing. p. 413-430. 2012.

DAY, M. J., HORZINEK, M. C., SCHULTZ, R. D. & SQUIRES, R. A. WSAVA Guidelines For The Vaccination of Dogs and Cats – Compiled by the Vaccination Guidelines Group of the World Small Animal Veterinary Association. *Journal of Small Animal Practice* (57) 1-45. 2016.

DE LUCCA T, RODRIGUES RC, CASTAGNA C, PRESOTTO D, DE NADAI DV, FAGRE A, et al. Assessing the rabies control and surveillance systems in Brazil: an experience of measures toward bats after the halt of massive vaccination of dogs and cats in Campinas, Sao Paulo. *Prev Vet Med*;111(1-2):126-33. 2013.

DECARO, N.; CAMPOLO, M.; DESARIO, C.; *et al.* Maternally-derived antibodies in pups and protection from canine parvovirus infection. *Biologicals: Journal of the International Association of Biological Standardization*, v. 33, n. 4, p. 261–267, 2005.

DECARO, N.; GREENE, C.E. 2012. Canine viral enteritis, p.67-75. In: Greene C.E. (Ed.), *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 4th ed. Saunders, Elsevier, St Louis, MO.

DEL PUERTO, H. L.; VASCONCELOS, A. C ; MORO, L. ; ALVES, F.; BRAZ, G. F.; MARTINS, A. S. Canine distemper virus detection in asymptomatic and non vaccinated dogs. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 30. n. 2, p. 139-144, 2010.

DEZENGRINI, R.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Soroprevalência das infecções por parvovírus, adenovírus, coronavírus canino e pelo vírus da cinomose em cães de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 37, n. 1, p. 183-189, 2007.

DODET, B., MESLIN, F.X. (Eds.), 2001. Rabies Control in Asia. *Elsevier*, Paris.

DOMINGUES L.R. Posse responsável de cães e gatos na área urbana do município de Pelotas, RS, Brasil. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 87 f. 2012.

DUBEY, J.P., *Toxoplasmosis of Animals and Humans*, second ed. CRC Press, Boca Raton, FL. 2010.

DUBEY JP, LAGO EG, GENNARI SM, SU C, JONES JL. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease and epidemiology. *Parasitology*; 139: 1375- 1424. 2012.

DUBEY,J.P.;HILL, D.E. *Toxoplasma gondii* prevalence in farm animals in the United States. *Int J Parasitol.* Feb;43(2):107-13. 2013.

ELIZEIRE, M.B. EXPANSÃO DO MERCADO PET E A IMPORTÂNCIA DO MARKETING NA MEDICINA VETERINÁRIA. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 49f.

FAVERO, Andrea Cecília Mercaldi et al . Sorovares de leptospiros predominantes em exames sorológicos de bubalinos, ovinos, caprinos, eqüinos, suínos e cães de diversos estados brasileiros. *Cienc. Rural*, Santa Maria , v. 32, n. 4, p. 613-619, Aug. 2002 .

FEITOSA, F.L.F. *Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico*. São Paulo: Roca, 2004.

FERNANDES, K. D.; FILHO, R.J.; FILONI, C.J. Avaliação de suscetibilidade à cinomose em cães institucionalizados no município de Taubaté-SP. *Health Sci Inst.* vol: 31 (2) pp: 210. 2013.

FERREIRA, A. I. C.; DE MATTOS, C. C. Brandão; FREDERICO, F. B.; et al. Risk factors for ocular toxoplasmosis in Brazil. *Epidemiology and Infection*, p. 1–7, 2013.

FIGHERA, R. A. ; SOUZA, T. M. ; SILVA, M. C. ; BRUM, J. S. ; GRAÇA, Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesoregião do Centro Ocidental Rio-Grandense (1965-2004). *Pesq. Vet. Bras.* 28(4):223-230, abril 2008.

FIGUEREDO LA, SALES KGS, DEUSTER K, POLLMEIER M, OTRANTO D, DANTAS-TORRES F. Exposure to vector-borne pathogens in privately owned dogs living in different socioeconomic settings in Brazil. *Vet Parasitol.* 2017;243:18–23

FIORELLO, C.V.; DEEMS, S.L.; MATTHEW, E.G.; DUBOBI, E.J. Seroprevalence of pathogens in domestic carnivores on the boarder of Madidi National Park, Bolivia. *Animal Conservation*, V. 7, p.45-54, 2004.

FORD, R. B. Companion Animal Vaccines and Vaccination. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. (Eds.). *Veterinary Internal Medicine*. (7th ed.). Canada: Saunders Elsevier Co. v.1, p. 853-862. 2010.

FRANDALOSO, R. et al. Avaliação soropidemiológica da parvovirose canina na região de Passo Fundo. In: MOSTRA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 14. 2004, Passo Fundo. *Resumos*. Passo Fundo: Universidade de Passo Fundo, 2004.

FRANK, J. R.; BREITSCHWERDT, E. B. A retrospective study of ehrlichiosis in 62 dogs from North Carolina and Virginia. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, v. 13, n. 3, p. 194-201, 1999.

FREITAS-FILHO, E.G.; FERREIRA, M.R.A.; DIAS, M.; MOREIRA, C.N. Prevalência, fatores de risco e associações laboratoriais para Cinomose canina em Jatai-GO. *Enciclopédia Biosfera*, Centro Científico Conhecer - Goiânia, 10(18): 2356, 2014.

FUKUDA, T. Epidemiologia de la leptospirose canina. *Bol. Zoonosis*, v. 16, p. 115-119, 1974.

FURTADO, L.R.I.; AVILA, M.O.; FEHLBERG, M.F.B.; TEIXEIRA, M.M.; ROSADO, R.L.I.; MARTINS, L.F.S.; BROD, C.S. Prevalência e avaliação de fatores de risco a leptospirose canina, no município de Pelotas-RS. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, v.64, n.1, p.57-61, 1997.

GAMA, F.G.V.; NISHIMORI, C.T.; SOBREIRA, M.R. et al. Evaluation of electrophoretic profile and albumin quota in the cerebrospinal fluid of dogs with distemper showing or not nervous signs. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia.*, v.59, p.77-80, 2007.

GARCIA, JL; NAVARRO, IT; OGAWA, L; OLIVEIRA, RC; GARCIA, SMF; LEITE, J. Soroepidemiologia da toxoplasmose e avaliação ocular pela Tela de Amslerr, em pacientes da zona rural, atendidos na unidade de saúde do município de Jaguapitã, PR, Brasil. *Rev Inst Med Trop.* v.45, p. 147-151, 2003.

GENNARI, S. M. Principais helmintos intestinais em cães no Brasil. 2015. Disponível em:<https://www.researchgate.net/profile/Solange_Gennari/publication/279538629_Principais_helmintos_intestinais_de_caes_e_gatos/links/55969f9e08ae99aa62c88f1a/Principais-helmintos-intestinais-de-caes-e-gatos.pdf>. Acesso em 2018.

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

GILBERT, M.; MIQUELLE, D.G.; GOODRICH, J.M.; REEVE, R.; CLEVELAND, S.; MATTHEWS, L.; JOLY, D.O. Estimating the potential impact of canine distemper virus on the Amur tiger population (*Panthera tigris altaica*) in Russia. *PLoS One.* 9(10): 2014.

GLASNER, PD; SILVEIRA, C; KRUSZON-MORAN, D; MARTINS, MC; BURNIER, M; SILVEIRA, JR; CAMARGO, ME; NUSSENBLATT, RB; KASLOW, RA; BELFORT, R. JR. An unusually high prevalence of ocular toxoplasmosis in southern Brazil. *Am J ophthalmol.* v.114, p. 136-144, 1992.

GODDARD, A., & LEISEWITZ, A. L. Canine parvovirus. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 40, 1041–1053. 2010.

GOMES, M.C.O. Sorologia para toxoplasmose. *Rev. Fac. Ciênc. Méd.* Sorocaba, v. 6, n. 2, p. 8 - 11, 2004.

GOUVEIA, A.M.G.; MAGALHÃES, H.H.; RIBEIRO, A.L. Cinomose canina: ocorrência em animais vacinados e distribuição por faixa etária. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 39:539-45. 1987.

GREENE, G. E.; APPEL, M. J. Canine Distemper. In: Greene, G. E. (3Ed.). *Infectious Diseases of Dog and the Cat*. St Louis: Saunders Elsevier, p.2541. 2006.

GREENE, C. E. Ehrlichia and Anaplasma Infections. In: (Ed.). *Infectious diseases of the dog and cat*. 4. ed. Saint Louis: Elsevier, cap. 26, p. 227-260. 2012.

GREENE, C. E.; LEVY, J. K. Immunoprophylaxis. In C.E. Greene (Ed.), *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. (4th ed.). Philadelphia: Saunders Elsevier C. p. 1163-1204. 2012.

