



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

LUCAS MACENA SOBRAL

**RELATÓRIO DE ATIVIDADES DO ESTÁGIO SUPERVISIONADO OBRIGATÓRIO
REALIZADO NO LABORATÓRIO CLÍNICO VETERINÁRIO (LCV) DA
UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO” CAMPUS
BOTUCATU, BRASIL**

**Estudo da coinfeção por *Leishmania infantum*, *Neospora
caninum* e *Toxoplasma gondii* em cães do estado de Pernambuco**

**RECIFE, 2025
LUCAS MACENA SOBRAL**

Estudo da coinfeccção por *Leishmania infantum*, *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em cães do estado de Pernambuco

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Medicina Veterinária sob orientação da Prof^a. Dr^a. Renata Pimentel Bandeira de Melo.

RECIFE, 2025

LUCAS MACENA SOBRAL

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação Sistema
Integrado de Bibliotecas da UFRPE Bibliotecário(a): Suely Manzi
– CRB-4 809

S677e Sobral, Lucas Macena.

Estudo da coinfeção por *Leishmania infantum*, *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em cães do estado de Pernambuco : relatório de atividades do estágio supervisionado obrigatório, realizado no Laboratório Clínico Veterinário (LCV) da Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho” campus Botucatu, município Botucatu, Brasil / Lucas Macena Sobral. – Recife, 2025.
45 f.; il.

Orientador(a): Renata Pimentel Bandeira de Melo.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Bacharelado em Medicina Veterinária, Recife, BR-PE, 2025.

Inclui referências.

1. Leishmaniose. 2. Neosporose. 3. Toxoplasmose. 4. Semiologia (Medicina) 5. Coinfeção. I. Melo, Renata Pimentel Bandeira de, orient. II. Título

CDD 636.089

Estudo da coinfeção por *Leishmania infantum*, *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em cães do estado de Pernambuco

Aprovado em: 20/01/2025

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Renata Pimentel Bandeira de Melo
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Jaqueline Bianque de Oliveira
Universidade Federal Rural de Pernambuco

Prof. Dr. Leucio Câmara Alves
Universidade Federal Rural de Pernambuco

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Alexandre e Sueli, que sempre acreditaram em mim, me apoiaram em cada desafio e aturaram meu mau humor matutino, vespertino e noturno. Dedico à minha mãe pelo colo ofertado, o apoio emocional e o cuidado com meu bem-estar. Ao meu pai, pela torcida, o incentivo e o patrocínio. Apesar de a veterinária ser uma parte muito grande de mim hoje, esse amor pelos animais e pela natureza é fruto da relação que construímos durante minha infância. Sem dúvidas, é a parte sua que habita em mim.

Dedico, também, aos meus professores, que foram parte fundamental da minha trajetória dentro do curso e na vida fora dele. Em especial, dedico à professora Miriam Nogueira Teixeira, que foi minha mentora, inspiração e amiga. Suas aulas me deram muita motivação durante a pandemia, e ter lhe acompanhado como monitor mudou totalmente o rumo da minha vida profissional. Parte das minhas conquistas são fruto do seu incentivo para apostar alto e confiar em mim mesmo.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar minha gratidão à minha família, que me deu apoio durante toda a minha jornada desde a infância. Sou grato aos meus irmãos, Getúlio e Nathalia, pela parceria, conversas e passeios, tanto nos momentos de estresse quanto fora deles. Agradeço aos meus pais pela vida, educação, compreensão dos meus limites e pelos cafezinhos passados durante minhas noites mal dormidas.

Sou grato aos meus amigos, aos que fizeram e aos que ainda fazem parte da minha vida. Agradeço à Duda (Eduarda Faria), pela parceria que se estende da sala de aula aos bares mais inusitados do Recife. À Kalina Pereira, pela companhia nos trabalhos mais caóticos da graduação e nas fugas para comer em Claudinha. À Nataly Arruda, que, além de uma grande amiga, foi meu porto seguro nessa reta final do curso.

Expresso minha gratidão ao professor Moacir Andrade, por ter sido meu primeiro orientador de monitoria e por me abrir várias portas no início do curso. Agradeço pela oportunidade de acompanhá-lo durante as aulas de anatomia, o que me fez me apaixonar pela área acadêmica.

