



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Nássarah Jabur Lot Rodrigues

**Proteínas de fase aguda em cães reagentes ou não reagentes
para *Toxoplasma gondii***

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Câmpus de Botucatu, para obtenção
do título de Doutor(a) em Doenças
Tropicais.

Orientador: Prof. Titular Dr. Helio Langoni
Coorientador: Prof. Dr. Luiz Daniel de Barros

**Botucatu
2026**

Nássarah Jabur Lot Rodrigues

Proteínas de fase aguda em cães reagentes ou não reagentes para *Toxoplasma gondii*

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutor(a) em Doenças Tropicais.

Orientador: Prof. Titular Dr. Helio Langoni
Coorientador: Prof. Dr. Luiz Daniel de Barros

Botucatu
2026

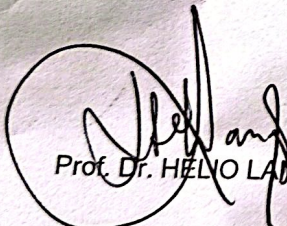
R696p Rodrigues, Nássarah Jabur Lot
Proteínas de fase aguda em cães reagentes ou
não reagentes para Toxoplasma gondii / Nássarah
Jabur Lot Rodrigues. -- Botucatu, 2026
60 p. : tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
(UNESP), Faculdade de Medicina, Botucatu
Orientador: Helio Langoni
Coorientador: Luiz Daniel de Barros

1. Caninos. 2. Proteínas. 3. Toxoplasma gondii. I.
Título.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA TESE DE DOUTORADO DE NÁSSARAH JABUR LOT RODRIGUES, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DOENÇAS TROPICAIS, DA FACULDADE DE MEDICINA - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 21 de julho de 2026, às 9h, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de TESE DE DOUTORADO de NÁSSARAH JABUR LOT RODRIGUES, intitulada "Proteínas de fase aguda em cães reagentes ou não reagentes para *Toxoplasma gondii*". A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. HELIO LANGONI (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Depto. de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva / FMVZ/Botucatu - Unesp, Prof. Dr. BENEDITO DONIZETE MENOZZI (Participação Presencial) do(a) Depto. de Produção Animal e Medicina Veterinária Preventiva / FMVZ/Botucatu - Unesp, Profa. Dra. REGINA KIOMI TAKAHIRA (Participação Presencial) do(a) Depto. de Clínica Veterinária / FMVZ/Botucatu - Unesp, Profa. Dra. LUCIANA REGINA MEIRELES JAGUARIBE EKMAN (Participação Virtual) do(a) Instituto de Medicina Tropical/São Paulo - USP, Prof. Dr. DANILO ALVES DE FRANÇA (Participação Presencial) do(a) Depto. de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal / FMVZ/São Paulo - USP, Após a exposição pela doutoranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: Aprovado. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.


Prof. Dr. HELIO LANGONI

Dedicatória

Deus,

Pois, sem Ele não teria chegado até aqui. Por ter dado a graça de passar todos esse tempo e conseguir finalizar o doutorado. E permitir que pudesse ter a honra de fazer o doutorado sanduíche, e viver seis meses na Espanha.

Meus pais, Alexsandra e Marco,

Por sempre me apoiarem, aconselharem, me abençoarem e sempre serem presentes na minha vida. Vocês semearam na minha carreira e estudos e hoje começamos a colher os frutos.

Aos meus avós, Pedro e Olinda (in memoriam),

Por sempre acreditarem no meu potencial, e incentivarem na minha carreira. Ao meu avô por ter a mesma profissão que eu, e sempre patrocinar cursos, viagens e outros quando meus pais não podiam. E a minha avó por sempre orar por mim e tudo mais, como eu queria que ela estivesse nesse momento tão importante conosco.

Agradecimento especial

Agradeço a Deus, por ter cuidado de mim e de toda a minha família. Por ter me abençoado, e nunca ter me deixado, não importando o tamanho do problema, sempre alcançamos a vitória. Sem Deus nada eu seria. Obrigada meu Deus pelo dom da vida e todas as bênçãos que me concedeu nesses 37 anos de vida.

Aos meus querido e amados pais, Alexsandra e Marco, por acreditarem que o estudo é a maior herança que nos deixarão. E sempre nos apoiarem em cursos, pós, congressos, entre outros. Por terem dado base para mim e minha irmã alcançarmos nossos sonhos. E principalmente, por apoiar nossos sonhos, por mais loucos que pareciam e até mesmo por mudarmos de carreira. Amo demais vocês, são muito importante para mim. E sabemos de todo esforço de vocês para cuidarem com tanto carinho e amor conosco.

Ao meu avô Pedro, por sempre me aconselhar, apoiar, trocar experiências e deixar recortes de jornais que o senhor acha importante para mim. Por ser minha inspiração na vida. Obrigada avozinho lindo por sempre estar comigo de alguma maneira, te amo.

A minha avó Olinda (in memoriam) por sempre orar por mim, pela companhia em muitos momentos, vou guardar para sempre as nossas conversas, dos conselhos, e suas histórias. Obrigada avozinha te amo eternamente!

A minha irmã Samyrah e cunhado Erick, por sempre me apoiarem e ajudarem no que precisei em relação ao doutorado e a vida. Que Deus os abençoe por tudo, amo vocês.

As minhas tias queridas, Soraya, Adriana, Jacqueline e Neusa, por serem como mães para mim e sempre me apoiarem e orarem por mim. Amo vocês!

As minhas vizinhas queridas, Carol e Rosinha, por serem família para mim e cuidarem de mim com tanto amor. Por sempre me apoiarem em todos os momentos. Que Deus as abençoe grandemente, amos vocês.

Ao Gabriel, por ter me apoiado quando mais precisei, pelas conversas, incentivos, risadas, ensinamentos e trocas de experiências. Você faz parte de onde cheguei. Que Deus te abençoe e obrigada por existir.

Ao meu querido orientador Professor Dr. Helio Langoni, por ter acreditado em mim, desde a entrevista para a residência. Pelas conversas e conselhos que me trouxeram grande aprendizado. Pelas correções dos papers, resumos e outros, por fazer parte da minha história e crescimento pessoal e profissional. Por sempre estar de portas abertas, sempre acessível e nos ajudar e entender quando passei problemas pessoais e familiares. Agradeço a Deus pela sua vida e peço as mais ricas bênçãos para sua vida.

Agradecimentos

Ao meu coorientador Professor Dr. Luiz Daniel de Barros, pelas conversas e conselhos. Por ter me aceitado como orientada e me ajudado em várias etapas que foram complicadas. E sempre estar de portas abertas. Agradeço a Deus pela sua vida.

Ao técnico do laboratório do Serviço de Diagnóstico de Zoonoses, Benedito, por sempre ser solícito e me ajudar nos perrengues que foram aparecendo durante a pesquisa no processamento das amostras. Pelas dicas, conselhos e conversas. Pelo apoio em tudo. Obrigada por tudo, que Deus te abençoe.

Aos meus primos em especial a Priscylla e Samuel, tios e familiares, pelas conversas, risadas, apoios e orações.

À minha amiga Camila, por toda conversa, parceria e ensinamentos. Por ter sido família e cuidado de mim no período que estive em Murcia, Espanha. Pela ajuda no laboratório e todos os ensinamentos Sem sua amizade nada seria possível. E a sua família que também me receberam tão bem. Presente de Deus para a vida. Obrigada pela nossa amizade! E que Deus os abençoe grandemente.

As minhas amigas e amigos da vida, Andreza, Júlia, Amanda, Ruth, Mariana, Larissa, Laura, Kaline, Melina, Rachel, Iara, Isabella, Tamires, Marcelo, Danilo, Gabriel, Tamara, Samea, Natalie, Bruna, Fernanda, Mayara, Ana Julia, se me esqueci de alguém me desculpem. Obrigada pelo apoio, conversas, ajuda no projeto, por me ensinarem algo e pelos momentos felizes que passamos juntos. Amo vocês.

Aos residentes do laboratório do SDZ, por terem me salvado quando precisei por aprendermos juntos. E por sempre deixarem os materiais preparados e sempre me auxiliarem na pesquisa e estudos. Que Deus os abençoe grandemente, gratidão eterna.

Aos meus cachorros, que são como filhos, e que me incentivaram seguir essa carreira tão linda, por serem minhas cobaias. Amo demais vocês, e os que já viraram estrelinha, meu amor continua eternamente por vocês.

Aos professores Asta e Céron, por terem me recebido e orientado nos meses que fiquei na Universidade de Murcia- UMU.

Ao laboratório SDZ- FMVZ, por tudo, local onde realizei minha parte do experimento.

Ao Laboratório Clínico Veterinário- UMU (Universidade de Múrcia), por terem me ajudado na realização das técnicas laboratoriais, obrigada meninas por tudo, pelas conversas e momentos.

À Faculdade de Medicina de Botucatu – FMB – UNESP, pela oportunidade de ingressar no Programa de Pós- Graduação em Doenças Tropicais. À Seção Técnica de Pós Graduação em especial à Tatiane, Lígia e Vanessa por todo auxílio antes mesmo de ingressar na FMB e durante esses dois e meio anos, que Deus as abençoe grandemente.

À todos os membros da banca examinadora, titulares e suplentes, os quais foram escolhidos à dedo para este momento especial em minha vida! Agradeço por compartilharem todo o conhecimento de vocês!

À biblioteca do campus pelo suporte técnico.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e PDSE (CAPES-Print) pelo auxílio financeiro concedido.

À todos que de alguma maneira contribuíram para a execução deste trabalho e na minha vida, meu muito obrigada!



“O que atenta para o ensino acha o bem, e o
que confia no Senhor, esse é feliz. O sábio de
coração é chamado prudente, e a doçura no
falar aumenta o saber.”
Provérbios 16:20-21

SUMÁRIO

SUMÁRIO	i
RESUMO	1
ABSTRACT	2
1 INTRODUÇÃO	4
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	7
2.1 <i>Toxoplasmose</i>	7
2.2 <i>Toxoplasmose em cães</i>	9
2.3 <i>Proteínas de Fase Aguda</i>	10
2.4 <i>Saúde Pública</i>	15
2.5 <i>Diagnóstico</i>	15
3 OBJETIVOS	19
4 MATERIAL E MÉTODOS	21
4.1 <i>Animais e amostras</i>	22
4.2 <i>Imunofluorescência indireta (RIFI)</i>	21
4.3 <i>Delinamento Amostral</i>	23
4.4 <i>Avaliação das proteínas de fase aguda</i>	22
4.5 <i>Análise Estatística</i>	23
5 RESULTADOS	26
6 DISCUSSÃO	37
7 CONCLUSÃO	44
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

RESUMO

A toxoplasmose é uma zoonose de distribuição mundial, capaz de infectar diversas espécies animais, incluindo o ser humano. É causada pelo protozoário *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), que, em cães, geralmente apresenta curso clínico silencioso, podendo, entretanto, estar associada a alterações oftálmicas, neuromusculares e respiratórias. O presente estudo teve como objetivo detectar anticorpos das classes IgM e IgG positivos e negativos, e avaliar a resposta de proteínas de fase aguda em cães positivos e negativos para o agente. Foram analisadas 300 amostras de soro provenientes da soroteca do Serviço de Diagnóstico de Zoonoses, sendo 150 de cães reagentes e 150 de cães não reagentes. Adicionalmente, foram analisados outros biomarcadores associados à resposta inflamatória sistêmica, incluindo albumina, proteína total, globulinas, butirilcolinesterase (BChE), paraoxonase-1 (PON1) e frações proteicas (FRR.B). Os resultados demonstraram alterações significativas no perfil proteico dos cães soropositivos, com aumento das globulinas e das proteínas de fase aguda positivas, associado à redução da albumina, além de diminuição da atividade de BChE e PON1, sugerindo ativação da resposta inflamatória e estresse oxidativo. Observou-se ainda que os animais com sorologia compatível com infecção aguda (IgM e IgG) apresentaram alterações mais pronunciadas quando comparados aos demais grupos. Conclui-se que a avaliação integrada das proteínas de fase aguda constitui ferramenta relevante para a compreensão da resposta inflamatória na toxoplasmose canina, podendo contribuir para o diagnóstico complementar, monitoramento clínico e melhor entendimento da fisiopatologia da infecção.

Palavras chaves: Caninos, Proteínas, *Toxoplasma gondii*.