GREENE, C. E.; VANDEVELDE, M. Canine distemper. In: GREENE, C. E. *Infectious diseases of the dog and cat*. 4th ed. St. Louis: Elsevier, 2012. p. 2542

GROLI, P. DETERMINAÇÃO DO TÍTULO DE ANTICORPOS CONTRA O PARVOVIRUS CANINO EM CÃES RESIDENTES DE UM ABRIGO NO MUNICÍPIO DE MEDANEIRA, PARANÁ. 5ª Semana Integrada de Ensino, Pesquisa e Extensão | www.siepe.ufpr.br. Disponível em: <http://www.prppg.ufpr.br/sites/default/files/documentos/ic/evinci/21/cd_evinci2013/evinci/resumo_0402.html>.

GUEDES, I. B.; LIMA, A. S.; ESPINHEIRO, R. F.; MANSSOUR, M. B.; CRUZ, I. P.; DIAS, H. L. T. Occurrence and geographical assessment of canine distemper in the city of Belém, Pará-Brazil. 2010.

HAGIWARA, M.K. et al. Enterite hemorrágica em cães associada à infecção por um parvovírus. *Arquivos do Instituto Biológico*, v.47, n.1/2, p.47-49, 1980.

HAGIWARA, M. K. Leptospirose canina. Boletim Técnico. Pfizer Saúde Animal, p. 1-6, nov. 2003.

HAGIWARA, M. K.; LUSTOSA, M.; KOGIKA, M. M. Leptospirose canina. Vet News, v. XI, n. 67, p. 7-8, 2004.

HAN, B.A.; ANDREW M.K.; DRAKE, J.D. Global Patterns of Zoonotic Disease in Mammals. *Trends in parasitology* v. 32. n. 7, p. 565–577. 2016.

HARRUS, S.; BARK, H.; WANER, T. Canine monocytic ehrlichiosis: an update. Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian, v. 19, n. 4, p. 431-444, 1997.

HARRUS, S.; OFRI, R.; AIZENBERG, I.; WANER, T. Acute blindness associated with monoclonal gammopathy induced by Ehrlichia canis. *Veterinary Parasitology*, v. 78, n. 2, p. 155-160, 1998.

HARRUS, S. et al. Comparison of three enzyme-linked immunosorbant assays with the indirect immunofluorescent antibody test for the diagnosis of canine infection with Ehrlichia canis. *Veterinary Microbiology*, v. 86, n. 4, p. 361-368, 2002.

HARRUS, S.; KENNY, M.; MIARA, L.; AIZENBERG, I.; WANER, T.; SHAWN, S. Comparison of simultaneous splenic sample PCR with blood sample PC for diagnosis and treatment of experimental Ehrlichia canis infection. *Antimicrobial agentes and chemotherapy*, v.48, n.11, p. 4488-4490, 2004.

HARRUS, S.; WANER, T.; NEER, T. M. *Ehrlichia canis* infection. In: GREENE, C. E. (Org.). *Infectious diseases of the dog and cat*. 4th edition. Georgia: Elsevier, p. 227- 256, 2015.

HARTMANN, T.L.S.; BATISTA, H.B.C.R; DEZEN, D.; et al.; Anticorpos neutralizantes contra os vírus da cinomose e da parainfluenza em cães de

canis dos municípios de Novo Hamburgo e Porto Alegre, RS, Brasil. *Ciência Rural*, v. 37, n. 04, Santa Maria, jul./ago. 2007.

HASEGAWA, M. Y.; KOHAYAGAWA, A.; BRANDÃO, L. P.; MORGULIS, M. S.; HAGIWARA, M. K. Evaluation of neutrophil oxidative metabolism in canine monocytic ehrlichiosis. *Veterinary Clinical Pathology*, v. 34, n. 3, p. 213-217, 2005.

HASS, R.; JOHANN, J.M.; CAETANO, C.F.; FISCHER, G.; VARGAS, G.D.; VIDOR, T.; HÜBNER, S.O. Níveis de anticorpos contra o vírus da cinomose canina e o parvovírus canino em cães não vacinados e vacinados. *Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 60, n. 1, p. 270-274, 2008.

HEADLEY, S. A.; GRAÇA, D. L. Canine distemper: epidemiological findings of 250 cases. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, São Paulo, v. 37, n. 2, p. 136-140, 2000.

HEADLEY, S. A.; AMUDE, A. M.; ALFIERI, A. F.; BRACARENSE, A. P. F. R. L.; ALFIERI, A. A. Epidemiological features and the neuropathological manifestations of canine distemper virus induced infections in Brazil: a review. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 33, n. 5, p. 1945-1978, 2012.

HOARE, C.M.; DEBOUCK, P.; WISEMAN, A. Immunogenicity of a low-passage, high-titer modified live canine parvovirus vaccine in pups with maternally derived antibodies. *Vaccine*, v.15, p.273-275, 1997.

HOCHMAN, Gilberto. Vacinação, varíola e uma cultura da imunização no Brasil. *Ciênc. saúde coletiva*, Rio de Janeiro , v. 16, n. 2, p. 375-386, 2011 .

HOSKINS, J.D. *Doenças Virais Caninas*. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. *Tratado de Medicina Interna Veterinária - Doenças do Cão e do Gato*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A. 5. ed, v. 1. p. 442 - 444, 2004..

HOOVER, J.P.; BALDWIN, S.A.; RUPPRECHT, C.E. Serologic response of domestic ferrets (*Mustela putorius furo*) to canine distemper and rabies virus vaccines. *J Am Vet Med Assoc* 194: 234-238.1989.

HÜBNER, S. A.; PAPPEN, F. G.; RUAS, J. L.; VARGAS, G. D.; FISCHER, G.; VIDOR, T. Exposure of pampas fox (*Pseudalopex gymnocercus*) and crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) from the Southern region of Brazil to Canine distemper virus (CDV), Canine parvovirus (CPV) and Canine coronavirus (CCoV). *Brazilian Archives of Biology and Technology*, Curitiba, v. 53, n. 3, p. 593-597, 2010.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Índice Paulista De Vulnerabilidade Social (IPVS). São Paulo: Fundação Seade. 2010. Disponível em < <http://indices-ilp.al.sp.gov.br/view/index.php?selLoc=0&selTpLoc=2&prodCod=2> >. Acesso em: março de 2018.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE) - Infográficos: dados gerais dos municípios. 2015. Disponível em: <http://www.saude.sp.gov.br/resources/instituto-pasteur/pdf/dados-estatisticos/populacao_de_caes_e_gatos__2015_final_2.pdf> Acesso em 2018.

JASZCZERSKI D.C.F.C. 2005. Cinética da resposta imune humoral em cães imunizados com *Leptospira interrogans* sorovares icterohaemorrhagiae, canicola, pomona e grippotyphosa. Dissertação de Mestrado em Patologia, Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR. 82p.

JESUS, N. H. Meios Diagnósticos da Leptospirose Canina. Mossoró, UFERSA, 2009. 21 p. Monografia - Curso de Especialização em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Mossoró, 2009.

JORGENS, E. N.; SCHMITT, C. I. Leptospirose em cães: uma revisão bibliográfica. Cruz Alta: UNICRUZ, 2011. 4 p. Seminário Interinstitucional de Ensino, Pesquisa e Extensão, Universidade de Cruz Alta, Cruz Alta, 2011.

JOZWIK, A.; FRYMUS, T.; MIZAK, B. et al. Antibody titres against canine distemper virus in vaccinated and unvaccinated dogs. *J. Vet. Med. B.*, v.51, p.99-103, 2004.

KATAGIRI, S.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T.C. Prevalence of dog intestinal parasites and risk perception of zoonotic infection by dog owners in São Paulo State, Brazil. *Zoonoses Public Health*. 2008 Oct;55(8-10). 2008.

KLAASE, H.L.B.M.; MOLKENBOER, M.J.C.H.; VRIJENHOEK, M.P.; KAASHOEK, M.J. Duration of immunity in dogs vaccinated against leptospirosis with a bivalente inactivated vaccine. *Veterinary Microbiology*, Amsterdam, v.95, n.1-2, p.121-132, 2003.

KNOBEL, D.L.; BUTLER, J.R.; LEMBO, T.; CRITCHLOW, R.; GOMPPER, M.E. Dogs, disease, and wildlife. In: GOMPPER, M.E., editor. *Free-ranging dogs and wildlife conservation*. Oxford: Oxford University Press; 2014. p. 144–69

LABARTHE N. et al. Serologic prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis* and *Borrelia burgdorferi* infection in Brazil. *Veterinary Therapeutics*, v. 4, p. 67-75, 2003.

LANGONI, H.; TRONCARELLI, M.Z.; RODRIGUES, E.C.; NUNES, H.R.C.; HARUMI, V.; HENRIQUES, M.V.; SILVA, K.M.; SHIMONO, J.Y. Conhecimento da População de Botucatu-Sp Sobre Guarda Responsável de Cães e Gatos. *Vet. e Zootec.* jun.; 18(2): 297-305. 2011.