Agradeço ao Laboratório de Patologia Clínica Veterinária (LPCV), que foi parte do meu lar nos últimos anos. Sou grato à professora Miriam, Janaína, Carol, Lucas, Angélica, Antônio, Laura e Gabi. Os ensinamentos, fofocas, risadas e festas tornaram meus dias mais alegres. Vocês foram fundamentais na minha jornada dentro da patologia clínica.

Não poderia deixar de agradecer ao Laboratório de Doenças Parasitárias (LDP), que foi a outra metade do meu lar durante a graduação. Em especial, agradeço aos professores Renata Pimentel e Leucio Câmara pela orientação durante a monitoria e pesquisa, além da parceria na reta final do curso. Obrigado por acreditarem em mim e pelo apoio na vida pessoal e profissional. Agradeço à Carina Mendes pelos conselhos, paciência e conversas. Também agradeço às residentes Caroline Penha e Dannielly Araújo pela parceria dentro e fora do laboratório, pelos cafés com fofoca e por estarem sempre dispostas a conversar. Vocês tornam o LDP um lugar muito melhor.

Gostaria de agradecer também ao Laboratório Clínico Veterinário da UNESP-Botucatu por ter me recebido durante o período de estágio, pelo acolhimento e pelas experiências ofertadas. Não poderia deixar de agradecer aos

residentes Cintia, Elisa, Giovanna, William, Fauane e Gabriel por terem me dado incentivo e apoio durante esse período de incertezas e ansiedade.

" 'Cause all my life I've tried to fight what history has given me."

(Marina Diamandis, música: "Sex Yeah", 2012)

RESUMO

Este trabalho de conclusão de curso objetivou relatar as atividades realizadas durante o período de Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO), além de contribuir com a investigação da coinfeção por *Leishmania infantum*, *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em cães no estado de Pernambuco. O capítulo I relata as atividades realizadas no Laboratório Clínico Veterinário (LCV) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), *campus* Botucatu, durante o período de 29 de outubro de 2024 a 17 de janeiro de 2025, sob a supervisão da Prof^ª. Dr^ª. Regina Kiomi Takahira. Durante o período de estágio foram realizados 2516 exames, distribuídos entre hemograma, urinálise, contagem de reticulócitos, dosagem de fibrinogênio, análise de derrames cavitários, teste de aglutinação em salina, teste de compatibilidade sanguínea, pesquisa de hemoparasitos, teste de tempo de coagulação e mielograma. O capítulo II apresenta um artigo intitulado “Estudo da coinfeção por *Leishmania infantum*, *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em cães do estado de Pernambuco”, no qual foram utilizadas amostras provenientes do banco de soro obtidas no Ambulatório de Leishmaniose Canina do Laboratório de Doenças Parasitárias (LDP) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Os resultados obtidos indicam uma prevalência de 69,12% (94/136) de coinfeção, evidenciando a necessidade de estratégias de controle e prevenção mais eficazes. Este estudo contribui para o entendimento da epidemiologia dessas infecções parasitárias e ressalta a importância do diagnóstico, avaliação dos sinais clínicos e do impacto das coinfeções para condução terapêutica adequada dos pacientes.

Palavras-chave: Leishmaniose, Neosporose, Toxoplasmose, Sinais Clínicos, Oocisto.

ABSTRACT

This thesis aimed to report the activities carried out during the period of Mandatory Supervised Internship (ESO), as well as to contribute to the investigation of coinfection by *Leishmania infantum*, *Neospora caninum*, and *Toxoplasma gondii* in dogs in the state of Pernambuco. Chapter I reports the activities carried out at the Veterinary Clinical Laboratory (LCV) of the São Paulo State University (UNESP), Botucatu campus, during the period from October 29, 2024, to January 17, 2025, under the supervision of Prof. Dr. Regina Kiomi Takahira. During the internship period, 2516 tests were performed, including complete blood count, urinalysis, reticulocyte count, fibrinogen measurement, analysis of body cavity effusions, saline agglutination test, blood compatibility test, hemoparasite screening, coagulation time test, and bone marrow examination. Chapter II presents an article titled "Study of the coinfection by *Leishmania infantum*, *Neospora caninum*, and *Toxoplasma gondii* in dogs from the state of Pernambuco", which used samples from the serum bank, obtained from the Canine Leishmaniasis Outpatient Clinic of the Parasitic Diseases Laboratory (LDP) at the Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE). The results indicate a coinfection prevalence of 69.12% (94/136), highlighting the need for more effective control and prevention strategies. This study contributes to the understanding of the epidemiology of these parasitic infections and emphasizes the importance of diagnosis, clinical signs evaluation, and the impact of coinfections for proper therapeutic management of the patients.