1 **ABSTRACT**

2 Toxoplasmosis is a worldwide zoonotic disease capable of infecting a wide range
3 of animal species, including humans. It is caused by the protozoan *Toxoplasma*
4 *gondii* (*T. gondii*), which in dogs generally presents a subclinical course, although
5 it may be associated with ophthalmic, neuromuscular, and respiratory alterations.
6 The present study aimed to detect anti-*T. gondii* IgM and IgG antibodies and to
7 evaluate the acute phase protein response in reactive and non-reactive dogs. A
8 total of 300 serum samples from the serum bank of the Zoonoses Diagnostic
9 Service were analyzed, including 150 reactive and 150 non-reactive dogs.
10 Additionally, other biomarkers associated with systemic inflammatory response
11 were evaluated, including albumin, total protein, globulins, butyrylcholinesterase
12 (BChE), paraoxonase-1 (PON1), and protein fractions (FRR.B). The results
13 demonstrated significant alterations in the protein profile of seropositive dogs,
14 characterized by increased globulin levels and positive acute phase proteins,
15 associated with decreased albumin, as well as reduced BChE and PON1 activity,
16 suggesting activation of the inflammatory response and oxidative stress.
17 Moreover, animals with serological profiles compatible with acute infection (IgM
18 and IgG) showed more pronounced alterations compared to other groups. It is
19 concluded that the integrated evaluation of acute phase proteins is a valuable
20 tool for understanding the inflammatory response in canine toxoplasmosis,
21 contributing to complementary diagnosis, clinical monitoring, and improved
22 understanding of the disease pathophysiology.

23 **Keywords:** Dogs; Proteins; *Toxoplasma gondii*

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A toxoplasmose é uma zoonose parasitária de ampla distribuição geográfica, considerada um importante problema de saúde pública devido à sua alta prevalência e ao potencial de causar quadros clínicos graves, especialmente em indivíduos imunocomprometidos e em casos de infecção congênita. O seu agente etiológico é o protozoário intracelular obrigatório *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), que possui a capacidade de infectar todos os animais homeotérmicos, incluindo mamíferos domésticos, silvestres, aves e seres humanos. Embora os felídeos sejam os únicos hospedeiros definitivos do parasito, todas as demais espécies atuam como hospedeiros intermediários, com participação relevante na cadeia epidemiológica de transmissão e manutenção da infecção, fazendo com que ao redor de um terço da população humana esteja infectada. Ressalta-se que estes animais são considerados também como hospedeiros intermediários (Rodrigues et al, 2022).

Nos cães, a toxoplasmose raramente se manifesta de forma clínica primária. No entanto, esses animais são amplamente utilizados como sentinelas epidemiológicas, uma vez que compartilham o ambiente com os seres humanos e estão sujeitos às mesmas fontes de exposição ao parasita. Por essa razão, inquéritos sorológicos em cães têm sido considerados ferramentas eficazes para estimar o grau de contaminação ambiental por oocistos de *T. gondii*. Além disso, alterações imunológicas e inflamatórias em cães infectados podem auxiliar na compreensão da resposta orgânica frente à infecção. A doença clínica nesta espécie pode estar associada a imunossupressão causada pelo vírus da cinomose. Pesquisas tem demonstrado a associação com toxoplasmose e cinomose, agravando ainda mais o quadro clínico desta última (Moretti et al, 2006). Entre os mecanismos de defesa ativados pelo organismo na presença de infecção, destaca-se a resposta de fase aguda (RFA), que consiste em uma reação sistêmica inicial e inespecífica frente a estímulos como infecção, inflamação ou lesão tecidual. Essa resposta é caracterizada por uma série de modificações metabólicas e imunológicas, entre as quais se destaca a alteração nas concentrações plasmáticas de proteínas conhecidas como proteínas de fase aguda (PFAs). As PFAs podem sofrer aumento (positivas) ou diminuição (negativas) em resposta ao estímulo inflamatório, servindo como indicadores

1 sensíveis de processos patológicos em curso. Esse é o tipo de resultado do teste
2 em relação as proteínas de fase aguda.

3 As proteínas de fase aguda desempenham papel relevante no
4 diagnóstico, monitoramento e prognóstico de diversas enfermidades. A detecção
5 de alterações em suas concentrações séricas permite avaliar a intensidade da
6 inflamação e acompanhar a resposta ao tratamento. A proteína C reativa (PCR)
7 e a haptoglobina (Hp) são amplamente utilizadas como PFAs positivas,
8 principalmente na espécie canina, com perfis de resposta distintos quanto à
9 velocidade e magnitude da elevação sérica. A albumina, por sua vez, é
10 considerada uma PFA negativa, com redução dos níveis plasmáticos em
11 quadros inflamatórios agudos ou crônicos. Biomarcadores adicionais, como a
12 proteína total (PROT), a butirilcolinesterase (BChE), a paraoxonase 1 (PON1) e
13 as frações proteicas obtidas por eletroforese (FRR.B), também podem oferecer
14 informações valiosas sobre a resposta inflamatória e o estado geral do animal.

15 A avaliação conjunta desses biomarcadores pode proporcionar uma
16 abordagem mais completa e precisa da fisiopatologia na toxoplasmose canina.
17 Embora existam estudos demonstrando o comportamento das PFAs em diversas
18 enfermidades infecciosas e parasitárias em cães, a resposta inflamatória
19 específica frente à infecção por *T. gondii* ainda é pouco explorada, configurando
20 uma lacuna científica que merece investigação. Neste contexto, o presente
21 trabalho propôs a mensuração de proteínas de fase aguda e biomarcadores
22 inflamatórios em cães soropositivos e soronegativos para *T. gondii*, com o
23 objetivo de identificar possíveis correlações entre os títulos de anticorpos e a
24 variação dos níveis séricos dessas proteínas. A abordagem adotada busca
25 contribuir com novos dados sobre a resposta inflamatória na toxoplasmose
26 canina, favorecendo o avanço do conhecimento em medicina veterinária
27 preventiva, diagnóstico clínico e saúde pública.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Toxoplasmose

A toxoplasmose é uma enfermidade de grande relevância na saúde pública, pois além de sua elevada ocorrência tem implicações na saúde humana com elevada prevalência. É causada pela infecção do protozoário intracelular obrigatório *T. gondii* (Câmara; Silva; Castro, 2015), que é o parasito mais estudado entre os coccídeos. No entanto, sua importância médica e veterinária faz com que muitos aspectos de biologia e epidemiologia continuem sendo pesquisados (Dubey et al., 2020).

T. gondii é um protozoário oportunista de distribuição cosmopolita, com capacidade de infectar praticamente todos os vertebrados homeotérmicos, incluindo seres humanos, que atuam como hospedeiros intermediários em escala global. Os felídeos, em especial os gatos domésticos e outros felinos selvagens, constituem os hospedeiros definitivos do parasita, sendo responsáveis pela eliminação ambiental de oocistos que se tornam infectantes após esporulação no meio ambiente (Dubey, 2009). Estes são também hospedeiros intermediários. Estima-se que aproximadamente 30% da população humana mundial apresente infecção por *T. gondii* (Montoya; Rosso, 2005), a qual ocorre predominantemente por meio da ingestão de alimentos ou água contaminados com oocistos eliminados pelo hospedeiro definitivo, bem como pela ingestão de carne crua ou malcozida contendo cistos teciduais (bradizoitos). Adicionalmente, a transmissão congênita representa uma via relevante de infecção em determinados contextos epidemiológicos (Dubey, 2009), significando a passagem de taquizoitos, outra forma infectante do parasito, pela placenta.

Trata-se de protozoário intracelular obrigatório da filo Apicomplexa, de ciclo de vida facultativamente heteroxeno. Apesar da elevada soroprevalência, as manifestações clínicas em humanos e animais são menos frequentes, e estão relacionadas principalmente a presença do parasita em células musculares, neurônios e em casos de infecção congênita (Kodym, et. al., 2015). Tanto em humanos como animais ocorre como doença clínica de forma grave em associação com doenças imunossupressoras como a cinomose em cães (Moretti et al, 2006) e em pacientes infectados com HIV-AIDS (Brasil, 2018).

1 Pertence ao Reino *Protista*, Sub-reino Protozoa, Filo Apicomplexa, Classe
2 Sporozoazida, Subclasse Coccidiasina, Ordem Eucoccidiorida, Família
3 Sarccocystidae, Subfamília Toxoplasmatinae, Gênero *Toxoplasma*, Espécie
4 *Toxoplasma gondii* (Silva; Silva, 2016).

5 Possuí três estágios infectantes: taquizoítos (livre), bradizoítos (em cistos
6 teciduais) e esporozoítos (em oocistos) (Souza et al., 2014; Dubey, 2012). Os
7 taquizoítos são encontrados em células nervosas, musculares, pulmonares,
8 hepáticas e células do sistema fagocítico mononuclear, além de líquidos e
9 excreções. Os bradizoítos são encontrados durante a fase crônica da infecção
10 dentro do vacúolo citoplasmático da célula, cuja membrana configura uma
11 cápsula de tecido fibro-elástico. Estes são localizados predominantemente no
12 sistema nervoso central. Os esporozoítos são encontrados dentro dos oocistos
13 esporulados, que são a forma de resistência e disseminação do parasita para as
14 espécies susceptíveis. Estes são produzidos nos enterócitos de felídeos, e
15 eliminados imaturos com as fezes (Silva; Silva, 2016). A esporulação ocorre
16 entre 2 a 5 dias após a eliminação, em condições favoráveis de umidade e
17 temperatura, permanecendo viáveis por longo período de tempo, favorecendo
18 principalmente a contaminação ambiental e indiretamente da água e alimentos
19 (Silva; Canal, 2015; Attias et al., 2020).

20 Diferentes cepas de *T. gondii* são definidas quanto à capacidade de
21 invasão do hospedeiro, multiplicação e disseminação, refletindo diretamente na
22 virulência dos diferentes isolados. A patogenicidade também varia entre as
23 espécies animais, de modo que determinadas cepas podem ser altamente
24 virulentas para uma espécie e pouco ou não virulentas para outra. Além disso, a
25 variabilidade genética do parasito exerce papel fundamental nesse processo.
26 Estudos de genotipagem demonstram que *T. gondii* apresenta elevada
27 diversidade genética, sendo descritos os genótipos clonais clássicos I, II e III,
28 predominantes na Europa e América do Norte, além de numerosos genótipos
29 atípicos, especialmente na América do Sul e, em particular, no Brasil, onde
30 circulam linhagens geneticamente mais diversas e frequentemente associadas
31 a maior virulência e diferentes manifestações clínicas. Dessa forma, a infecção
32 e a progressão da doença clínica resultam da interação entre o genótipo do
33 parasito e o estado imunológico do hospedeiro, seja animal ou humano (Dubey,
34 2010; Shwab et al., 2014; Silva et al., 2026).

Ainda quanto à caracterização, *T. gondii* apresenta diferenças genotípicas mundialmente com predomínio dos tipos, ou genótipos I, II e III. Essa variabilidade genética possibilita ampla variabilidade do protozoário. A variabilidade genética do parasita na natureza ocorre devido principalmente pela multiplicação assexuada ou por cruzamentos uniparenterais. Análises detalhadas de diferentes regiões do seu genoma permite dizer que cepas diferentes dos tipos previamente descritos, circulam entre diferentes espécies de hospedeiros. Pode-se dizer que *T. gondii* possui uma população altamente clonal tanto na América do Norte como Europa. No entanto, em algumas regiões do mundo, a partir de novos estudos, outros genótipos foram caracterizados. No Brasil, tem-se observado predomínio de isolados atípicos não clonais (Silva et al., 2026).

2.2 Toxoplasmose em cães

Os canídeos são geralmente assintomáticos ou apresentam sinais clínicos inespecíficos. Estes, estão expostos às mesmas fontes de infecção que humanos e outras espécies. Os cães são epidemiologicamente importantes, pois são animais sentinelas para a infecção por *T. gondii* para humanos e são excelentes indicadores da contaminação ambiental. Este panorama é comum em áreas urbanas, onde eles geralmente circulam livremente e estão altamente expostos a fontes de infecção do parasita (Da Silva et al., 2010; Dubey et al., 2012; Yan et al., 2012), principalmente por oocistos esporulados no meio ambiente, solo e água.