LANGONI, H.; COIRO, C. J.; SILVA, R.C. Epidemiological Aspects in the *Leptospira* spp. and *Toxoplasma gondii* Infection in Horses from Botucatu, São Paulo, Brazil. *Journal of Equine Veterinary Science*, v. 32, p. 620-623, 2012.

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*, 44(4), 1327–1330. 2013.

LANGONI H, PONTE MC, BARBOSA D, MANZI MP, SILVA RC, MENOZZI BD. Pesquisa anticorpos e de DNA de *Leptospira* spp. em soro canino. *Vet. e Zootec. set.*; 22(3): 429-436. 2015.

LAPPIN, M. R.. Doenças Bacterianas Polissistêmicas. In: COUTO, C. Guilherme; NELSON, Richard W. *Medicina Interna de Pequenos Animais*. 3ª Ed. Rio de Janeiro: Elsevier. p. 1222-1224, 2006.

LEVETT, P.N. Leptospirosis. *Clinical Microbiology Reviews*, Washington, v. 14, n.2, p.296-326- 2001.

LIMA, A.F.M.; LUNA, S.P.L. Algumas causas e consequências da superpopulação canina e felina: acaso ou descaso? *Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP/ Journal of Continuing Education in Animal Science of CRMV-SP*. v. 10, n. 1, p. 32-38, 2012.

LIMBERT, B.N.P; MENEZES, J. S.; FERNANDES, S.S.P. Estudo da Triade: Educação Sanitária, Posse responsável e Bem estar animal em animais de companhia em comunidades de baixa renda. *Anuário de Produção e Iniciação Científica Discente*, Vol.XII, nº 13, ano 2009, p.99-108

LITSTER, A.; PRESSLER, B.; VOLPE, A.; DUBOVI, E. Accuracy of a point-of-care ELISA test kit for predicting the presence of protective canine parvovirus and canine distemper virus antibody concentrations in dogs.” *Veterinary Journal* 193(2): 363-66. 2012.

LOSS L.D., MUSSI J.M.S., MELLO I.N.K., LEÃO M.S. FRANQUE M.P.. Posse responsável e conduta de proprietários de cães no município de Alegre-ES. *Acta Vet. Bras.* 6:105-111. 2012.

LÚCIO, E.C.; PIMENTEL, J.L.; CLEMENTE, S.M.S.; MACHADO, A.C.; OLIVEIRA, J.M.B.; BRANDESPIM, D.M.; JÚNIOR, J.L.S.; JÚNIOR, J.W.P. Análise epidemiológica da infecção pelo vírus da cinomose, em cães do município de Garanhuns, Pernambuco, Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 35, n. 3, p. 1323-1330, 2014.

MACIEIRA, D.B., MESSICK, J.B., CERQUEIRA, A.M.F., FREIRE, I.M.A., LINHARES, G.F.C.L., ALMEIDA, N.K.O., ALMOSNY, N.R.P. Prevalence of Ehrlichia canis infection in thrombocytopenic dogs from Rio de Janeiro, Brazil. *Veterinary Clinical Pathology*, v.34, p.1, p. 44-48, 2005.

MACLACHLAN, N. J.; DUBOVI, E. J. Paramyxoviridae. *Fenner's veterinary virology*. 4. ed. California, San Diego: Academic Press, 2011. p. 299-325.

MAGALHÃES, F.J.R.; RIBEIRO-ANDRADE, M.; SOUZA, F.M.; LIMA FILHO, CDF.; BIONDO, A.W.; VIDOTTO.O.; NAVARRO, I.T.; MOTA, R.A. Seroprevalence and spatial distribution of Toxoplasma gondii infection in cats, dogs, pigs and equines of the Fernando de Noronha Island, Brazil. *Parasitol Int*. 66(2):43-46. doi: 10.1016/j.parint.2016.11.014. Epub 2016 Nov 25. 2017

MANGIA, S.H. 2008. Tratamento experimental de cães naturalmente infectados com o vírus da cinomose na fase neurológica com o uso da ribavirina e dimetil-sulfóxido (DMSO). Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP. 152p.

MARTELLA, V.; ELIA, G.; BUONAVOGLIA, C. Canine Distemper Virus. *Vet Clin Small Anim.*, v.38, p.787-797, 2008.

MASCOLLI, R.; PINHEIRO, S.R.; VASCONCELLOS, S.A.; FERREIRA, F.; MORAIS, Z.M.; C.O. PINTO, SUCUPIRA, M.C.A.; DIAS, R.A.; MIRAGLIA, F.; CORTEZ, A.; SILVEIRA DA COSTA, S.; TABATA, R.; MARCONDES, A.G. Inquérito sorológico para leptospirose em cães do município de Santana de

Parnaíba, São Paulo, utilizando a campanha de vacinação anti-rábica do ano de 1999. *Arq. Inst. Biol.*, São Paulo, abr./jun., v.69, n.2, p.25-32. 2002.

MASCOLLI, R. Leishmaniose, leptospirose, brucelose, toxoplasmose, neospora e doença de Chagas na população canina da Estância Turística de Ibiúna, São Paulo: Inquérito de prevalência e fatores de risco. 2010. 218 f. Tese (Doutorado em Epidemiologia Experimental Aplicada a Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010

MASCOLLI, R.; et al. Prevalência e fatores de risco para a leptospirose e brucelose na população canina da Estância Turística de Ibiúna, São Paulo, Brasil. *Arq. Inst. Biol.* [online]. 2016, vol.83, 0842014. Epub Apr 19, 2016.

MCCARTHY, A.J.; SHAW, M.A.; GOODMAN, S.J.. Pathogen evolution and disease emergence in carnivores. *Proc Biol Sci Royal Soc*;274(1629):3165–74.. 2007.

MCCAW DL, THOMPSON M, TATE D, BONDERER A & CHEN Y Serum distemper virus and parvovirus antibody titers among dogs brought to a veterinary hospital for revaccination. *Journal of Veterinary Medical Association*, 213:72-5.(1998).

MEGID, J.; TEIXEIRA, C.R.; CORTEZ, A.; HEINEMANN, M.B.; ANTUNES, J.M.; FORNAZARI, F.; RASSY, F.B.; RICHTZENHAIN, L.J. Canine distemper virus infection in a lesser grison (*Galictis cuja*): first report and virus phylogeny. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(2): 247250, 2013.

MEIRELES, L.R.; GALISTEO Jr., A.J.; POMPEU, E. & ANDRADE Jr., H.F. *Toxoplasma gondii* spreading in an urban area evaluated by seroprevalence in free-living cats and dogs. *Trop. Med. int. Hlth.*, 9: 876-881, 2004.

MELO, A. T. L.; MARTINS, T. F.; HORTA, M. C.; MORAES-FILHO, J.; PACHECO, R. C.; LABRUNA, M. B.; AGUIAR, D. M. Seroprevalence and risk factors to Ehrlichia spp. and Rickettsia spp. in dogs from the Pantanal Region of

Mato Grosso State, Brazil. Ticks and Tick borne Disease, Berlin, v. 2, n. 4, p. 213-218, 2011.

MEUNIER. P.C. GLICKMAN, L.T., APPEL, M.J. AND SHIN, S.J. Canine parvovirus in a commercial kennel: epidemiologic and pathologic findings. *Cornell Vet*, v. 71, p. 96110, 1981.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Brasília; Ministério da Saúde; 7 ed;* 2009. 816 p.

MITCHELL, S. A., ZWIJNENBERG, R.J., HUANG, J., HODGE, A. & DAY, M.J. Duration of Serological Response to Canine Parvovirus-Type 2, Canine Distemper Virus, Canine Adenovirus Type 1 and Canine Parainfluenza Virus in Client-Owned Dogs in Australia. *Australian Veterinary Journal* 90(12): 468-73. 2012.

MODOLO, J.R.; LANGONI, H.; PADOVANI, C.R.; SHIMABUKURO, F.H.; MENDONÇA, A.O.; VICTORIA, C.; SILVA, W.B.. Investigação soropidemiológica de leptospirose canina na área territorial urbana de Botucatu, São Paulo, Brasil. *Braz. J. vet. Res. anim. Sci.*, São Paulo, v. 43, n. 5, p. 598-604, 2006.

MONAHAN AM, CALLANAN JJ, NALLY JE. Review paper: host-pathogen interactions in the kidney during chronic leptospirosis. *Vet Pathol* 46:792-799. 2009.

MONTI, F.D.S. Anticorpos contra o vírus da cinomose em cães vacinados em diferentes estabelecimentos da área urbana no município de viçosa/MG. Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa para o Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária. Minas Gerais, 2004.

MORAES, C.C.; J MEGID, J.; PITUCO, E.M.; OKUDA, L.H.; DEL FAVA,C.; DE STEFANO, E.; CROCCI, A.J. Ocorrência de anticorpos anti-Neospora caninum

em cães da microrregião da Serra de Botucatu, Estado de São Paulo, *Brasil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 17, n. 1, p.1-6, 2008.