Keywords: Leishmaniasis, Neosporosis, Toxoplasmosis, Clinical Signs, Oocyst.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fachada do Laboratório Clínico Veterinário (LCV).	16
Figura 2. Laboratório de rotina.	17
Figura 3. Banco de sangue.	17
Figura 4. Sala de hemogasometria e centrifugação.	18
Figura 5. Sala de lavagem de materiais.	18
Figura 6. Sala de bioquímica.	19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Exames realizados no Laboratório Clínico Veterinário da Universidade Estadual Paulista, <i>campus</i> Botucatu durante o período de estágio.	21
Tabela 2. Distribuição dos exames realizados no Laboratório Clínico Veterinário da Universidade Estadual Paulista, <i>campus</i> Botucatu durante o período de estágio, divididos de acordo com a espécie animal.	23
Tabela 3. Distribuição das urinálises realizadas no Laboratório Clínico Veterinário da Universidade Estadual Paulista, <i>campus</i> Botucatu durante o período de estágio por espécie animal.	24
Tabela 4. Distribuição dos derrames cavitários realizados no Laboratório Clínico Veterinário da Universidade Estadual Paulista, <i>campus</i> Botucatu durante o período de estágio por espécie animal.	25

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Características dos animais positivos para <i>Leishmania infantum</i> avaliados no estudo de acordo com o sexo.	30
Gráfico 2. Faixa etária dos animais positivos para <i>Leishmania infantum</i> avaliados no estudo.	30
Gráfico 3. Características dos animais positivos para <i>Leishmania infantum</i> avaliados no estudo de acordo com a raça (SRD: sem raça definida).	31
Gráfico 4. Procedência dos animais positivos para <i>Leishmania infantum</i> avaliados no estudo de acordo com o município de residência.	32
Gráfico 5. Distribuição dos animais positivos para <i>Leishmania infantum</i> e coinfectados por <i>Neospora caninum</i> e <i>Toxoplasma gondii</i> avaliados no estudo de acordo com o sexo.	33
Gráfico 6. Faixa etária dos animais positivos para <i>Leishmania infantum</i> e coinfectados por <i>Neospora caninum</i> e <i>Toxoplasma gondii</i> avaliados no estudo.	34
Gráfico 7. Distribuição dos animais positivos para <i>Leishmania infantum</i> e coinfectados por <i>Neospora caninum</i> e <i>Toxoplasma gondii</i> avaliados no estudo de acordo com a raça (SRD: Sem Raça Definida).	34
Gráfico 8. Procedência dos animais positivos para <i>Leishmania infantum</i> e coinfectados por <i>Neospora caninum</i> e <i>Toxoplasma gondii</i> avaliados no estudo de acordo com o município de residência.	35

Gráfico 9. Distribuição percentual de cães sintomáticos, oligossintomáticos e assintomáticos positivos para *Leishmania infantum* e coinfectados com *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* avaliados no estudo.

SUMÁRIO

1. CAPÍTULO I	15
1.1. Introdução	15
1.2. Descrição do local do estágio	16
1.3. Descrição das atividades	20
1.3.1. Casuística	20
1.3.2. Hematologia	21
1.3.3. Urinálise	23
1.3.4. Derrames cavitários	24
2. CAPÍTULO II	26
2.1. Artigo científico	26
Estudo da coinfeção por <i>Leishmania infantum</i> , <i>Neospora caninum</i> e <i>Toxoplasma gondii</i> em cães do estado de Pernambuco	26
Introdução	26
Metodologia	28
Amostras biológicas	28
Análise sorológica	29
Classificação dos sinais clínicos para leishmaniose e análise de dados	29
Resultados e Discussão	30
Conclusão	38
3. Considerações Finais	39
REFERÊNCIAS	40