Estes animais raramente desenvolvem a toxoplasmose como doença primária e, na maioria dos casos, está ligada à imunossupressão e ausência de vacinação contra o vírus da cinomose, que frequentemente esta associada à toxoplasmose canina (Da Silva et al., 2010; Gennari et al., 2015; Calero-Bernal; Gennari, 2019). Os cães podem oferecer risco para a transmissão do agente, pois podem veicular oocistos esporulados para humanos, devido aos hábitos de xenosmofilia e consequente contaminação do pelame (Langoni et al., 2012). Além desse aspecto, em algumas partes do mundo, a carne de cães é consumida por humanos e esta pode conter bradizóitos do agente (Dubey et al., 2020).

Inquéritos sorológicos que pesquisem, a participação do *T. gondii* em cães são importantes para se avaliar o grau de dispersão da infecção entre animais e humanos. O ambiente em que o animal vive certamente está contaminado por oocistos, ou ainda, estes cães podem estar sendo alimentados com carne crua ou mal cozida contendo cistos teciduais (Dubey et al., 2020).

2.3 Proteínas de Fase Aguda

As proteínas de fase aguda (PFAs) constituem um grupo de biomarcadores amplamente utilizados na avaliação de processos inflamatórios e infecciosos, desempenhando papel relevante tanto no diagnóstico precoce quanto no monitoramento clínico. A variação quantitativa dessas proteínas em resposta a estímulos inflamatórios reflete a ativação da resposta imune inata, permitindo sua aplicação como indicadores prognósticos, além de auxiliarem no acompanhamento da progressão da doença e na avaliação da eficácia das intervenções terapêuticas adotadas (Queiroz et al., 2016).

As PFAs consistem em marcadores inflamatórios inespecíficos, caracterizados por elevada sensibilidade e resposta precoce, possibilitando a detecção de processos infecciosos subclínicos antes mesmo da observação de alterações no número de leucócitos circulantes (Caldin et al., 2009). Essas proteínas sofrem variações significativas em suas concentrações séricas, superiores a 25%, como resultado da estimulação por citocinas pró-inflamatórias durante estados patológicos (Eckersall; Bell, 2010). Tais modificações, desencadeadas por estímulos endógenos ou exógenos, integram os mecanismos fisiológicos da resposta de fase aguda, representando um componente fundamental da resposta inflamatória sistêmica (Murata et al., 2004; Cerón et al., 2005).

Os biomarcadores constituem ferramentas indispensáveis na medicina veterinária moderna, tanto na prática clínica quanto na pesquisa translacional, por permitirem a detecção, monitoramento e prognóstico de diversas enfermidades. Entre os mais utilizados destacam-se aqueles que podem ser facilmente quantificados em amostras biológicas, especialmente no sangue, pela acessibilidade e aplicabilidade prática em diferentes espécies. Contudo, identificar um biomarcador que seja ao mesmo tempo altamente sensível e específico continua sendo um desafio considerável, sobretudo em condições

1 inflamatórias multifatoriais, onde diferentes vias imunológicas estão
2 simultaneamente ativadas (Yonezawa, 2010).

3 Nesse contexto, a resposta de fase aguda (RFA) destaca-se como um dos
4 principais eventos fisiopatológicos associados à ativação da resposta
5 inflamatória sistêmica. Trata-se de uma reação inicial, de caráter inespecífico,
6 desencadeada em decorrência da ruptura da homeostase orgânica, podendo ser
7 induzida por diferentes estímulos, tais como traumas, infecções bacterianas ou
8 virais, processos neoplásicos, doenças autoimunes, entre outros processos. A
9 RFA constitui um mecanismo de defesa altamente conservado ao longo da
10 evolução das espécies, cujo objetivo fundamental é conter a progressão da
11 lesão, minimizar os danos teciduais e promover o restabelecimento da
12 homeostase (Queiroz et al., 2016).

13 A resposta de fase aguda é caracterizada, entre outros aspectos, por
14 alterações quantitativas nas concentrações plasmáticas das PFAs, que podem
15 apresentar aumento ou diminuição em decorrência da injúria celular ou tecidual.
16 Com base nesse comportamento, as PFAs são classificadas em positivas,
17 quando há elevação de seus níveis séricos durante a RFA, ou negativas, quando
18 ocorre a redução de sua concentração. Adicionalmente, essas proteínas podem
19 ser categorizadas como maiores ou menores, de acordo com a magnitude da
20 variação observada frente ao estímulo inflamatório (Cerón et al., 2005; Eckersall;
21 Bell, 2010).

22 A identificação e a quantificação das PFAs podem ser realizadas por
23 diferentes métodos laboratoriais. A eletroforese de proteínas séricas é
24 considerada a técnica padrão para a avaliação do perfil total das proteínas
25 plasmáticas. No entanto, métodos imunológicos e moleculares, como ensaios
26 imunoenzimáticos (ELISA), radioimunoensaio, nefelometria, imunoturbidimetria
27 e análises de RNA, também são amplamente empregados para a detecção e
28 quantificação específica de determinadas PFAs, ampliando sua aplicabilidade
29 clínica e diagnóstica (Queiroz et al., 2016).

30 A RFA é mediada por citocinas pró-inflamatórias, notadamente a
31 interleucina-1 (IL-1), o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e a interleucina-6
32 (IL-6), as quais estimulam os hepatócitos a sintetizar e liberar na corrente
33 sanguínea uma série de proteínas de fase aguda (PFAs). Essas proteínas
34 incluem, entre outras, a proteína C reativa (PCR), a haptoglobina, o fibrinogênio,

1 a seruloplasmina, o amiloide A sérico e a α 1-glicoproteína ácida. Algumas delas
2 apresentam função imunomoduladora, enquanto outras atuam na neutralização
3 de agentes patogênicos, na limitação da propagação da inflamação ou na
4 reparação tecidual (Mendes et al., 2019).

5 A avaliação das concentrações séricas dessas PFAs fornece uma
6 ferramenta diagnóstica dinâmica e em tempo real para a detecção de
7 inflamações sistêmicas, mesmo na ausência de sinais clínicos evidentes. Além
8 disso, alterações no perfil dessas proteínas permitem não apenas o diagnóstico
9 precoce, mas também o monitoramento da progressão da doença e da resposta
10 ao tratamento instituído. No entanto, é importante destacar que os perfis de
11 expressão das PFAs podem variar conforme a espécie animal, o tipo de estímulo
12 e a cronicidade do processo inflamatório, exigindo protocolos e interpretações
13 específicos para cada situação clínica ou experimental (Mendes et al., 2019).

14 A resposta de fase aguda faz parte do conjunto complexo de reações
15 sistêmicas de defesa precoce do organismo, observadas pouco tempo após
16 estímulos como estresse, inflamação e infecção. As PFAs são componentes da
17 RFA que atuam com o objetivo de restaurar a homeostase e promover a
18 reparação tecidual. Embora sejam consideradas componentes inespecíficos da
19 imunidade inata, as concentrações circulantes das PFAs estão diretamente
20 relacionadas à gravidade do distúrbio e à extensão dos danos no paciente,
21 podendo, portanto, fornecer informações diagnósticas e prognósticas valiosas.
22 Contudo, há variações significativas na resposta entre as diferentes PFAs,
23 dependendo da natureza da doença (Céron et al., 2005; Eckersall; Bell, 2010).

24 Entre essas proteínas, destaca-se a PCR, cuja presença foi demonstrada
25 em cães por Caspi et al. (1984), sendo considerada uma das principais PFAs
26 nessa espécie (Caspi et al., 1987; Conner et al., 1988). A concentração de PCR
27 no sangue pode aumentar mais de 100 vezes dentro das primeiras 24 horas
28 após o início da lesão, seja decorrente de infecção, inflamação ou trauma
29 (Eckersall et al., 1999).

30 Outra proteína amplamente estudada é a haptoglobina (Hp), uma proteína
31 transportadora que se liga à hemoglobina. Nos cães, apresenta um aumento
32 moderado durante processos inflamatórios, com elevações de 2 a 5 vezes em
33 relação aos níveis basais (Paltrinieri, 2007). Classificada como uma PFA de
34 resposta moderada nos cães, a Hp atinge seu pico entre 2 e 3 dias após o

estímulo inflamatório, diminuindo de forma mais lenta do que a PCR (Eckersall; Bell, 2010).

As PFAs também respondem a infecções parasitárias em cães, com destaque para a babesiose (Kules et al., 2014) e a leishmaniose (Céron et al., 2018). No entanto, até o momento, não há relatos na literatura sobre a resposta de PFAs em cães infectados por *T. gondii* o que representa uma lacuna importante para investigações futuras, considerando-se a importância da neosporose canina. De maneira geral, as PFAs podem responder de forma distinta e não proporcional a diferentes tipos de estímulos inflamatórios (Mcgrotty et al., 2003; Céron et al., 2018), o que reforça a necessidade de estudos específicos para cada agente etiológico e tipo de inflamação.

Em estudo conduzido com amostras de leite de vacas com mastite clínica causada por diferentes patógenos, observou-se que a mensuração de proteínas de fase aguda constituiu ferramenta promissora para o diagnóstico inflamatório da enfermidade, permitindo discriminar perfis de resposta conforme o agente etiológico. Os autores verificaram que as concentrações de Hp, PCR e AGP variaram de acordo com o patógeno envolvido, com valores mais elevados sobretudo em infecções por *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e estreptococos ambientais, enquanto infecções por estafilococos coagulase-negativos e *Enterococcus spp.* apresentaram menores concentrações, compatíveis com resposta inflamatória mais branda (Dalanezi et al., 2020).

Em contrapartida, a proteína amiloide A sérica (SAA) apresentou comportamento distinto do esperado, sugerindo possível influência de isoformas ou limitações analíticas na sua detecção. Além disso, foram observadas correlações positivas significativas entre Hp, PCR e AGP, indicando que CRP e AGP podem apresentar desempenho semelhante ao da Hp como biomarcadores da mastite clínica. Outro achado relevante foi a demonstração da viabilidade da técnica SPARCL para a determinação dessas proteínas no leite, propondo-se esse método como alternativa mais rápida e prática ao ELISA. Assim, o estudo concluiu que Hp, CRP e AGP são biomarcadores úteis no diagnóstico da mastite clínica bovina causada por diferentes patógenos, e que a técnica SPARCL apresenta potencial para ampliação do uso diagnóstico dessas proteínas na rotina laboratorial (Dalanezi et al., 2020).

1 No presente estudo, foram mensuradas diferentes proteínas PFAs e
2 biomarcadores relacionados à resposta inflamatória sistêmica, contemplando
3 tanto proteínas de fase aguda positivas quanto negativas. A albumina foi
4 avaliada como uma PFA negativa, com concentrações séricas que tendem a
5 diminuir durante os processos inflamatórios ou em estados de estresse
6 metabólico. Entre as PFAs positivas, destacam-se a proteína C reativa,
7 reconhecida como uma das principais proteínas de resposta rápida em cães,
8 com elevação sérica significativa nas primeiras 24 horas após o estímulo
9 inflamatório; a haptoglobina, considerada uma PFA de resposta moderada, cuja
10 elevação é mais tardia e sustentada; e a proteína total (PROT), usada como
11 indicador global de alterações proteicas durante a fase aguda (Eckersall; Bell,
12 2010).

13 Além disso, foram analisadas a butirilcolinesterase (BChE), associada a
14 alterações inflamatórias e hepáticas; a paraoxonase 1 (PON1), enzima
15 antioxidante cuja atividade é inversamente relacionada ao estresse oxidativo e à
16 inflamação crônica; e as frações proteicas obtidas por eletroforese (FRR.B), úteis
17 para avaliar variações no perfil proteico sérico. A análise combinada desses
18 biomarcadores oferece uma abordagem mais ampla e precisa da resposta
19 inflamatória em cães, com potencial valor diagnóstico e prognóstico (Eckersall;
20 Bell, 2010).

21 O entendimento aprofundado da resposta de fase aguda e o uso racional
22 de biomarcadores inflamatórios séricos representam uma estratégia promissora
23 para o avanço da medicina veterinária de precisão, contribuindo para
24 diagnósticos mais acurados, terapias mais direcionadas e melhor entendimento
25 da fisiopatologia das doenças em animais. A toxoplasmose apresenta
26 importância pela sua elevada prevalência, ampla distribuição, muito relacionada
27 à pessoas imunocomprometidas e pela gravidade dos casos congênitos, sendo
28 considerada um problema de saúde pública, mundialmente, e também com forte
29 impacto para a saúde única (Brasil, 2018).