MORAIS, M.P.; COSTA, P.R. Parvoviridae. In: FLORES, E.F. *Virologia Veterinária*, Santa Maria, ed. da UFSM, 888 p., 2007

MORAIS, M.P.; COSTA, P.R. Adenoviridae. In: FLORES, E.F. *Virologia Veterinária*, Santa Maria, ed. da UFSM, 2. ed., 1008 p. 2012.

MORAES-FILHO, J.; MARCILI, A.; NIERI-BASTOS, F. A.; RICHTZENHAIN, L. J.; LABRUNA, M. B. Genetic analysis of ticks belonging to the *Rhipicephalus sanguineus* group in Latin America. *Acta Tropica*, Canada, v. 117, n. 1, p. 51-55, 2011.

MORALES, A.; GIRIO, R. J. S.; MATHIAS, L. A.; Casos de leptospirose em cães atendidos no Hospital Veterinário da FCAVJ-UNESP durante o período de 1986- 1990. *Ciência Veterinária*, Jaboticabal, v. 4, p. 5-6, 1990.

MOUZIN, D. E., LORENZEN, M. J., HAWORTH, J. D. & KING, V. L. Duration of serologic response to five viral antigens in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 224, 55-60. 2004.

MYERS, D. Leptospirosis: Manual de metodos para el diagnostico de laboratorio. Buenos Aires : Centro Panamericano de Zoonosis, OPS/OMS,. 46p. (Nota técnica 30). 1985.

MYLONAKIS, M.E.; KOUTINAS, A.F.; BREITSCHWERDT, E.B.; HEGARTY, B.C.; BILLINIS, C.D.; LEONTIDES, L.S.; KONTOS, V.S. Chronic canine Ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): A retrospective study of 19 natural causes. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 40(3):174-184. 2004.

NAKAGHI ACH, MACHADO RZ, COSTA MT, ANDRÉ MR, BALDANI CD. Erliquiose canina: aspectos clínicos, hematológicos, sorológicos e moleculares. *Cienc Rural*; 38(3): 766-770. 2008.

NANDI S, KUMAR M. Canine Parvovirus: Current Perspective. *Indian journal of virology : an official organ of Indian Virological Society*.21(1):31-44.2010.

NAVEDA, L.A.B. Epidemiologia da Leishmaniose Visceral Canina no município de Pedro Leopoldo, Minas Gerais, 2003. 54f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 2005.

NEER, T. M. et al. Consensus statement on ehrlichial disease of small animals from the infectious disease study group of the ACVIM. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, Philadelphia, v. 16, p. 309-315, 2002.

NEER, T. M.; HARRUS, S. Canine monocytotropic ehrlichiosis and neorickettsiosis (*E. canis*, *E. chaffeensis*, *E. ruminantium*, *N. sennetsu*, and *N. risticii* infections). In: GREENE, C. E. *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. Saint Louis: Saunders Elsevier, 2006. p. 203-216.

NUNES, J. O. R. Contribuição para o estudo da dinâmica de populações de cães e gatos do Município de Jaboticabal, São Paulo. 2011. 91f. Dissertação (mestrado em Medicina Veterinária). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Reprodução Animal. Universidade Estadual Paulista – Unesp, Jaboticabal, São Paulo, 2011.

OLIVEIRA, P.R.; BORGES, L.M.; LOPES, C.M.; LEITE, R.C. Population dynamics of the free-living stages of *Amblyomma cajennense* (Fabricius, 1787) (Acari:Ixodidae) on pastures of Pedro Leopoldo, Minas Gerais State, Brazil. *Vet. Parasitol.* 92:295-301. 2000.

OLSON, P.; KLINGEBORN, B.; HEDHAMMAR, A. Serum antibody response to canine parvovirus, canine adenovirus-1, and canine distemper virus in dogs with known status of immunization: study of dogs in Sweden. *American Journal of Veterinary Research* 49: 1460–1466. 1988.

ORSINI, H.; BONDAN, E.F. Participação astrocitária na desmielinização do sistema nervoso central (SNC) de cães com cinomose. Rev. Inst. Ciênc. Saúde., v. 26, n. 4, p. 438-42, 2008.

PAROLA P, PADDOCK CD, SOCOLOVSKI C, LABRUNA MB, MEDIANNIKOV O, KERNIF T, ET AL. Update on Tick-Borne Rickettsioses around the World: a Geographic Approach. Clin Microbiol Rev; 26(4): 657-702. 2013.

PERILLE, A.L.; MATUS, R.E. Canine Ehrlichiosis in six dogs with persistently increased antibody titers. J. Vet. Int. Med., v.5, n.3, p. 195-198, 1991.

PERRONE, D.; BENDER, S.; NIEWIESK, S. A comparison of the immune responses of dogs exposed to canine distemper virus (CDV): differences between vaccinated and wild-type virus exposed dogs. Can J Vet Res;74(3):214-7. 2010.

PHILLIPS, T. R.; SCHULTZ, R. D. Canine and feline vaccines. In: KIRK, R. W.; BONAGURA, J. D. (Ed.) Current veterinary therapy XI. Philadelphia: W. B. Saunders, 1992. p. 202-206.

PINHEIRO JR, J.W.; MOTA, R.A.; OLIVEIRA, A.A.F.; FARIA, E.B.; GONDIM, L.F.P.; DA SILVA, A.V.; ANDERLINI, G.A. Prevalence and risk factors associated to infection by *Toxoplasma gondii* in ovine in the state of Alagoas, Brazil, Parasitol. Res. 105 (2009) 709–715.

POLLOCK, R. V., CARMICHAEL, L. E. Maternally derived immunity to canine parvovirus infection: transfer, decline, and interference with vaccination. J. Am. Vet. Med. Assoc, v. 180, p. 37-42, 1982.

POVEY, R.C. Distemper vaccination of dogs: factors which could cause vaccine failure. *Canadian Veterinary Journal*, v. 27, p.321-323, 1986.

PRATELLI, A. et al. Canine parvovirus (CPV) vaccination: comparison of neutralizing antibody responses in pups after inoculation with CPV2 or CPV2b

modified live virus vaccine. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, n.8, v.3, p.612-615, 2001.

RAIMUNDO, Juliana Macedo et al . *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Tocantins: serology and associated factors. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, Jaboticabal , v. 24, n. 4, p. 475-481. 2015.

RAMOS, C. A. N.; RAMOS, R. A. N.; ARAÚJO, F. R.; GUEDES, D. S.; SOUZA JUNIOR, I. I.; ONO, T. M.; VIEIRA, A. S.; PIMENTEL, D. S.; ROSAS, E. O.; FAUSTINO, M. A.; ALVES, L. C. Comparação de nested-PCR com o diagnóstico direto na detecção de *Ehrlichia canis* e *Anaplasma platys* em cães. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 18, p. 58-62, 2009.

RASHID, A.; RASHEED, K. ; ASIM, M. ; HUSSAIN, A. Risks of vaccination: a review. *Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases*, v. 15, n. 1, p. 19-27, 2009.

RIBEIRO, M.G., BELONI, S.N., LANGONI, H. SILVA, A.V. Leptospirose canina. *Boletim Técnico, Departamento Técnico Fort Dodge Saúde Animal*. 2003.

RODRIGUES, J. Y.; et al . Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in dogs of riverside communities of Mato Grosso Pantanal, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, Jaboticabal, v. 25, n. 4, p. 531-535. 2016.

RODRIGUEZ-VIVAS, R.I., ALBORNOZ, R.E.F., BOLIO, G.M.E. *Ehrlichia canis* in dogs in Yucatan, Mexico: seroprevalence, prevalence of infection and associated factors. *Veterinary Parasitology*, 127: 75-79, 2005.

ROGAWSKI, E. T.; GRAY, C. L.; POOLE, C. (2016). An argument for renewed focus on epidemiology for public health. *Annals of Epidemiology*, 26(10),729–733. <http://doi.org/10.1016/j.annepidem.2016.08.008>

ROJAS P, MONAHAN AM, SCHULLER S, MILLER IS, MARKEY BK, NALLY JE. DETECTION and quantification of leptospires in urine of dogs: a

maintenance host for the zoonotic disease leptospirosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 29:1305-1309. 2010.

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

ROTONDANO, T.E.F., KRAWCZAK, F.D.S., BARBOSA, W.O.; MORAES-FILHO, J.; BASTOS, F.N.; LABRUNA, M.B.; AZEVEDO, S.S.; MELO, M.A.; ALMEIDA, A.M.P. Ehrlichia canis and Rickettsia spp. in dogs from urban areas in Paraíba state, northeastern Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* Apr-Jun;26(2):211-215. 2017.

SAITO, T. B.; CUNHA-FILHO, N. A.; PACHECO, R. C.; FERREIRA, F.; PAPPEN, F. G.; FARIAS, N. A.; LARSSON, C. E.; LABRUNA, M. B. Canine Infection by Rickettsiae and Ehrlichiae in Southern Brazil. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, Cleveland*, v. 79, n. 1, p. 102-108, 2008.