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AHIM	Anemia Hemolítica Imunomediada
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
DSCF	Dwass-Steel-Critchlow-Fligner
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
ESO	Estágio Supervisionado Obrigatório
FMVZ	Faculdade De Medicina Veterinária E Zootecnia
HT	Hematócrito
HOVET	Hospital Veterinário
IgG	imunoglobulina G
LCV	Laboratório Clínico Veterinário
LCan	Leishmaniose Canina
LDP	Laboratório de Doenças Parasitárias
LV	Leishmaniose Visceral
P	Valor de probabilidade associado aos testes de significância estatística
PPT	Proteína Plasmática Total
R1	Rotina 1
R2	Rotina 2
RDW	Red Cell Distribution Width – Amplitude De Distribuição De Eritrócitos
RG	Registro Geral
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
S1	Suplente 1
S2	Suplente 2
SRD	Sem Raça Definida
UNESP	Universidade Estadual Paulista “Júlio De Mesquita Filho”
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
VG	Volume Globular

1. CAPÍTULO I

1.1. Introdução

O presente documento descreve as experiências adquiridas durante o Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) do curso de Medicina Veterinária, realizado no Laboratório Clínico Veterinário (LCV) do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade Estadual Paulista (UNESP), *campus* Botucatu, entre 29 de outubro de 2024 e 17 de janeiro de 2025, sob a supervisão da Prof^a. Dr^a. Regina Kiomi Takahira, perfazendo uma carga horária de 448 horas.

Durante o estágio, foi possível vivenciar a rotina do laboratório, integrando o conhecimento teórico e prático. O LCV realiza exames complementares como hemograma, bioquímica sérica, exames de urina, avaliação de líquidos cavitários, mielograma e diversos outros. As atividades realizadas atendem à demanda do hospital veterinário da UNESP e também recebem amostras externas.

Este relatório apresenta a descrição do local de estágio, as atividades desenvolvidas e a casuística observada ao longo do período de estágio.

1.2. Descrição do local do estágio

O Estágio Supervisionado Obrigatório (ESO) foi realizado no Laboratório Clínico Veterinário (LCV) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), *campus* Botucatu. O LCV (Figura 1) é organizado em diversas salas, cada uma com uma finalidade específica: o laboratório de rotina, onde são realizados a maior parte dos exames (Figura 2); a sala do banco de sangue, responsável pelas coletas dos doadores e pelo processamento das bolsas de sangue (Figura 3); a sala de hemogasometria e centrifugação, que é compartilhada com os médicos veterinários residentes de anestesiologia (Figura 4); a sala de lavagem de materiais (Figura 5) e a sala de bioquímica (Figura 6).

Figura 1. Fachada do Laboratório Clínico Veterinário (LCV).



Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Figura 2. Laboratório de rotina.



Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Figura 3. Banco de sangue.



Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Figura 4. Sala de hemogasometria e centrifugação.



Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Figura 5. Sala de lavagem de materiais.



Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Figura 6. Sala de bioquímica.



Fonte: Arquivo pessoal (2025).

Os serviços oferecidos pelo Laboratório abrangem solicitações de residentes da instituição, veterinários autônomos e projetos de pesquisa vinculados à universidade. Os residentes do LCV são responsáveis por coletar amostras de medula óssea, sangue da ponta de orelha para investigação de hemoparasitos, coleta de sangue dos doadores e para análise do tempo de coagulação.

Cada amostra enviada ao laboratório é identificada de forma padronizada, com o Registro Geral (RG) e o número de requisição do animal. As requisições são gerenciadas por um sistema desenvolvido pela própria UNESP e incluem: hemograma, bioquímica, urinálise, análise de líquidos cavitários, líquido e exames especiais.

A equipe do laboratório é composta por dois professores, três técnicos, seis residentes e os estagiários, tanto da universidade como de outras instituições de ensino. Na rotina, os técnicos ficam responsáveis pela realização das análises bioquímicas e lavagem das vidrarias do laboratório, enquanto os residentes e estagiários executam as demais atividades do setor.

1.3. Descrição das atividades

O LCV adota um rodízio semanal entre residentes e estagiários. Os estagiários são distribuídos em quatro setores específicos, identificados como R1 (Rotina 1), R2 (Rotina 2), S1 (Suplente 1) e S2 (Suplente 2). Os estagiários designados para o setor R1 participam do recebimento de amostras, realizam atividades como centrifugação de capilares, leitura do volume globular (VG), proteína plasmática total (PPT) e fibrinogênio. Posteriormente, as amostras são encaminhadas ao setor R2, responsável por passar as amostras nos contadores hematológicos, preparar os capilares e os esfregaços sanguíneos, além das diluições necessárias para contagem manual de células e concentração de hemoglobina.