30 Uma das maneiras para se avaliar a dispersão ambiental do agente é o
31 estudo da soroprevalência nos animais considerados sentinelas, já que estes
32 estão expostos aos mesmos riscos do ser humano para a infecção toxoplásmica
33 (Moura et al., 2009). Na zona urbana os cães são considerados como excelente
34 modelo para estudos em inquéritos soroepidemiológicos (Langoni et al, 2012),

1 com posterior relação com a frequência de animais positivos, diferentes títulos
2 de resposta às imunoglobulinas das classes IgG e IgM, aos diferentes tipos de
3 resposta às proteínas de fase aguda.

4 5 **2.4 Saúde Pública**

6 *T. gondii* acomete animais silvestres, domésticos, aves e o ser humano,
7 sendo a maioria hospedeiros intermediários. Pode acometer infecção
8 assintomática ou quadros sistêmicos graves e prejuízos à saúde pública e à
9 produção animal (Dubey et al., 2020), no ultimo caso, dependendo da espécie
10 animal envolvida. É uma zoonose muito disseminada, com distribuição mundial.
11 A sua prevalência é variável em todas as regiões do globo terrestre e a infecção
12 está relacionada aos hábitos higiênico-alimentares e culturais da população
13 (Leão; Meirelles-Filho; Medeiros, 2004). É uma doença de notificação
14 compulsória, em humanos para casos de toxoplasmose congênita, toxoplasmose
15 gestacional e/ou casos de surtos. (Brasil, 2018).

16 Apresenta considerável relevância quanto aos aspectos produtivos, bem
17 como para a saúde pública a partir da transmissão por alimentos contaminados.
18 É considerada como uma zoonose oportunista em pacientes portadores do vírus
19 da imunodeficiência humana ou que apresentam imunodeficiência severa (Silva;
20 Silva, 2016), por outras origens.

21 Nos Estados Unidos e no Reino Unido a estimativa é que 40% dos adultos
22 apresentem sorologia positiva, para o agente; na América Central e do Sul essa
23 estimativa é de aproximadamente 80%. Já no Brasil acredita-se que a infecção
24 atinja mais de 60% da população (Breganó et al., 2010; Souza; Belfort, 2014).

25 26 **2.5 Diagnóstico**

27 O diagnóstico considerado método de referência, para toxoplasmose, é o
28 isolamento por bioensaio, entretanto trata-se de um método demorado, laborioso
29 e dispendioso, além de devermos considerar os aspectos de bem-estar animal.
30 O diagnóstico sorológico pode ser realizado pela reação de imunofluorescência
31 indireta (RIFI) considerada uma técnica simples e economicamente viável, que
32 apresenta boa especificidade e sensibilidade (Bresciani et al., 2013). Esse teste
33 tem a vantagem de utilizar parasitos preservados como antígeno, fixados em

1 lâminas de microscopia. Este teste permite ainda a identificação dos anticorpos
2 como IgG na fase crônica, IgM na fase aguda e eventualmente, IgA (Bresciani et
3 al., 2013). Há outros testes que podem ser realizados como enzimaímunoensaio
4 (ELISA), teste imunoenzimático de micropartículas (MEIA), quimioluminescência
5 e eletroquimioluminescência, e imunoensaio fluorescente ligado a enzima
6 (ELFA). Há também o diagnóstico por métodos diretos por técnicas moleculares
7 como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR e PCR em tempo real), pelo
8 isolamento do agente por bioensaio ou em culturas celulares, histológico e
9 imunoistoquímico (Brasil, 2024).

10 A comparação entre diferentes métodos sorológicos para o diagnóstico da
11 toxoplasmose evidencia variações importantes no desempenho das técnicas,
12 especialmente quanto à sensibilidade e concordância entre os testes. Em estudo
13 conduzido com gestantes atendidas na rede pública de saúde, verificou-se que
14 RIFI e o MAT apresentaram maior detecção de anticorpos IgG quando
15 comparados ao ensaio automatizado por quimioluminescência (QL), sugerindo
16 maior sensibilidade dos métodos convencionais, sobretudo em amostras com
17 baixos títulos de anticorpos. Por outro lado, na detecção de IgM, indicativa de
18 infecção aguda, observou-se elevada concordância entre RIFI e QL,
19 demonstrando desempenho semelhante entre essas metodologias. Apesar das
20 vantagens operacionais dos métodos automatizados, como rapidez e
21 padronização, os resultados indicam que sua utilização isolada pode levar à
22 subestimação de casos, reforçando a importância da associação com técnicas
23 convencionais para aumento da acurácia diagnóstica. Dessa forma, a integração
24 de diferentes métodos sorológicos configura-se como estratégia relevante no
25 contexto da saúde pública, especialmente no rastreamento pré-natal,
26 contribuindo para diagnósticos mais precisos e para a redução do risco de
27 transmissão vertical da infecção (Rodrigues et al., 2026).

28 A resposta de fase aguda é uma parte do complexo conjunto de reações
29 sistêmicas de defesa inicial do organismo, observada logo após estímulos,
30 incluindo estresse, inflamação e infecção. As proteínas de fase aguda são
31 componentes da resposta de fase aguda que atuam para restabelecer a
32 homeostase e promover a cicatrização (Ceron et al., 2005; Eckersall; Bell, 2010).
33 Apesar de serem considerados componentes imunes inatos inespecíficos, as
34 concentrações circulantes de proteínas de fase aguda estão relacionadas com a

1 gravidade do distúrbio e extensão do dano no animal infectado, o que pode
2 fornecer informações diagnósticas e prognósticas, mas existem diferenças na
3 resposta de proteínas de fase aguda em diferentes doenças (Ceron et al. 2014;
4 Murata et al., 2004).

5 A PCR foi demonstrada em cães (Caspi et al., 1984) e é considerada uma
6 das principais proteínas de fase aguda (Caspi et al., 1987; Conner et al., 1988).
7 A concentração de PCR no sangue pode aumentar mais de 100 vezes em 24
8 h do início do dano causado pós infecção, inflamação ou trauma (Eckersall et al.,
9 1999). A Hp é uma proteína de transporte que se liga à hemoglobina. Mostra um
10 aumento moderado durante a inflamação em cães, aumentando de duas a cinco
11 vezes (Paltrinieri, 2007). Como proteínas de fase aguda de resposta moderada
12 em cães, atinge o pico após dois a três dias e diminui mais lentamente que a
13 PCR (Eckersall; Bell, 2010).

14 A PFA responde a algumas infecções parasitárias em cães, notadamente
15 babesiose (Kules et al., 2014) e leishmaniose (Ceron et al., 2018), mas não há
16 relatos sobre a resposta desta em cães infectados com *T. gondii*. No geral, esta
17 pode responder de forma diferente e não proporcional a diversos estímulos
18 inflamatórios (Mcgrotty et al., 2003; Ceron et al., 2018).

19 Neste contexto, realizou-se o presente estudo visando a mensuração de
20 PFA e a correlação dos resultados encontrados em amostras de soro canino
21 reagentes para toxoplasmose, confrontando os resultados do perfil de proteínas
22 obtidos, com os títulos de anticorpos encontrados nos animais avaliados.

23 Além disso, hipotetizou-se que as concentrações das proteínas de fase
24 aguda apresentariam correlação com os títulos de anticorpos anti-*T. gondii*,
25 refletindo diferentes estágios da infecção e da resposta imunológica do
26 hospedeiro.

OBJETIVOS

3 OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivo geral avaliar a resposta de proteínas de fase aguda e outros em cães reagentes e não reagentes para *T. gondii*, utilizando a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para a detecção de anticorpos das classes IgG e IgM anti-*T. gondii*.

Como objetivos específicos, buscou-se:

a) Detectar e titular anticorpos das classes IgG e IgM anti-*T. gondii* por meio da RIFI;

b) Mensurar as concentrações séricas de proteínas de fase aguda e biomarcadores relacionados à resposta inflamatória sistêmica em cães soropositivos (positivos somente para IgG, somente para IgM e para IgG e IgM) e soronegativos para *T. gondii*;

c) Comparar os perfis inflamatórios e proteicos entre os diferentes grupos sorológicos estabelecidos de acordo com a presença de anticorpos IgG e IgM;

d) Investigar a participação das proteínas de fase aguda na resposta imunoinflamatória associada à infecção por *T. gondii* em cães;

e) Contribuir para a compreensão da fisiopatologia da toxoplasmose canina por meio da avaliação integrada de marcadores sorológicos, inflamatórios e proteicos.

MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Delineamento amostral

O presente estudo, inserido no contexto da saúde pública veterinária, foi delineado com o objetivo de avaliar a resposta inflamatória sistêmica por meio da mensuração de proteínas de fase aguda em cães reagentes e não reagentes para *T. gondii*. Para tanto, foram analisadas 300 amostras de soro canino provenientes da soroteca do Serviço de Diagnóstico de Zoonoses da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Botucatu, previamente armazenadas a -80 °C, sendo os animais distribuídos em dois grupos experimentais (positivos e negativos). A determinação dos títulos de anticorpos das classes IgG e IgM anti-*T. gondii* foi realizada por meio da técnica de imunofluorescência indireta, conforme metodologia clássica, com titulação das amostras reagentes até sua extinção. Posteriormente, procedeu-se à mensuração das proteínas de fase aguda, incluindo albumina (ALB), PCR, haptoglobina, butirilcolinesterase (BChE), paraoxonase 1 (PON1), proteína total e frações proteicas obtidas por eletroforese (FRR.B), em laboratório especializado, utilizando metodologias validadas, como ensaio imunoturbidimétrico para PCR e ensaio baseado na capacidade de ligação à hemoglobina para haptoglobina. A análise integrada desses biomarcadores permitiu investigar a associação entre os perfis sorológicos e as alterações inflamatórias sistêmicas, contribuindo para a compreensão do papel dos cães como sentinelas epidemiológicos e para o aprimoramento de ferramentas diagnósticas em saúde pública (Camargo, 1964; Pineiro et al., 2018; Eckersall et al., 1999). O projeto foi aprovado pelo do Comitê de Ética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia- FMVZ, com o número 0234/2022.

4.2 Imunofluorescência indireta (RIFI)

Os exames foram realizados segundo de Camargo (1964). Inicialmente as amostras de soro foram triadas, e as positivas foram tituladas para obtenção do título de anticorpos até a sua extinção. Foram consideradas positivas as amostras que apresentaram titulação a partir de 1:16. Esta fase do projeto foi realizada no laboratório de Zoonoses e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-FMVZ.

Foram utilizadas lâminas sensibilizadas com taquizoítos de *T. gondii* previamente fixados. As amostras de soro foram submetidas a diluições seriadas em solução salina tamponada (SST), iniciando-se na diluição de 1:16, sendo posteriormente incubadas sobre os antígenos fixados.

Após incubação e lavagens sucessivas, adicionou-se conjugado anti-IgG ou anti-IgM canino marcado com isotiocianato de fluoresceína, seguido de nova incubação e etapa de lavagem. As lâminas foram então montadas com solução glicerínada e analisadas em microscópio de imunofluorescência.

A interpretação dos resultados baseou-se na observação de fluorescência periférica completa dos taquizoítos. As amostras consideradas reagentes foram tituladas por meio de diluições seriadas até a determinação do título final de anticorpos, definido como a maior diluição que apresentou fluorescência específica em pelo menos 50% dos parasitos observados.

4.3 Avaliação das proteínas de fase aguda

Esta parte do projeto foi realizada nos laboratórios da Universidade de Murcia, Espanha, realizado de setembro de 2024 a fevereiro de 2025, no âmbito do Programa Institucional de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE), edital nº 6/2024 – CAPES Print. Nesta etapa, foi conduzida, portanto, a segunda fase do projeto, com foco na avaliação de proteínas de fase aguda em amostras biológicas, em laboratório com reconhecida expertise na análise de biomarcadores inflamatórios. Foram mensurados os seguintes parâmetros: proteína total e albumina por métodos bioquímicos automatizados; proteína C reativa por ensaio imunoturbidimétrico validado para cães; haptoglobina por método colorimétrico comercial (Tridelta Phase Range, Tridelta Development Ltd), previamente validado para a espécie; ferritina por ensaio imunoturbidimétrico comercial (Tina-quant Ferritin, Roche), originalmente desenvolvido para humanos, porém validado para cães com imprecisão intra e interensaio inferior a 15%; e as enzimas butirilcolinesterase (BChE) e paraoxonase-1 (PON-1), sendo esta última determinada por ensaio espectrofotométrico automatizado utilizando acetato de p-nitrofenil como substrato.