SANTARÉM, V.A.; AGUIAR, D.M. Erliquiose canina. In: MEGID, J.; RIBEIRO, M.G.; PAES, A.C. *Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia*. 1. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016. Cap. 9, p. 95- 111

SANTA ROSA, C.A.; COSCINA, A.L.; CASTRO, A.F.P.; SILVA, A.S.; QUEIROZ, J.C. Pesquisa de aglutininas anti-leptospira em soros de trabalhadores de diversas profissões. *Rev. Microbiol.* v.1, p. 19-24, 1970.

SANTOS, A.H.; PINHEIRO, C.E.; JORDANI, M.S. Causas básicas associadas de morte por Aids, Estado de São Paulo, Brasil. *Ver. Saúde Pública*, v.34, p.581-588. 2000.

SANTOS, F.; COPPEDE, J. S.; PEREIRA, A. L.; OLIVEIRA, L. P.; ROBERTO, P. G.; BENEDETTI, R. B.; ZUCOLOTO, L. B.; LUCAS, F.; SOBREIRA, L.; MARINS, M. Molecular evaluation of the incidence of Ehrlichia canis,

Anaplasma platys and *Babesia* spp. in dogs from Ribeirão Preto, Brazil. *The Veterinary Journal*, London, v. 179, n. 1, p. 145-148, 2009.

SARMENTO, A.M.C.; GUAZELLI, A.; BARRETO, L.F.G.; COSTA, V.M.; HOFFMANN, J.L.; LUCHEIS, S.B.; LANGONI, H.; PINHEIRO, S.R.; Estudo da Leptospirose em cães e gatos, da Leishmaniose e da Doença de chagas em cães de aldeias indígenas guaranis em Parelheiros, município de São Paulo-SP. *Veterinária e Zootecnia*, São Paulo, v.14, n.2, p.193-203, dez., 2007.

SCHARES, G.; PANTCHEV, N.; BARUTZKI, D.; HEYDORN, A. O.; BAUER, C.; CONRATHS, F. J. Oocysts of *Neospora caninum*, *Hammondia heydorni*, *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi* in faeces collected from dogs in Germany. *International Journal for Parasitology*, v. 35, n. 14, p. 1525-1537, 2005.

SCHULTZ, R. D. ; FORD, R. B. ; OLSEN, J. ; SCOTT, F. Titer testing and vaccination: a new look at traditional practices. *Veterinary Medicine*, v. 97, n. 2, p. 1-13, 2002.

SCHULTZ, R. D. Duration of Immunity for Canine and Feline Vaccines: A Review. *Veterinary Microbiology* 117(1): 75-79. 2006.

SCHULTZ, R.; THIEL, B.; MUKHTAR, E.; SHARP, P.; LARSON, L. Age and long term protective immunity in dogs and cats. *J. Comp. Path.* v.142, p.102-108, 2010.

SHERDING, R. G.. Infecções Bacterianas Sistêmicas. In: BIRCHARD, Stephen J.; SHERDING, Robert G. Manual Saunders. Clínica de Pequenos Animais. 3ª Ed. São Paulo: Roca. p. 195-199. 2008.

SILVA, W.B.S. Inquérito sorológico, distribuição espacial e fatores de risco para leptospirose canina na área territorial urbana de Botucatu - SP / Wellington Borges da Silva. – 2006. Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Botucatu, 2006.

SILVA, M. H. S., et al. "Demographic and epidemiologic characterization of dogs and cats domiciled in Barbacena-MG, Brazil". *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, vol. 62, nº 4, agosto de 2010, p. 1002–06. *SciELO*, doi:10.1590/S0102-09352010000400035.

SILVA, G. C. F.; et al . Occurrence of Ehrlichia canis and Anaplasma platys in household dogs from northern Parana. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, Jaboticabal , v. 21, n. 4, p. 379-385, Dec. 2012 .

SILVA, L. D. B. ; PIGOSSI, T. ; MORAES, L. S. ; FEIJO, B. L. ; FERLIN, C. ; PASCOAL, N. R. ; BRANCALION, B. ; CORIS, J. ; GRECO, P. ; BAPTISTA, C. ; CAXITO, M. S. ; MITTESTAINER, J. C. ; MORITA, E. L. ; LIMA, M. C. F. ; BORGES, M. A. ; SANTANA, C. F. S. ; PAULA, C. L. ; VICTORIA, C. ; PAES, A. C. ; RIBEIRO, M. G. ; MEGID, J. . Ocorrência de anticorpos ANTI-Parvovirus canino em cães de Botucatu, Estado de São paulo, Brasil. 8º Congresso de extensão universitária da UNESP. 2015.

SILVA, R.C.; SILVA, A.V. Toxoplasmose em animais domésticos. In: MEGID, J.; RIBEIRO, M.G.; PAES, A.C. *Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia*. 1. ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016. Cap. 100, p. 1040- 1053.

STRASSER, A., MAY, B., TELTSCHER, A., WISTRELA, E. & NIEDERMÜLLER, H. Immune modulation following immunization with polyvalent vaccines in dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 94: 113-21. 2003.

SUHETT, W. G., et al. "Percepção e atitudes de proprietários quanto a vacinação de cães na região sul do estado do Espírito Santo - Brasil". *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, vol. 50, nº 1, fevereiro de 2013, p. 26–32. *www.revistas.usp.br*, doi:10.11606/issn.2318-3659.v50i1p26-32.

SUMMERS, B. A.; APPEL, M. J. Aspects of canine distemper virus and measles virus encephalomyelitis. *Neuropathology and Applied Neurobiology*, Oxford, v. 20, n. 6, p. 525-534, 1994.

TAGLIABUE, S.; FIGAROLLI, B.M.; D'INCAU, M.; FOSCHI, G.; GENNERO, M.S.; GIORDANI, R.; NATALE, A.; PAPA, P.; PONTI, N.; SCALTRITO, D.; SPADARI, L.; VESCO, G.; RUOCCO, L. Serological surveillance of Leptospirosis in Italy: two year national data (2010-2011). *Vet Ital.* 30;52(2):129-38. doi: 10.12834/VetIt.58.169.2. 2016.

TAGUCHI, M.; MARUO, K.N.T.; ORITO, K.; LYNCH, J.; TSUCHIYA, R.; SAHARA, H. Booster effect of canine distemper, canine parvovirus infection and infectious canine hepatitis combination vaccine in domesticated adult dogs. *Microbiol Immunol* 56: 579–582. 2012.

TEIXEIRA, M.A.; GONÇALVES, M.L.L.; RIEDIGER, I.N.; PROSSER, C.S.; SILVA, S.F.C.; BIESDORF, S.M.; MOSKO, P.R.E.; MORAIS, H.A.; BIONDO, A.W. Sorologia negativa e PCR positiva: a importância da biologia molecular para o diagnóstico de leptospirose aguda em um cão. *Clínica Veterinária*, São Paulo, v.8, n.73, p. 44-48. 2008.

THRUSFIELD, M.V. 2004. *Epidemiologia Veterinária*. 2ª ed. Roca, São Paulo. 556p.

TIZARD, I. R., IMUNOLOGIA VETERINARIA, 5. ed São Paulo: Roca, 1998. 545p.

TIZARD, I.; NI, Y. Use of serologic testing to assess immune status of companion animals. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 213(1), 54-60, 1998.

TIZARD, I. R.; SCHUBOT, R. M. IMUNOLOGIA VETERINÁRIA: UMA INTRODUÇÃO. 8. ED. RIO DE JANEIRO: SAUNDERS ELSEVIER, 608 p. 2009.

TIZARD, I. R. *Veterinary Immunology* (9th ed.). Missouri: Saunders Elsevier Co. 2013

TRAPP, S.M.; MAEDA, M.S.C.F.; KEMPER, B.; JUNIOR, F.A.B. ; FREIRER.L.; PRETTO-GIORDANO, LG.; HEADLEY, S.A. Caracterização demográfica de cães e gatos e perfil de seus respectivos guardiões domiciliados numa pequena cidade no sul do Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 36, n. 5, p. 3211-3226. 2015.

UARTH, M.G.C. Novas Tecnologias em Vacinas de Animais de Companhia. 2011. 42f. Dissertação (Especialização em Análises Clínicas Veterinárias). Faculdade de Veterinária. Curso de Especialização em Análises Clínicas Veterinária. Universidade Federal do Rio Grande do Sul- UFRGS, Porto Alegre, 2011.

UENO, T. E.; AGUIAR, D. M.; PACHECO, R. C.; RICHTZENHAIN, L. J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C.; MEGID, J.; LABRUNA, M. B. Ehrlichia canis em cães atendidos em hospital veterinário de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, Jaboticabal, v. 18, n. 3, p. 57-61, 2009.