A mensuração das proteínas de fase aguda foram realizadas utilizando um ensaio imunoturbidimétrico conforme metodologia previamente descrita (Pineiro

et al., 2018). A avaliação da concentração de haptoglobina sérica foi realizada por meio do ensaio de capacidade de ligação à hemoglobina (Eckersall et al., 1999; Brady et al., 2018).

As concentrações séricas de albumina (ALB) e proteína total (PT) foram determinadas por bioquímica automatizada, utilizando métodos colorimétricos padronizados em analisador bioquímico. A proteína C reativa (PCR) foi quantificada por ensaio imunoturbidimétrico, baseado na formação de complexos antígeno-anticorpo cuja turbidez é proporcional à concentração da proteína. A haptoglobina foi mensurada por método baseado em sua capacidade de ligação à hemoglobina livre, formando complexos estáveis quantificados por espectrofotometria. A atividade da butirilcolinesterase (BChE) foi determinada por método enzimático, fundamentado na hidrólise de um substrato específico e na mensuração da velocidade da reação catalítica. A atividade da paraoxonase 1 (PON1) foi avaliada por método espectrofotométrico, por meio da hidrólise de substrato específico com leitura da absorbância do produto formado. As frações proteicas, incluindo a fração beta (FRR.B), foram obtidas por eletroforese de proteínas séricas, técnica que promove a separação das proteínas de acordo com sua mobilidade eletroforética em um campo elétrico.

4.4 Análise Estatística

Os dados obtidos foram organizados em planilha eletrônica e analisados utilizando o software GraphPad Prism versão 8.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA). Os animais foram distribuídos em quatro grupos, de acordo com o perfil sorológico para *Toxoplasma gondii*: controle (não reagentes), reagentes para IgG, reagentes para IgM e reagentes concomitantemente para IgG e IgM. Inicialmente, a normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Shapiro-Wilk. Para as variáveis com distribuição normal, as comparações entre os grupos foram realizadas por análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do teste de comparações múltiplas de Tukey. Para as variáveis que não atenderam aos pressupostos de normalidade, empregou-se o teste de Kruskal-Wallis, seguido do pós-teste de Dunn. Os resultados foram expressos como mediana, intervalo interquartil (Q1–Q3) e valores mínimo e máximo. Nos gráficos, grupos identificados por letras distintas indicam diferença

- 1 estatisticamente significativa entre si. Em todas as análises, adotou-se nível de
- 2 significância de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

5 RESULTADOS

A caracterização clínica da população estudada incluiu 300 cães atendidos no Hospital Veterinário da FMVZ/UNESP, distribuídos de acordo com o perfil sorológico para *Toxoplasma gondii* em 139 animais não reagentes (grupo controle), 20 reagentes apenas para IgG, 4 reagentes apenas para IgM e 137 reagentes concomitantemente para IgG e IgM. Os cães avaliados apresentavam ampla variação quanto à idade, sexo e manifestações clínicas. Entre os sinais clínicos mais frequentemente observados destacaram-se alterações neurológicas, gastrointestinais, hematológicas, musculoesqueléticas e sistêmicas, além de animais assintomáticos. A distribuição dos animais entre os diferentes grupos sorológicos não evidenciou um padrão clínico específico associado à soropositividade para *T. gondii*. Da mesma forma, as concentrações das proteínas de fase aguda avaliadas não apresentaram associação consistente com idade, sexo ou sinais clínicos, sendo observadas diferenças estatisticamente significativas apenas para albumina, butirilcolinesterase (BChE) e globulinas entre alguns grupos sorológicos, enquanto proteína C reativa (PCR), haptoglobina, PON1, FRR.B e proteína total não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,05$). Observou-se predominância de animais reagentes concomitantemente para IgG e IgM (45,7%) e de animais não reagentes (46,3%), enquanto os grupos reagentes exclusivamente para IgG (6,7%) e exclusivamente para IgM (1,3%) representaram menor proporção da população estudada.

Após a caracterização dos grupos sorológicos, procedeu-se à comparação das concentrações séricas dos biomarcadores avaliados entre os animais soronegativos (controle) e sororreagentes para *Toxoplasma gondii* (IgG, IgM e IgG + IgM), com o objetivo de identificar possíveis alterações associadas ao perfil sorológico. Foram analisadas proteínas de fase aguda positivas e negativas, bem como proteínas relacionadas à resposta inflamatória e ao metabolismo oxidativo, permitindo uma avaliação integrada das alterações bioquímicas observadas nos diferentes grupos. A distribuição das concentrações séricas de albumina (A), atividade da butirilcolinesterase – BChE (B), proteína C

reativa – PCR (C), marcador de estresse oxidativo FRR-B (D), globulina (E), haptoglobina (F), paraoxonase 1 – PON1 (G) e proteína total (H) nos diferentes grupos avaliados (controle, IgG, IgM e IgG + IgM).

As Figuras de A à H, apresentam a distribuição das concentrações séricas das proteínas de fase aguda entre os grupos estudados. Os dados são apresentados como mediana, intervalo interquartil (Q1–Q3) e valores mínimo e máximo. As diferenças entre os grupos foram avaliadas pelo teste de Kruskal–Wallis, seguido do pós-teste de Dunn. Grupos identificados por letras diferentes apresentam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), enquanto grupos que compartilham pelo menos uma mesma letra não diferem estatisticamente entre si.

Em relação à albumina (valor de referência: 2,5–3,6 g/dL), observou-se diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p < 0,05$). O grupo controle (soronegativo) apresentou maiores concentrações séricas quando comparado ao grupo reagente concomitantemente para IgG e IgM. Os grupos reagentes apenas para IgG e apenas para IgM apresentaram valores intermediários, não diferindo estatisticamente dos demais grupos. Embora tenha sido observada diferença estatística, as medianas permaneceram dentro do intervalo de referência para a espécie. Como pode-se observar na Figura A.

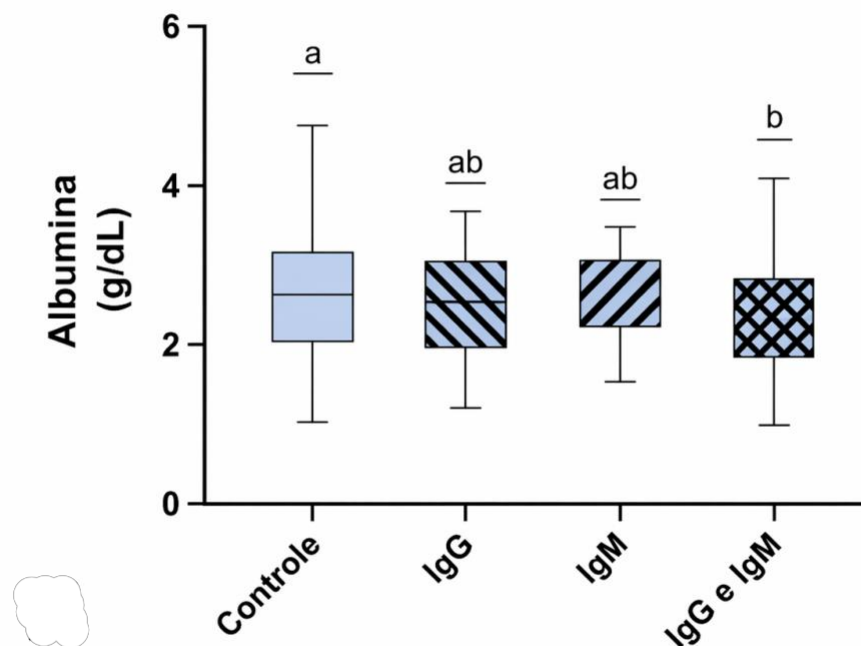


Figura A – Concentração sérica de albumina (g/dL) em cães do grupo controle e em cães reagentes para *T. gondii*, distribuídos de acordo com os perfis sorológicos (IgG, IgM e IgG + IgM).

Em relação à atividade sérica da butirilcolinesterase (BChE) (valor de referência: 3,0–5,0 $\mu\text{mol/mL/min}$), foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p < 0,05$). O grupo controle (soronegativo) apresentou maior atividade enzimática quando comparado ao grupo reagente concomitantemente para IgG e IgM, enquanto os grupos reagentes apenas para IgG e apenas para IgM apresentaram valores intermediários, não diferindo estatisticamente dos demais grupos. Embora tenha sido observada diferença estatística, as medianas permaneceram próximas ou dentro do intervalo de referência estabelecido para a espécie, indicando que as alterações observadas foram discretas, como observado na Figura B.

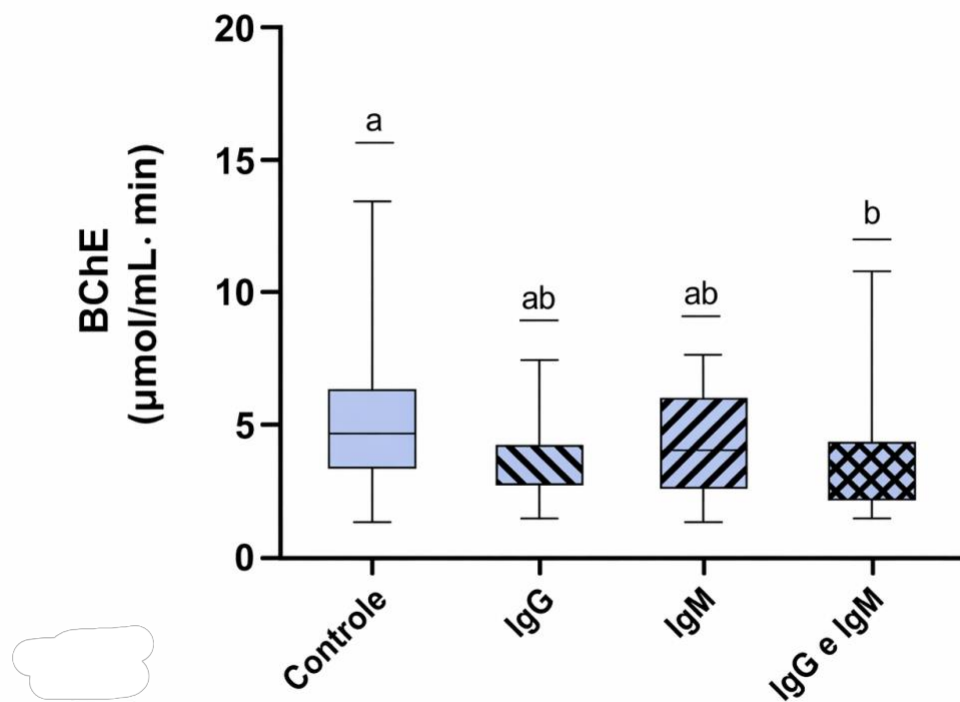


Figura B – Atividade sérica de butirilcolinesterase (BChE; $\mu\text{mol/mL/min}$) em cães do grupo controle e em cães reagentes para *T. gondii* distribuídos de acordo com os perfis sorológicos (IgG, IgM e IgG + IgM).

Em relação à concentração sérica da proteína C reativa (CRP) (valor de referência: 0,0–12,0 $\mu\text{g/mL}$), não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p > 0,05$). Apesar da variabilidade individual observada, especialmente nos grupos controle e reagente concomitantemente para IgG e IgM, as medianas permaneceram próximas ao intervalo de referência estabelecido para a espécie. Esses achados indicam que o perfil sorológico para *T. gondii* não esteve associado a alterações significativas na concentração sérica de PCR, sugerindo ausência de resposta inflamatória aguda detectável por esse biomarcador nos animais avaliados, como pode-se observar na Figura C.

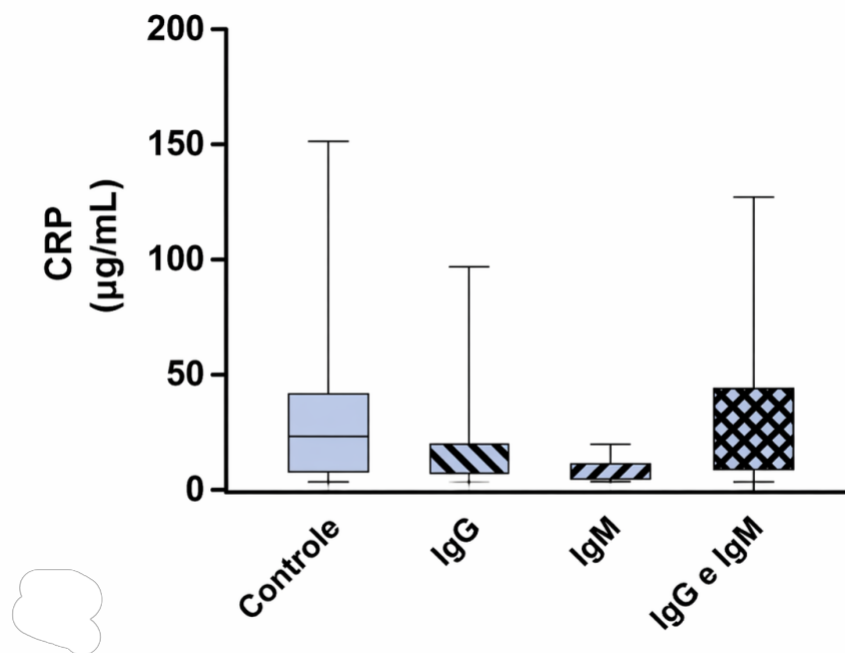


Figura C – Concentração sérica de proteína C reativa (PCR; µg/mL) em cães do grupo controle e em cães reagentes para *T. gondii* distribuídos de acordo com os perfis sorológicos (IgG, IgM e IgG + IgM).

Em relação à concentração sérica da fração beta das proteínas (FRR-B) (valor de referência: 60– 500 µg/L), não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p > 0,05$). Apesar da variação individual observada entre os animais, as medianas permaneceram semelhantes entre os grupos controle (soronegativo), reagentes para IgG, reagentes para IgM e reagentes concomitantemente para IgG e IgM.

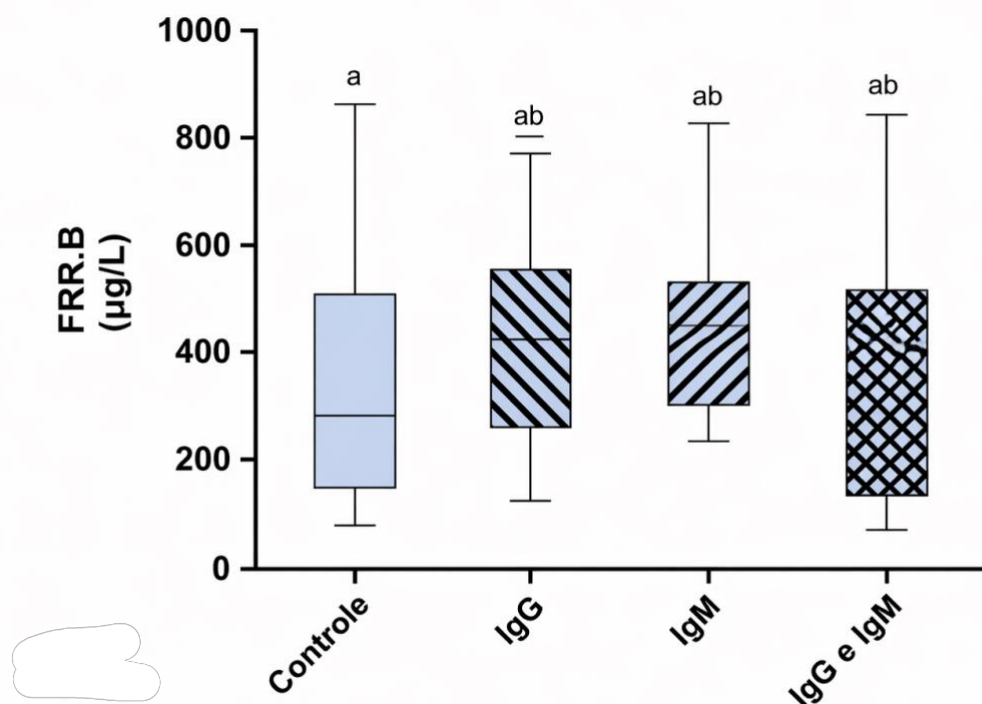


Figura D – Concentração da fração beta de proteínas (FRR.B; µg/L) em cães do grupo controle e em cães reagentes para *T. gondii* distribuídos de acordo com os perfis sorológicos (IgG, IgM e IgG + IgM).

Em relação às concentrações séricas de globulinas (valor de referência: 2,60–3,80 g/dL), foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p < 0,05$). O grupo reagente concomitantemente para IgG e IgM apresentou concentrações superiores às observadas no grupo controle (soronegativo), enquanto os grupos reagentes apenas para IgG e apenas para IgM apresentaram valores intermediários, não diferindo estatisticamente dos demais grupos. De modo geral, as medianas das concentrações de globulinas encontraram-se acima do intervalo de referência em todos os grupos avaliados, sendo esse aumento mais evidente nos animais reagentes para IgG e IgM concomitantemente, como observa-se na Figura E.

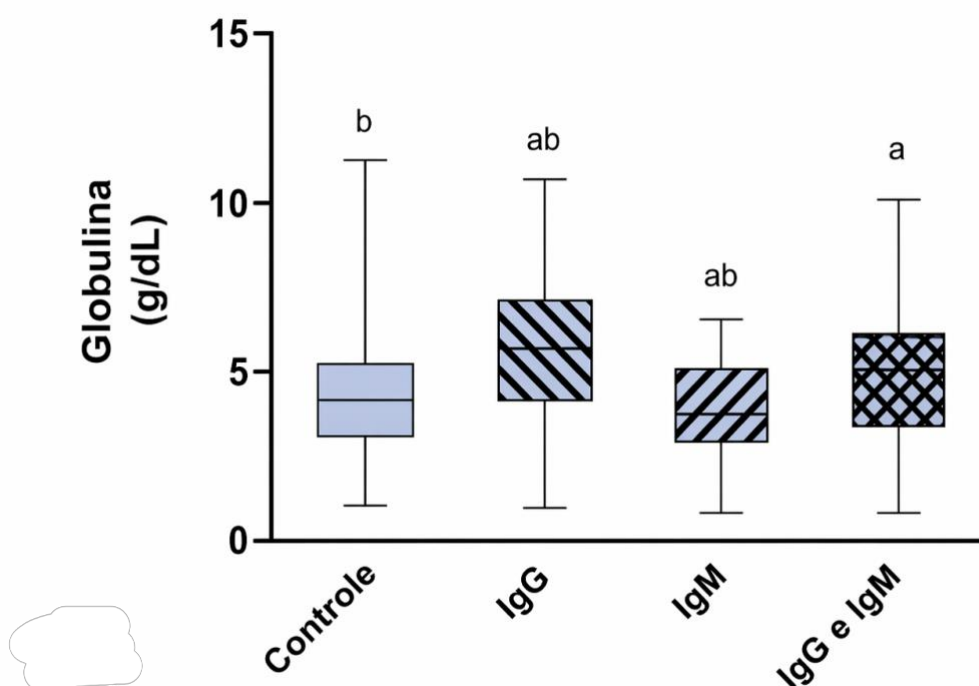


Figura E – Concentração sérica de globulinas (g/dL) em cães do grupo controle e em cães reagentes para *T. gondii*, distribuídos de acordo com os perfis sorológicos (IgG, IgM e IgG + IgM).

Em relação às concentrações séricas de haptoglobina (valor de referência: 0,00–3,00 g/L), não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p > 0,05$). Embora tenha sido verificada variabilidade individual entre os animais, as medianas permaneceram dentro do intervalo de referência para a espécie.

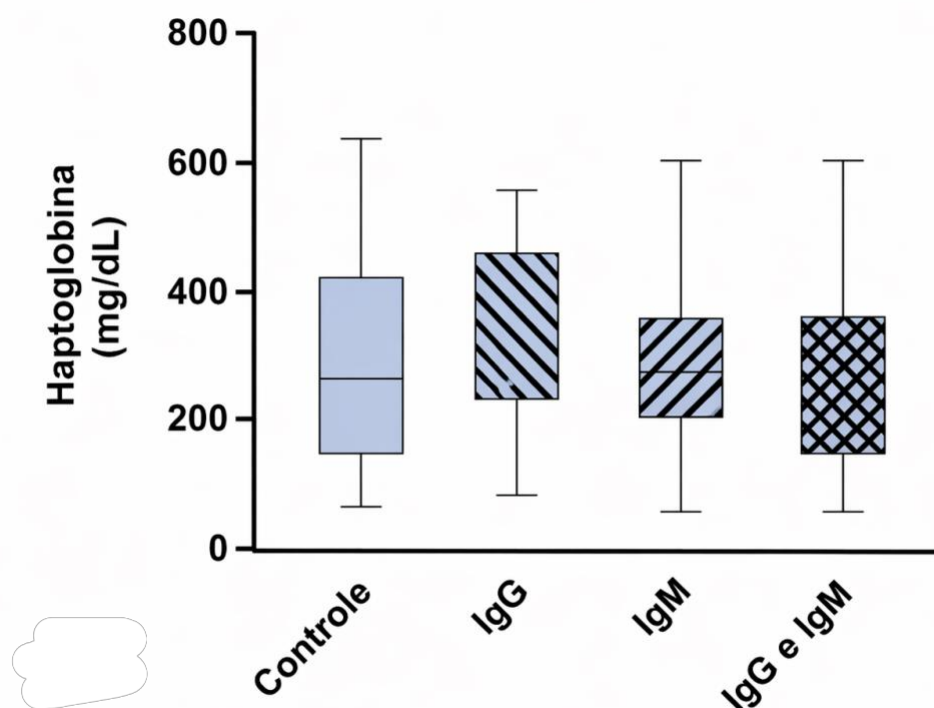
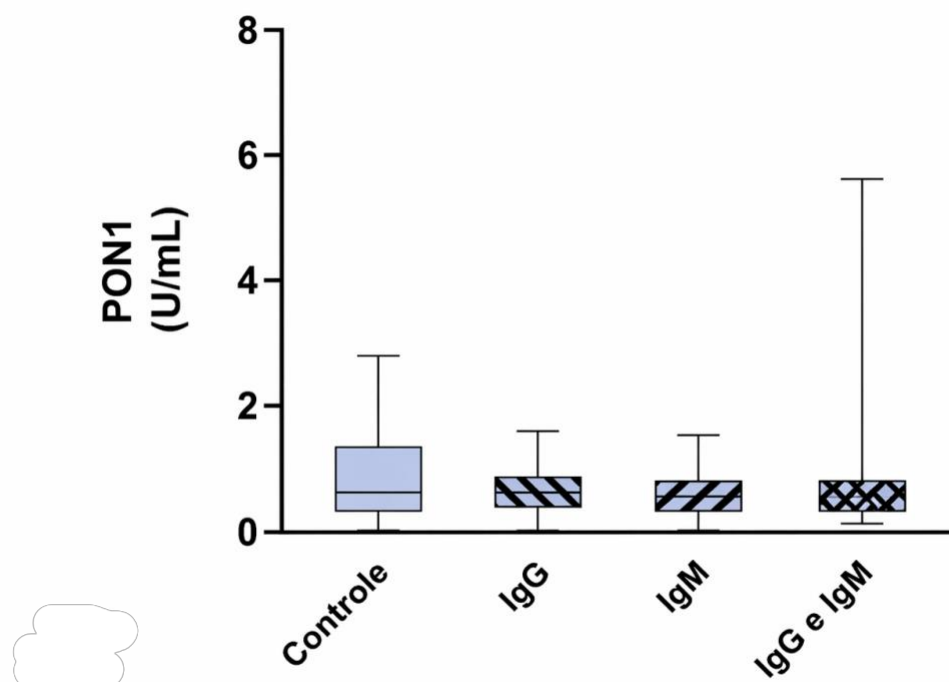


Figura F – Concentração sérica de haptoglobina (mg/dL) em cães do grupo controle e em cães reagentes para *T. gondii* distribuídos de acordo com os perfis sorológicos (IgG, IgM e IgG + IgM).

Em relação à atividade sérica da paraoxonase 1 (PON1) (valor de referência: 3,00–4,30 U/mL), não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p > 0,05$). Embora tenha sido observada maior dispersão dos valores no grupo reagente concomitantemente para IgG e IgM, as medianas permaneceram semelhantes entre os grupos avaliados. Adicionalmente, as concentrações de PON1 apresentaram-se abaixo do intervalo de referência em todos os grupos, incluindo o grupo controle (soronegativo), indicando que o perfil sorológico para *T. gondii* não esteve associado a alterações significativas na atividade dessa enzima nos cães estudados, como poder perceber na Figura G.