ULLMANN, L.S.; GUIMARÃES FF., FORNAZARI F., TOMÉ RO., CAMOSSI LG., GRECA H., SILVA RC., MENOZZI BD., LANGONI H. Ações de vigilância continuada papel do cão como animal sentinela para toxoplasmose. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 17, 1, 345-347, 2008.

VANWORMER, E., FRITZ, H., SHAPIRO, K., MAZET, J. A. K., & CONRAD, P. A. Molecules to modeling: *Toxoplasma gondii* oocysts at the human–animal–environment interface. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 36(3), 217–231. 2013.

VELASCO, E., AGHENEZA, T., DENECKE, K., KIRCHNER, G., & ECKMANNNS, T. Social Media and Internet-Based Data in Global Systems for

Public Health Surveillance: A Systematic Review. *The Milbank Quarterly*, 92(1), 7–33. (2014).

VIEGAS, S.A.R.A.; CALDAS, E.M.; OLIVEIRA, E.M.D. Aglutininas anti-leptospira em hemossoro de animais domésticos de diferentes espécies, no Estado da Bahia, 1997/1999. *Revista Brasileira Saúde Produção Animal*, v.1, n.1, p.1-6, 2001.

VIEIRA, R.F.C.; BIONDO, A.B.; GUIMARÃES, A.M.S.; SANTOS, A.P.; SANTOS, R.P.; DUTRA, L.H.; et al. Ehrlichiosis in Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2011; 20(1): 1-12. PMID:21439224.

VILA NOVA, A.B.M.M. Avaliação da resposta imunitária humoral induzida pela vacinação para esgana e parvovirose caninas. Dissertação de mestrado. Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa. 2017.

WANER, T.; HARRUS, S. Anemia of inflammatory disease. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. *Scham's veterinary hematology*. 5. ed. Philadelphia: Pippincott Williams & Wilkins, p. 205-209. 2000.

WANER, T., HARRUS, S., JONGEJAN, F., BARK, H., KEYSARY, A., CORNELISSEN, A.W. Significance of serological testing for ehrlichial diseases in dogs with special emphasis on the diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis caused by *Ehrlichia canis*. *Veterinary Parasitology*, v. 95, p.1-15, 2001.

WANER, T.; MAZAR, S.; KEREN-KORNBLATT, E. Application of a dot enzyme-linked immunosorbent assay for evaluation of the immune status to canine parvovirus and distemper virus in adult dogs before revaccination. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v. 18, n. 3, p. 267-270, 2006.

WANER, T.; HARRUS, S. Canine monocytic ehrlichiosis – from pathology to clinical manifestations. *Israel Journal of Veterinary Medicine*, v. 68, n. 1, 2013.

WITTER, R.; VECCHI, S.N.; PACHECO, T.A.; MELO, A.L.T.; BORSA, A.; SINKOC, A.L.; MENDONÇA, A.J.; AGUIAR, D.M. Prevalência da erliquiose

monocítica canina e anaplasmoses trombocítica em cães suspeitos de hemoparasitose em Cuiabá, Mato Grosso. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina*, v. 34, n. 6, suplemento 2, p. 3811-3822, 2013.

WOLF, A. M. Canine and feline vaccination: protocols, products, and problems. In: PENN ANNUAL CONFERENCE, 110. Philadelphia, Pennsylvania. Proceedings... Philadelphia: Penn Veterinary Medicine. p. 16-29. 2010.

WOODY, B. J.; HOSKINS, J. D. Ehrlichial diseases of dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, v. 21, n. 1, p. 75-99, 1991.

YAN C, FU LL, YUE CL, TANG RX, LIU YS, LV L, SHI N, ZENG P, ZHANG P, WANG DH, ZHOU DH, ZHU XQ, ZHENG KY. Stray dogs as indicators of toxoplasma gondii distributed in the environment: the first report across an urban-rural gradient in china. *Parasit vectors* 2012.

YORK, C.J.; BURCH, G.R. Canine distemper immunization. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 138:298-301. 1961.

ZADRA, V. F. [UNESP. *Infecção leptospírica em cães: estudo sorológico, bioquímico e molecular, e avaliação de fatores de risco*. março de 2017. *repositorio.unesp.br*, <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/150569>.

10. TRABALHO CIENTÍFICO

O artigo será submetido à revista **SEMINA: CIÊNCIAS AGRÁRIAS**, de acordo com as normas da revista.

Diretrizes para Autores

Artigos Científicos: no máximo 20 páginas incluindo figuras, tabelas e referências bibliográficas

Apresentação dos Trabalhos

Os originais completos dos artigos, comunicações, relatos de casos e revisões podem ser escritos em português ou inglês no editor de texto Word for Windows, em papel A4, com numeração de linhas por página, espaçamento 1,5, fonte Times New Roman, tamanho 11 normal, com margens esquerda e direita de 2 cm e superior e inferior de 2 cm, respeitando-se o número de páginas, devidamente numeradas no canto superior direito, de acordo com a categoria do trabalho.

Figuras (desenhos, gráficos e fotografias) e Tabelas serão numeradas em algarismos arábicos e devem ser incluídas no final do trabalho, imediatamente após as referências bibliográficas, com suas respectivas chamadas no texto. Além disso, as figuras devem apresentar boa qualidade e deverão ser anexadas nos seus formatos originais (JPEG, TIF, etc) em “Docs Supl.” na página de submissão. Não serão aceitas figuras e tabelas fora das seguintes especificações: Figuras e tabelas deverão ser apresentadas nas larguras de 8 ou 16 cm com altura máxima de 22 cm, lembrando que se houver a necessidade de dimensões maiores, no processo de editoração haverá redução para as referidas dimensões.

Observação: Para as tabelas e figuras em qualquer que seja a ilustração, o título deve figurar na parte superior da mesma, seguida de seu número de ordem de ocorrência em algarismo arábico, ponto e o respectivo título.

Indicar a fonte consultada abaixo da tabela ou figura (elemento obrigatório). Utilizar fonte menor (Times New Roman 10).

Preparação dos manuscritos

Artigo científico: A apresentação do trabalho deve obedecer à seguinte ordem:

1. Título do trabalho, acompanhado de sua tradução para o inglês.

2. Resumo e Palavras-chave: Deve ser incluído um resumo informativo com um mínimo de 200 e um máximo de 400 palavras, na mesma língua que o artigo foi escrito, acompanhado de sua tradução para o inglês (*Abstract e Key words*).

3. Introdução: Deverá ser concisa e conter revisão estritamente necessária à introdução do tema e suporte para a metodologia e discussão.

4. Material e Métodos: Poderá ser apresentado de forma descritiva contínua ou com subitens, de forma a permitir ao leitor a compreensão e reprodução da metodologia citada com auxílio ou não de citações bibliográficas.

5. Resultados e Discussão: Devem ser apresentados de forma clara, com auxílio de tabelas, gráficos e figuras, de modo a não deixar dúvidas ao leitor, quanto à autenticidade dos resultados e pontos de vistas discutidos.

6. Conclusões: Devem ser claras e de acordo com os objetivos propostos no trabalho.

7. Agradecimentos: As pessoas, instituições e empresas que contribuíram na realização do trabalho deverão ser mencionadas no final do texto, antes do item Referências Bibliográficas.

Observações:

Notas: Notas referentes ao corpo do artigo devem ser indicadas com um símbolo sobrescrito, imediatamente depois da frase a que diz respeito, como notas de rodapé no final da página.

Figuras: Quando indispensáveis figuras poderão ser aceitas e deverão ser assinaladas no texto pelo seu número de ordem em algarismos arábicos. Se as ilustrações enviadas já foram publicadas, mencionar a fonte e a permissão para reprodução.

Tabelas: As tabelas deverão ser acompanhadas de cabeçalho que permita compreender o significado dos dados reunidos, sem necessidade de referência ao texto.

**PERFIL DEMOGRÁFICO DE CÃES PARTICIPANTES DA CAMPANHA DE
VACINAÇÃO CONTRA CINOMOSE REALIZADA EM 2013 NO DISTRITO DE
RUBIÃO JÚNIOR, BOTUCATU- SP.**

**DEMOGRAPHIC PROFILE OF PARTICIPATING DOGS IN THE
VACCINATION CAMPAIGN AGAINST CANINE DISTEMPER HELD IN 2013,
DISTRICT OF RUBIÃO JÚNIOR, BOTUCATU- SP.**

Camila Fernanda dos Santos Santana¹, Jane Megid³

RESUMO

Foi realizada uma campanha de vacinação contra a cinomose no período de 2013 a 2014, direcionada a um bairro periférico da região de Botucatu, SP, com o objetivo de imunizar os cães contra cinomose devido às elevadas taxas de morbimortalidade, ampla disseminação e prognóstico reservado da enfermidade. O objetivo do presente estudo foi caracterizar o perfil demográfico dos cães participantes da campanha de vacinação por meio da aplicação de inquérito epidemiológico durante o evento. Quanto ao sexo, foi identificada a participação de 272 (51,81%) machos e 253 (48,19%) fêmeas. A idade média dos cães registrados no inquérito foi de 3,85 anos, com maior frequência de animais entre 0 a 1 ano (27,77%;135/486), com raça aparente predominante de animais SRD (77,33%;348/450) e histórico de vacinação contra cinomose em 31,71% (163/514) dos cães. Foi observada diferença significativa ($p<0,05$) do histórico de vacinação contra cinomose entre as faixas etárias dos cães e entre as raças aparentes, onde a frequência relativa de animais vacinados foi menor entre os animais de 0 a 1 ano (20%;26/130) e entre os animais sem raça definida (25,07%;85/339). Os resultados do presente estudo sugerem que ainda é necessário esclarecer a população do município de Botucatu-quanto ao protocolo vacinal correto dos animais, uma vez que o controle de doenças infecciosas como cinomose e parvovirose baseia-se em prevenção por meio da vacinação.

Palavras-chave: vacina, cinomose, inquérito, epidemiologia, Botucatu-SP.

¹ Mestranda do programa de pós graduação em Medicina Veterinária, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, FMVZ, UNESP – Botucatu, SP. Email: camilasantana@fmvz.unesp.br

² Docente, Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública, FMVZ, UNESP – Botucatu, SP. E-mail: janemegid@gmail.com

ABSTRACT

A vaccination campaign against canine distemper was carried out between 2013 and 2014, directed to a peripheral district of the Botucatu region, SP, aiming to immunize dogs against distemper due to the high rates of morbidity and mortality, widespread dissemination and reserved prognosis of the disease. The objective of the present study was to characterize the demographic profile of participating dogs in the vaccination campaign against canine distemper, through the application of an epidemiological survey during the event. Regarding gender, was identified the participation of 272 (51.81%) males and 253 (48.19%) females. The mean age of dogs recorded in the survey was 3.85 years, with a higher frequency of animals between 0 and 1 year (27.77%, 135/486), with the predominant apparent breed of undefined breed animals (77.33%, 348/450) and vaccination record against canine distemper in 31.71% (163/514) of dogs. A significant difference ($p < 0.05$) was observed against distemper between the age groups of the dogs and between the apparent breeds, where the relative frequency of vaccinated animals was lower among 1 year old dogs (20%, 26/130) and among non-breed animals (25.07%, 85/339). The results are based on the study that they are responsible for the disease of the municipality of Botucatu and, at the same time, the vaccination is based on the evocation of the vaccination medium. These results suggest that it is still necessary to explain the Botucatu's population about the correct vaccination protocol of animals, since the control of infectious diseases such as distemper and parvovirus is based on prevention through vaccination.

Key words: vaccine, distemper, survey, epidemiology, Botucatu-SP.

Introdução

As doenças virais nos cães representam as principais causas de mortes, nesta espécie, durante os primeiros anos de vida, principalmente em animais não vacinados.. A cinomose destaca-se devido aos elevados índices de morbidade e mortalidade, ampla disseminação e contagiosidade viral em cães do mundo (KNOBEL et al., 2014).

No Brasil, a cinomose é endêmica e uma das principais causas de doenças infecciosas em cães. Tem-se observado o aumento da descrição da doença em hospedeiros não-convencionais no meio selvagem, podendo representar risco de vida dessas espécies pois os cães são os principais hospedeiros de manutenção e fonte de infecção do vírus (HÜBNER et al., 2010; MEGID et al., 2013; BEINEKE et al., 2015).

Embora a vacinação tenha reduzido a incidência da cinomose, fatores como a presença do vírus no ambiente e em animais doentes, o aparecimento de novas cepas virais e o

desenvolvimento do quadro clínico mesmo em animais vacinados têm contribuído para a manutenção do caráter enzoótico e a ocorrência ocasional de surtos (FREITAS-FILHO et al., 2014).

No Brasil, estima-se que os impactos econômicos relativos ao tratamento e consulta de cães com suspeita de cinomose, seja de, aproximadamente, R\$ 258,3 milhões ao ano. Embora sejam valores baseados em estimativas, ainda que os valores reais fossem 25% ou até mesmo 50% menores, os custos anuais são elevados uma vez que podem corresponder de 0,01% - 0,007% no crescimento anual do PIB (Produto Interno Bruto) no país (HEADLEY et al., 2012).

Com a finalidade de imunizar os animais e conscientizar os tutores sobre a importância da vacinação para prevenção de doenças, foi realizada campanha de vacinação direcionada a proteção contra a cinomose no período de 2013 a 2014, em um bairro periférico da região de Botucatu, SP.

A caracterização demográfica de uma população de animais é útil para o planejamento e a prática de ações preventivas prioritárias, tais como a realização de campanhas de vacinação canina (SILVA, 2010; BABBONI et al., 2016). Tal fato estimulou o desenvolvimento deste estudo, tendo como objetivo obter maiores informações sobre o perfil demográfico dos cães participantes da campanha de vacinação contra cinomose realizada em 2013 no Distrito de Rubião Júnior, Botucatu-SP.

Material e Métodos

O estudo foi realizado no Distrito de Rubião Júnior, situado na região mais elevada do município de Botucatu (930m), região centro sul do Estado de São Paulo. Segundo o IBGE, a população estimada no município, em 2017, era de 142.546 habitantes e a população de cães foi estimada em 26.721 no ano de 2015.

A campanha de vacinação contra cinomose foi organizada em colaboração com estudantes, residentes e professores do Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública e parceria do Laboratório Biovet, sob coordenação da Prof^a Jane Megid, professora titular da disciplina de Enfermidades Infecciosas dos Animais Domésticos e de Cassiano Victória, professor assistente da disciplina de Planejamento em Saúde da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ- UNESP, campus Botucatu) no período de 2013 a 2014.

Os tutores assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e preencheram o questionário de identificação, junto com um membro da equipe. Após o consentimento, foi realizado inquérito epidemiológico a fim de identificar possíveis fatores de risco. O questionário

abordou variáveis referentes à idade, sexo, dieta (comida caseira ou ração comercial), histórico de vacinação, contato com animais, conhecimento da doença, dentre outras.

Não houve parâmetro para estabelecer o tamanho da amostra, sendo obtida por conveniência, de acordo com a participação de tutores que concordaram em responder ao questionário aplicado durante a campanha de vacinação.

Após realização do inquérito, os animais foram submetidos ao exame físico geral, com avaliação da frequência respiratória, cardíaca e temperatura e somente animais com parâmetros físicos dentro da faixa de normalidade (FEITOSA, 2014) foram submetidos à vacinação.

A amostra do presente estudo foi constituída por dados levantados a partir de 644 questionários epidemiológicos selecionados sem critério estatístico, de forma não aleatória (amostra não probabilística). Os dados foram inseridos em planilha no Microsoft Office Excel® (versão 2013 Microsoft Corporation).

O estudo de associação entre as variáveis epidemiológicas foi realizado utilizando análise univariada com o teste do quiquadrado ou o teste exato de Fischer. Para o processamento das análises foi utilizado o software Statistical Analyses System SAS®, free statistical software online, adotando-se o nível de significância (α) de 5% (THRUSFIELD, 2004).

Resultados

Foi identificada através do inquérito aplicado a participação de 272 (51,81%) machos e 253 (48,19%) fêmeas. A idade média dos cães registrados no inquérito foi de 3,85 anos, com maior frequência de animais entre 0 a 1 ano (27,77%;135/486), com raça aparente predominante de animais SRD (77,33%;348/450). Demais características demográficas da população de cães participantes são descritas na tabela 1.

Tabela 1: Características demográficas categóricas dos cães que compareceram a campanha de vacinação contra a cinomose, Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013 (variáveis categóricas).

Variável	N	%
Sexo		
Macho	272	51,81
Fêmea	253	48,19
Idade		
0 — 1 ano	135	27,77
1 — 2 anos	84	17,28
2 — 5 anos	130	26,74
> 5 anos	137	28,18
Raça aparente		
Raça definida	102	22,66
SRD	348	77,33
Contato com outros animais domésticos	441	84,48
Presença de Morcegos na residência	119	24,34
Presença de Roedores na residência	287	56,72
Alimentação		
Caseira	33	6,43
Caseira e industrializada	267	52,96
Industrializada	213	41,52
Animal desvermifugado	327	64,37
Vacinado contra cinomose	163	31,71

*SRD: sem raça definida.

A associação das variáveis: sexo, idade e raça aparente com o histórico de vacinação contra cinomose é apresentado na tabela 3. Foi observada diferença significativa ($p < 0,05$) do histórico de vacinação contra cinomose entre as faixas etárias dos cães e entre as raças aparentes, onde a frequência relativa de animais vacinados foi menor entre os animais de 0 a 1 ano (20%;26/130) e entre os animais sem raça definida (25,07%;85/339) (Tabela 2).

Tabela 2: Associação das variáveis sexo e idade com o histórico de vacinação contra cinomose reportado por tutores participantes da campanha de vacinação contra a cinomose Distrito de Rubião Júnior, Botucatu, SP, 2013.