1

2 **Figura G – Atividade sérica de paraoxonase 1 (PON1; U/mL) em cães do grupo**
 3 **controle e em cães reagentes para *T. gondii* distribuídos de acordo com os perfis**
 4 **sorológicos (IgG, IgM e IgG + IgM).**

5 Em relação às concentrações séricas de proteína total (valor de referência: 5,40–
 6 7,20 g/dL), não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre
 7 os grupos avaliados ($p > 0,05$). Apesar da discreta variabilidade individual
 8 observada, as medianas permaneceram próximas ao intervalo de referência
 9 para a espécie, com pequenas oscilações entre os grupos sorológicos.

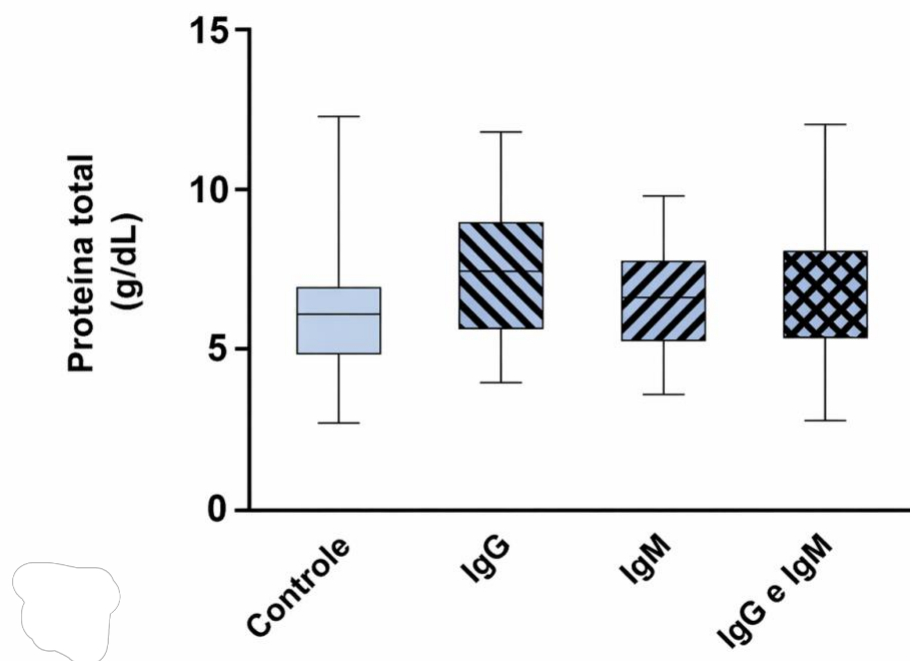


Figura H – Concentração sérica de proteína total (g/dL) em cães do grupo controle e em cães reagentes para *T. gondii*, distribuídos de acordo com os perfis sorológicos (IgG, IgM e IgG + IgM).

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram que apenas os cães reagentes concomitantemente para IgG e IgM contra *T. gondii* apresentaram redução significativa nas concentrações séricas de albumina e aumento das concentrações de globulinas em relação ao grupo controle (soronegativo), enquanto as concentrações de proteína C reativa (PCR), haptoglobina, FRR-B, PON1 e proteína total não diferiram entre os grupos avaliados. A albumina é reconhecida como uma proteína negativa de fase aguda e sua redução pode estar relacionada à redistribuição da síntese hepática durante a resposta inflamatória, favorecendo a produção de proteínas envolvidas na defesa do hospedeiro (Cerón; Eckersall; Martínez-Subiela, 2005). Em contrapartida, o aumento das globulinas não deve ser interpretado exclusivamente como consequência da produção de imunoglobulinas, uma vez que essa fração compreende diferentes proteínas plasmáticas, incluindo componentes do sistema complemento e outras proteínas de fase aguda, que podem apresentar elevação ainda nas fases iniciais da resposta imune inata, antes mesmo da detecção de anticorpos em concentrações elevadas (Eckersall; Bell, 2010). Dessa forma, os achados observados sugerem que os cães com soropositividade concomitante para IgG e IgM apresentavam uma resposta imunológica mais intensa quando comparados aos demais grupos, refletida principalmente pela modulação do perfil proteico sérico.

A imunoturbidimetria é uma técnica analítica amplamente utilizada para a quantificação de proteínas séricas, baseada na formação de complexos insolúveis entre antígenos e anticorpos específicos. Esses complexos promovem aumento de turbidez da solução, o qual é proporcional à concentração do analito presente na amostra e pode ser mensurado por métodos espectrofotométricos, por meio da redução da intensidade da luz transmitida. Trata-se de uma metodologia derivada dos princípios da imunoprecipitação quantitativa, originalmente descritos por Heidelberger e Kendall, que estabeleceram as bases da mensuração de reações antígeno-anticorpo. Devido à sua rapidez, reprodutibilidade e possibilidade de automação, a imunoturbidimetria é amplamente empregada na rotina laboratorial, especialmente na determinação de proteínas de fase aguda em medicina veterinária (Heidelberger; Kendall,

1 1935; Cerón; Eckersall; Martinez-Subiela, 2005). As proteínas que foram
2 mensuradas no estudo foram as ALB, CRP, HAPTO, BChE, FRR.B e PON1.

3 De forma geral, diferenças estatisticamente significativas entre os grupos
4 sorológicos foram observadas apenas para albumina, BChE e globulinas ($p <$
5 0,05). As concentrações de PCR, FRR-B, haptoglobina, PON1 e proteína total
6 não diferiram entre os grupos avaliados ($p > 0,05$).

7 Os resultados evidenciam que, embora não tenha sido observada
8 resposta inflamatória sistêmica clássica, caracterizada por alterações em
9 proteínas de fase aguda positivas, houve modulação do perfil proteico sérico,
10 especialmente nos animais com resposta de IgG e IgM concomitantes. Esse
11 padrão, marcado pela redução de proteínas negativas de fase aguda e aumento
12 de globulinas, sugere ativação da resposta imunológica adaptativa,
13 possivelmente associada a estágios específicos da infecção por *T. gondii*.

14 A avaliação conjunta das proteínas de fase aguda permitiu caracterizar o
15 comportamento dos biomarcadores inflamatórios nos diferentes perfis
16 sorológicos para *T. gondii*. Entre os parâmetros analisados, apenas albumina,
17 BChE e globulinas apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre
18 os grupos. A albumina, classificada como proteína negativa de fase aguda,
19 apresentou redução nos animais reagentes concomitantemente para IgG e IgM
20 em comparação ao grupo controle. As proteínas negativas de fase aguda
21 caracterizam-se pela diminuição de sua concentração sérica durante a resposta
22 inflamatória, decorrente da redistribuição da síntese hepática para proteínas
23 envolvidas na defesa do hospedeiro (Cerón; Eckersall; Martínez-Subiela, 2005;
24 Eckersall; Bell, 2010). Em contrapartida, as globulinas apresentaram
25 concentrações mais elevadas nesse mesmo grupo, resultado que pode refletir o
26 aumento de diferentes proteínas plasmáticas relacionadas à resposta
27 imunológica, incluindo imunoglobulinas e outras proteínas de fase aguda,
28 embora a dosagem de globulinas totais não permita identificar quais frações
29 foram responsáveis por esse incremento. A atividade da BChE também foi menor
30 nos animais reagentes para IgG e IgM concomitantemente. Embora essa enzima
31 não seja considerada uma proteína de fase aguda clássica, estudos demonstram
32 que sua atividade pode ser reduzida durante processos inflamatórios em
33 decorrência de alterações na síntese hepática e da ação de citocinas

1 inflamatórias, sendo proposta como biomarcador complementar da resposta
2 inflamatória em diferentes espécies (Eckersall; Bell, 2010; Cerón et al., 2023).

3 O aumento das concentrações séricas de globulinas observado nos
4 animais reagentes concomitantemente para IgG e IgM, em comparação ao grupo
5 controle, sugere maior ativação da resposta imunológica durante a infecção por
6 *T. gondii*. Entretanto, como foi realizada a determinação de globulinas totais, não
7 é possível identificar quais frações proteicas contribuíram para esse aumento,
8 podendo estar envolvidas imunoglobulinas, proteínas do sistema complemento
9 e outras proteínas relacionadas à resposta inflamatória (Cerón; Eckersall;
10 Martínez-Subiela, 2005; Eckersall; Bell, 2010). Em contrapartida, não foram
11 observadas diferenças estatisticamente significativas nas concentrações séricas
12 de haptoglobina, PON1 e proteína total entre os grupos avaliados, indicando que
13 esses biomarcadores permaneceram relativamente estáveis
14 independentemente do perfil sorológico para *T. gondii*. Esses resultados
15 sugerem que as alterações observadas na albumina, nas globulinas e na BChE
16 ocorreram de forma mais evidente nos animais reagentes concomitantemente
17 para IgG e IgM, enquanto os demais biomarcadores não apresentaram variações
18 suficientes para discriminar os diferentes perfis sorológicos.

19 A avaliação dos biomarcadores inflamatórios e proteicos nos diferentes
20 grupos experimentais demonstrou alterações consistentes com a ativação da
21 resposta de fase aguda, evidenciando a participação do sistema imune inato
22 frente à infecção por *T. gondii*. A resposta inflamatória observada pode ser
23 explicada pela liberação de citocinas pró-inflamatórias, como interleucina-1 (IL-
24 1), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), que atuam
25 diretamente na indução hepática das proteínas de fase aguda. Esse mecanismo
26 é amplamente descrito na literatura como uma resposta sistêmica essencial para
27 contenção do agente infeccioso, sendo acompanhado por alterações tanto em
28 proteínas positivas quanto negativas de fase aguda (Cerón et al., 2005;
29 Eckersall; Bell, 2010).

30 Os resultados obtidos demonstraram diferenças no perfil das proteínas de
31 fase aguda entre os grupos sorológicos, especialmente nos animais reagentes
32 concomitantemente para IgG e IgM. Entretanto, esses achados devem ser
33 interpretados com cautela, uma vez que o perfil sorológico isoladamente não
34 permite definir o estágio da infecção por *T. gondii*. Embora a presença de

1 anticorpos IgM seja frequentemente associada à infecção recente, sua
2 persistência por meses ou até anos após a infecção já foi amplamente descrita,
3 impossibilitando sua utilização como marcador exclusivo de fase aguda (Dubey,
4 2010). Além disso, *T. gondii* apresenta mecanismos de evasão da resposta
5 imune inata, incluindo a capacidade de recrutar proteínas reguladoras do
6 sistema complemento para sua superfície, reduzindo a ativação das vias
7 alternativa e das lectinas e favorecendo sua sobrevivência no hospedeiro mesmo
8 antes da participação efetiva dos anticorpos específicos. Dessa forma, as
9 alterações observadas no presente estudo provavelmente refletem a interação
10 entre o perfil sorológico e a resposta imunológica do hospedeiro, sem permitir
11 inferir, isoladamente, o momento ou a fase evolutiva da infecção.

12 As alterações nos níveis de proteínas totais e globulinas observadas neste
13 estudo reforçam a importância da resposta humoral na fisiopatologia da infecção.
14 O aumento das frações globulínicas em animais soropositivos pode ser atribuído
15 à produção aumentada de imunoglobulinas, resultado da estimulação antigênica
16 contínua promovida pelo parasito. Esse achado está em consonância com
17 estudos que descrevem a elevação de globulinas como marcador indireto de
18 ativação imunológica em doenças infecciosas crônicas, incluindo a
19 toxoplasmose (Souza et al., 2015). Além disso, a manutenção ou discreta
20 redução da albumina pode refletir seu papel como proteína negativa de fase
21 aguda, cuja síntese hepática é reduzida em condições inflamatórias em
22 detrimento da produção de proteínas positivas (Cerón et al., 2005).

23 Além disso, a análise das proteínas de fase aguda, descritas na literatura,
24 evidencia que essas moléculas desempenham funções essenciais na
25 modulação da resposta inflamatória, incluindo neutralização de radicais livres,
26 regulação da resposta imune e limitação do dano tecidual. Sua relação com os
27 demais biomarcadores analisados sugere que a resposta inflamatória observada
28 segue um padrão fisiopatológico já estabelecido para infecções sistêmicas em
29 cães (Eckersall; Bell, 2010; Silva; Canal, 2021).