Variável	Percentual de animais vacinados contra cinomose	Valor P	Teste estatístico
Sexo		0,77	Exato de Fischer
Macho	31,03 (81/261)		
Fêmea	32,40 (81/250)		
Idade		0,003	Qui-quadrado
0 — 1 ano	20,00 (26/130)		
1 — 2 anos	32,14 (27/84)		
2 — 5 anos	34,37 (44/128)		
> 5 anos	40,90 (54/132)		
Raça Aparente		<0,001	Qui-quadrado
Raça definida	54,08 (53/98)		
SRD	25,07 (85/339)		

SRD: sem raça definida.

Discussão

No presente estudo, a idade média dos cães foi de 3,85 anos com predomínio de cães com idade igual ou inferior a um ano, representando 27,77% (135/486) do total.

Maior frequência de cães jovens, entre 0 e 1 ano, também foi relatado em trabalho realizado por Babboni et al. (2016) no município de Botucatu/ SP sobre a dinâmica populacional de cães vacinados em campanhas de vacinação anti-rábica. A caracterização demográfica de uma população de animais é útil para o planejamento e a prática de ações preventivas prioritárias, tais como a realização de campanhas de vacinação canina (SILVA, 2007; BABBONI et al., 2016).

Houve maior percentual de cães machos (51,81%) em relação às fêmeas. Segundo Silva (2007), geralmente é observado predomínio de machos em populações caninas. Trabalhos realizados na região sul e sudeste do Brasil que mediram a razão macho/fêmea relataram valores de 1,17 em Ouro Preto/ MG (NAVEDA, 2005), 1,5 em Barbacena/ MG (SILVA, 2007), 1,1 em São Paulo/ SP (CANATTO et al., 2012) e 1,2 em Jaguapitã/ PR (TRAPP et al., 2015). O predomínio de machos na população canina pode estar relacionado a fatores que podem ser considerados negativos em fêmeas por alguns tutores, tais como: época do cio, procriação, complicações do parto, entre outros (SILVA, 2007; CANATTO et al., 2012).

Em relação à raça aparente, foi predominante a presença de cães SRD (77,33%). Pesquisas de caracterização demográfica demonstraram diferenças no perfil racial de acordo

com a classificação dos espaços onde, áreas urbanas apresentavam maior proporção de animais com raça definida (SILVA, 2007; CANATTO, 2012) e áreas rurais, animais SRD (TRAPP, et al., 2015). O Distrito de Rubião Júnior é caracterizado como área urbana sugerindo que o predomínio de animais SRD talvez esteja associado à dinâmica populacional do município, avaliada pelo Índice Paulista de Vulnerabilidade (IPVS), segundo a renda média dos domicílios. Em Botucatu, o grupo de vulnerabilidade muito baixa é o mais frequente, representando 51% da população, caracterizado por rendimento médio nos domicílios de R\$ 2.964 (IBGE, 2010).

A diferença observada do histórico de vacinação contra cinomose segundo a idade ($p=0,003$) demonstrou que a cobertura vacinal aumentou gradativamente, de acordo com as faixas etárias, apresentando menor relato de vacinação em animais de 0 a 1 ano (20%;26/130). Esses dados demonstram que os tutores demoram a se conscientizar sobre a importância da vacinação, essencial, principalmente, nos primeiros meses de vida, e sugere que é necessário esclarecer a população quanto ao protocolo vacinal dos animais. A correta orientação dos tutores para a realização dos esquemas vacinais faz-se necessário uma vez que, doenças infecciosas como cinomose e parvovirose que podem levar o animal à óbito tem seu controle baseado na prevenção por meio da vacinação (DEZENGRINI et al., 2007).

Quanto à diferença observada do histórico de vacinação segundo a raça aparente ($p<0,001$), maior relato de vacinação foi observada em cães com raça aparente definida. Apesar do elevado grau de subjetividade envolvido na resposta das raças, a diferença observada no presente estudo sugere que os tutores de cães com raça aparentemente definida possam ter melhores condições financeiras e/ou serem mais conscientes quanto aos cuidados básicos necessários aos seus animais. As práticas de guarda responsável podem ser influenciadas pela escolaridade e renda familiar dos tutores (APTEKMANN, et al., 2013).

Conclusão

Tendo em vista que a cobertura vacinal contra cinomose foi reportado por 31,71% dos tutores e a maior proporção de animais vacinados apresentou mais de 5 anos de idade, os resultados do presente estudo sugerem que ainda é necessário esclarecer a população do município de Botucatu quanto ao protocolo vacinal correto dos animais, uma vez que o controle de doenças infecciosas como cinomose e parvovirose baseia-se em prevenção por meio da vacinação.

As informações obtidas neste questionário podem auxiliar médicos veterinários a identificar as práticas de manejo mais comuns realizadas em cães quanto a vacinação e guiar suas orientações aos tutores com relação às práticas de posse responsável.

Agradecimentos

À Capes pelo auxílio financeiro, na forma de bolsa de estudo durante o mestrado, para realização deste estudo.

Referências

- APTEKMANN, K.P. et al . Manejo nutricional de cães e gatos domiciliados no estado do Espírito Santo - Brasil. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte , v. 65, n. 2, p. 455-459, Apr. 2013.
- BABBONI, S.D; POSSEBON, F; OLIVEIRA JUNIOR, GUMERCINDO, O.L.; MODOLO, J.R.. Estudo da Dinâmica da População de Cães Vacinada Contra a Raiva no Município de Botucatu/SP de 2005 a 2014. *Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.23. p.733-740. 2016.
- BEINEKE, ANDREAS, BAUMGÄRTNER, W.; WOHLSEIN, P. “Cross-Species Transmission of Canine Distemper Virus an Update.” *One Health*. 2015.
- CANATTO, B.D. et al . Caracterização demográfica das populações de cães e gatos supervisionados do município de São Paulo. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, Belo Horizonte. v. 64, n. 6, p. 1515-1523. 2012.
- DEZENGRINI, R.; WEIBLEN, R.; FLORES, E. F. Soroprevalência das infecções por parvovírus, adenovírus, coronavírus canino e pelo vírus da cinomose em cães de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 37, n. 1, p. 183-189, 2007.
- FEITOSA, F.L.F. *Semiologia veterinária: a arte do diagnóstico*. São Paulo: Roca, 2004.
- FREITAS-FILHO, E.G.; FERREIRA, M.R.A.; DIAS, M.; MOREIRA, C.N. Prevalência, fatores de risco e associações laboratoriais para Cinomose canina em Jataí-GO. *Enciclopédia Biosfera*, Centro Científico Conhecer - Goiânia, 10(18): 2356, 2014.

HEADLEY, S. A.; AMUDE, A. M.; ALFIERI, A. F.; BRACARENSE, A. P. F. R. L.; ALFIERI, A. A. Epidemiological features and the neuropathological manifestations of canine distemper virus induced infections in Brazil: a review. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 33, n. 5, p. 1945-1978, 2012.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Índice Paulista De Vulnerabilidade Social (IPVS). Fundação Seade. Disponível em < <http://indices-ilk.al.sp.gov.br/view/index.php?selLoc=0&selTpLoc=2&prodCod=2> >. Acesso em: março de 2018.

KNOBEL, D.L.; BUTLER, J.R.; LEMBO, T.; CRITCHLOW, R.; GOMPPER, M.E. Dogs, disease, and wildlife. In: GOMPPER, M.E., editor. *Free-ranging dogs and wildlife conservation*. Oxford: Oxford University Press; 2014. p. 144–69

MEGID, J.; TEIXEIRA, C.R.; CORTEZ, A.; HEINEMANN, M.B.; ANTUNES, J.M.; FORNAZARI, F.; RASSY, F.B.; RICHTZENHAIN, L.J. Canine distemper virus infection in a lesser grison (*Galictis cuja*): first report and virus phylogeny. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(2): 247250, 2013.

NAVEDA, L.A.B. *Epidemiologia da Leishmaniose Visceral Canina no município de Pedro Leopoldo, Minas Gerais, 2003*. 2005. 54f. Dissertação (Mestrado) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. 2005.

SILVA, M. H. S., et al. “Demographic and epidemiologic characterization of dogs and cats domiciled in Barbacena-MG, Brazil”. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, vol. 62, nº 4, agosto de 2010, p. 1002–06. *SciELO*, doi:10.1590/S0102-09352010000400035

THRUSFIELD M.V. 2004. *Epidemiologia Veterinária*. 2ª ed. Roca, São Paulo. 556p.

TRAPP, S.M.; MAEDA, M.S.C.F.; KEMPER, B.; JUNIOR, F.A.B. ; FREIRER.L.; PRETTO-GIORDANO, LG.; HEADLEY, S.A. Caracterização demográfica de cães e gatos e perfil de seus respectivos guardiões domiciliados numa pequena cidade no sul do Brasil. *Semina: Ciências Agrárias*, Londrina, v. 36, n. 5, p. 3211-3226. 2015.