30 Importante destacar que a variabilidade observada entre os grupos pode
31 estar associada a fatores intrínsecos, como carga parasitária, tempo de infecção,
32 estado imunológico do hospedeiro e possíveis coinfeções. Estudos
33 demonstram que a resposta inflamatória em cães não é uniforme, podendo variar
34 significativamente mesmo entre indivíduos expostos ao mesmo agente etiológico

(Langoni et al., 2020). Essa heterogeneidade reforça a necessidade de interpretação integrada dos dados laboratoriais, considerando não apenas um biomarcador isolado, mas o conjunto de alterações bioquímicas e imunológicas.

O presente estudo apresenta algumas limitações que devem ser consideradas na interpretação dos resultados. A seleção dos animais ocorreu de forma não probabilística, sendo constituída por cães atendidos na rotina clínica do Hospital Veterinário da FMVZ/UNESP, cuja inclusão dependia da solicitação de exame sorológico para *Toxoplasma gondii* pelo médico veterinário responsável pelo atendimento. Além disso, por se tratar de um estudo transversal, não foi possível acompanhar a evolução da resposta imunológica e das proteínas de fase aguda ao longo da infecção, nem estabelecer o momento exato da infecção com base exclusivamente no perfil sorológico. Deve-se considerar ainda que a casuística incluiu animais com diferentes enfermidades concomitantes, condição que pode influenciar o comportamento de alguns biomarcadores inflamatórios e representar um fator de confusão na interpretação dos resultados.

Apesar dessas limitações, o presente estudo amplia o conhecimento sobre o comportamento das proteínas de fase aguda em cães reagentes para *T. gondii*. Estudos prospectivos, com acompanhamento clínico e sorológico dos animais desde o momento da infecção, associados à caracterização das frações de globulinas, à avaliação de citocinas e de outros biomarcadores inflamatórios, poderão contribuir para esclarecer os mecanismos imunológicos envolvidos e o potencial dessas proteínas como ferramentas auxiliares no diagnóstico e monitoramento da toxoplasmose canina necessidade de animais clinicamentw centralizado.

Por fim, os resultados obtidos neste estudo corroboram a literatura ao demonstrar que a avaliação conjunta de parâmetros sorológicos e biomarcadores inflamatórios constitui uma ferramenta relevante para a compreensão da fisiopatologia da toxoplasmose em cães. A integração dessas variáveis permite uma abordagem mais robusta na identificação do estágio da infecção e na caracterização da resposta do hospedeiro, contribuindo para avanços no diagnóstico e no entendimento das interações parasito-hospedeiro (Cerón et al., 2005; Rodrigues et al., 2022).

1 A realização das análises em laboratório internacional de referência
2 possibilitou a incorporação de metodologias consolidadas e contribuiu para a
3 robustez e qualidade dos dados obtidos, além da importância para
4 complementar a minha formação como profissional, e também pessoal pela
5 oportunidade de viver uma outra realidade em um país europeu, enfrentar
6 desafios, e de fazer novos amigos.

CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

Conclui-se que os objetivos propostos foram alcançados, possibilitando a quantificação das imuglobulinas de anticorpos das classes IgG e IgM, presentes ou não, contra *T. gondii*, a mensuração das proteínas de fase aguda e a avaliação da relação entre o perfil sorológico e esses biomarcadores em cães. Os resultados demonstraram que apenas albumina, butirilcolinesterase e globulinas apresentaram diferenças significativas entre os grupos sorológicos, particularmente nos animais reagentes concomitantemente para IgG e IgM, enquanto PCR, haptoglobina, PON1, FRR-B e proteína total não diferiram significativamente. Dessa forma, a hipótese de que as proteínas de fase aguda estariam correlacionadas ao perfil sorológico foi parcialmente confirmada, indicando que a resposta inflamatória associada à infecção por *T. gondii* é seletiva e não envolve alterações uniformes em todos os biomarcadores avaliados. Esses achados ampliam o conhecimento sobre o comportamento das proteínas de fase aguda na toxoplasmose canina e fornecem subsídios para futuras investigações sobre sua aplicação como biomarcadores auxiliares na avaliação da resposta imunológica frente à infecção.

REFERÊNCIAS

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, B. F. M. et al. Leishmaniasis causes oxidative stress and alteration of oxidative metabolism and viability of neutrophils in dogs. **Veterinary Journal**, v. 198, p. 599–605, 2013.
- ALMEIDA, B. F. M. et al. The effects of increased heme oxygenase-1 on the lymphoproliferative response in dogs with visceral leishmaniasis. **Immunobiology**, v. 222, p. 693–703, 2017.
- ATTIAS, M. et al. The life-cycle of *Toxoplasma gondii* reviewed using animations. **Parasites & Vectors**, v. 13, p. 588, 2020. DOI: 10.1186/s13071-020-04414-8.
- BARBOSA, K. B. F. et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, p. 629–643, 2010.
- BEIGH, S. A.; SOODAN, J. S.; BHAT, A. M. Sarcoptic mange in dogs: its effect on liver, oxidative stress, trace minerals and vitamins. **Veterinary Parasitology**, v. 227, p. 30–34, 2016.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70–76, 1996.
- BOTTARI, N. B. et al. Oxidative stress in dogs with multicentric lymphoma: effect of chemotherapy on oxidative and antioxidant biomarkers. **Redox Report**, v. 20, n. 6, p. 267–274, 2015.
- BRADY, N. et al. An immunoturbidimetric assay for bovine haptoglobin. **Comparative Clinical Pathology**, v. 27, p. 4207–4213, 2018.
- BRASIL. **Ministério da Saúde**. Protocolo de notificação e investigação: toxoplasmose gestacional e congênita. Brasília, 2018.
- BREGANÓ, R. M. et al. Toxoplasmose adquirida na gestação e congênita: vigilância em saúde, diagnóstico, tratamento e condutas. Londrina: **EDUEL**, 2010.

- 1 BRESCIANI, K. D. S. et al. Toxoplasmosis in public health. In: *Toxoplasma gondii*
2 – prevalence in humans and animals. **Nova Biomedical**, 2013.
- 3 CALERO-BERNAL, R.; GENNARI, S. M. Clinical toxoplasmosis in dogs and cats:
4 an update. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 6, p. 54, 2019.
- 5 CAMARGO, M. E. Improved technique of indirect immunofluorescence for
6 serological diagnosis of toxoplasmosis. **Revista do Instituto de Medicina**
7 **Tropical de São Paulo**, v. 6, p. 117–118, 1964.
- 8 CANTOS, G. A. et al. Toxoplasmose: ocorrência de anticorpos e diagnóstico.
9 **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, n. 4, p. 335–341, 2000.
- 10 CASPI, D. et al. Isolation and characterization of C-reactive protein from the dog.
11 **Immunology**, v. 53, p. 307–313, 1984.
- 12 CASPI, D. et al. C-reactive protein in dogs. **American Journal of Veterinary**
13 **Research**, v. 48, p. 919–921, 1987.
- 14 CERÓN, J. J.; ECKERSALL, P. D.; MARTÍNEZ-SUBIELA, S. Acute phase
15 proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives. **Veterinary**
16 **Clinical Pathology**, v. 34, p. 85–99, 2005.
- 17 CERÓN, J. J. et al. Use of acute phase proteins for the clinical assessment and
18 management of canine leishmaniosis. **BMC Veterinary Research**, v. 14, p. 196,
19 2018.
- 20 CONNER, J. G. et al. Acute phase response in the dog following surgical trauma.
21 **Research in Veterinary Science**, v. 45, p. 107–110, 1988.
- 22 DA SILVA, R. C. et al. Risk factors and presence of antibodies to *Toxoplasma*
23 *gondii* in dogs from São Paulo. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 30, p. 161–
24 166, 2010.
- 25 DA SILVA, R. C.; DA SILVA, A. V.; GARCIA, J. L. Toxoplasmose em animais
26 domésticos. In: **Doenças infecciosas em animais de produção e companhia**.
27 MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. 2026, p. 909–918.

- 1 DUBEY, J. P. History of the life cycle of *Toxoplasma gondii*. **International**
2 **Journal for Parasitology**, 2009.
- 3 DUBEY, J. P. *Toxoplasmosis of animals and humans*. 2. ed. **Boca Raton**: CRC
4 Press, 2010.
- 5 DUBEY, J. P. et al. Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil.
6 **Parasitology**, v. 139, p. 1375–1424, 2012.
- 7 DUBEY, J. P. et al. *Toxoplasma gondii* infections in dogs: 2009–2020. **Veterinary**
8 **Parasitology**, 2020.
- 9 ECKERSALL, P. D.; BELL, R. Acute phase proteins: biomarkers of infection and
10 inflammation. **Veterinary Journal**, v. 185, p. 23–27, 2010.
- 11 ECKERSALL, P. D. et al. An automated biochemical assay for haptoglobin.
12 **Comparative Clinical Pathology**, v. 9, p. 117–124, 1999.
- 13 EREL, O. A novel automated method for total antioxidant capacity. **Clinical**
14 **Biochemistry**, v. 37, p. 277–285, 2004.
- 15 EREL, O. A new automated method for total oxidant status. **Clinical**
16 **Biochemistry**, v. 38, p. 1103–1111, 2005.
- 17 FERREIRA, R. F. et al. Differential acute-phase protein responses in dogs
18 seropositive for *Neospora caninum*. **Parasitology Research**, v. 120, p. 3529–
19 3535, 2021.
- 20 GENNARI, S. M. et al. *Toxoplasma gondii* antibodies in wild rodents. **Revista**
21 **Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, p. 379–382, 2015.
- 22 KODYM, P. et al. Reactivation of latent *Toxoplasma gondii* infection in HIV
23 patients. **Epidemiology and Infection**, v. 143, p. 600–607, 2015.
- 24 LANGONI, H. et al. Detection of *Toxoplasma gondii* in dogs with neurological
25 disorders. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, p.
26 365–368, 2012.

- 1 MONTROYA, J. G.; ROSSO, F. Diagnosis and management of toxoplasmosis.
2 **Clinics in Perinatology**, v. 32, p. 705–726, 2005.
- 3 MURATA, H. et al. Acute phase proteins in veterinary diagnosis. **Veterinary**
4 **Journal**, v. 168, p. 28–40, 2004.
- 5 PALTRINIERI, S. Early biomarkers of inflammation in dogs and cats. *Veterinary*
6 **Research Communications**, v. 31, p. 125–129, 2007.
- 7 PIÑEIRO, M. et al. Immunoturbidimetric assay for canine CRP. **Veterinary**
8 **Clinical Pathology**, v. 47, p. 130–137, 2018.
- 9 RODRIGUES, N. J. L. et al. Atualizações e padrões da toxoplasmose humana e
10 animal. **Revista de Veterinária e Zootecnia**, v. 29, 2022. DOI:
11 10.35172/rvz.2022.v29.704.
- 12 RODRIGUES, N. J. L.; FRANÇA, D. A.; SILVA, A. V.; ABBADE, J. F.; MENOZZI,
13 B. D.; LANGONI, H. Comparison of serological methods for the diagnosis of
14 toxoplasmosis in pregnant women. **Pathogens**, v. 15, p. 363, 2026. DOI:
15 10.3390/pathogens15040363.
- 16 SILVA, M. N.; CANAL, N. Métodos de detecção de oocistos de *Toxoplasma*
17 *gondii*. **Revista Saúde e Meio Ambiente**, v. 12, p. 200–216, 2021.
- 18 SOUZA, W. D. E.; BELFORT JR., R. *Toxoplasmose e Toxoplasma gondii*. Rio
19 de Janeiro: **Fiocruz**, 2014.
- 20 **SHWAB, E. K. et al.** *Geographical patterns of Toxoplasma gondii genetic*
21 *diversity revealed by multilocus PCR-RFLP genotyping. Parasitology*, 2014.
- 22 YAN, C. et al. Stray dogs as indicators of *Toxoplasma gondii*. **Parasites &**
23 **Vectors**, v. 5, p. 5, 2012.
- 24
-

ANEXOS

Anexo A – Base de dados dos animais incluídos no estudo.

A planilha contendo os dados individuais dos cães participantes da pesquisa, incluindo identificação, idade, sexo, informações clínicas, resultados sorológicos para *Toxoplasma gondii* e parâmetros laboratoriais avaliados, encontra-se disponível para consulta por meio do seguinte endereço eletrônico:

https://docs.google.com/spreadsheets/d/1rflx1W7nfVwQ7YeiaK0ig_IljrVM7emT/edit?usp=sharing&ouid=112699318250834110274&rtpof=true&sd=true