Os estagiários do S1 acompanham a leitura das lâminas, aprendendo a realizar contagem de plaquetas na câmara de Neubauer, estimativas de leucócitos e plaquetas em esfregaço sanguíneo, além da contagem diferencial de células e identificação de espécies animais com base nas características morfológicas celulares. Adicionalmente às análises quantitativas, é possível identificar alterações qualitativas celulares, como mudanças de forma, tamanho, coloração e a presença de hemoparasitos.

O setor S2 é responsável pelo processamento e análise dos exames que não envolvem hemograma. Entre as atribuições estão a análise de urina, líquidos cavitários e líquor, desde o recebimento das amostras biológicas até a leitura das lâminas. Além disso, cabe ao S2 a liberação de resultados dos exames bioquímicos, a gestão do banco de sangue e o setor de hemogasometria. Também realizam exames complementares na área de hematologia, como contagem de reticulócitos, teste de aglutinação em salina, teste de compatibilidade e pesquisa de hemoparasitos.

1.3.1. Casuística

Durante o período de estágio foi possível participar da realização de 2.516 exames, detalhados conforme exposto na tabela 1. O hemograma foi o mais frequente, com 1.931 solicitações (76,75%). Em seguida, destacaram-se a urinálise, com 198 análises (7,87%), e a contagem de reticulócitos, com 99 casos (3,93%). Exames menos recorrentes incluíram fibrinogênio, com 94 análises (3,74%), derrames cavitários, com 45 (1,79%), e 34 (1,35%) testes de aglutinação em salina.

Outros procedimentos tiveram menor representatividade, como 17 (0,68%) testes de compatibilidade sanguínea, 6 (0,24%) pesquisas de hemoparasitos, 4 (0,16%) testes de tempo de coagulação, 3 (0,12%) mielogramas e 1 (0,04%) leucograma.

Tabela 1. Exames realizados no Laboratório Clínico Veterinário da Universidade Estadual Paulista, *campus* Botucatu durante o período de estágio.

Exame	Frequência	Porcentagem
Hemograma	1931	76,75%
Urinálise	198	7,87%
Contagem de reticulócitos	99	3,93%
Fibrinogênio	94	3,74%
VG/PPT	55	2,19%
Derrames cavitários	45	1,79%
Aglutinação em salina	34	1,35%
Contagem de plaquetas	24	0,95%
Compatibilidade sanguínea	17	0,68%
Pesquisa de hemoparasitos	6	0,24%
Líquido ruminal	5	0,20%
Tempo de coagulação	4	0,16%
Mielograma	3	0,12%
Leucograma	1	0,04%
Total	2516	100%

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

1.3.2. Hematologia

Os exames de hematologia abrangem hemograma completo, contagem de reticulócitos, fibrinogênio, proteína plasmática total (PPT) ou a combinação de volume globular e proteína plasmática total (VG/PPT). O hemograma completo inclui hematócrito (HT), proteína plasmática total (PPT), leucograma e estimativa de plaquetas.

O processo inicia com o recebimento e avaliação da amostra, que deve estar livre de fibrina e coágulos, respeitando a proporção de sangue indicada no tubo. Em

casos de detecção de coágulo na amostra, solicita-se nova coleta. Se houver presença de fibrina, o processo pode ser realizado, mas os valores de plaquetas e RDW (*red cell distribution width*) são desconsiderados; se esses parâmetros forem essenciais para o solicitante, uma nova coleta é requisitada.

Após o recebimento, as amostras são analisadas em um dos três contadores hematológicos disponíveis no laboratório (MEK-6550 – Nihon Kohden, Hemacounter 60 ou Vetscan HM5), que fornecem valores de eritrócitos, hemoglobina, leucócitos, plaquetas e RDW, seguindo para confecção dos esfregaços sanguíneos e preenchimento dos capilares para a determinação do hematócrito.

A determinação do hematócrito requer o preenchimento de um capilar no caso de hemograma completo e dois capilares quando solicitados apenas Volume Globular (VG), Proteína Plasmática Total (PPT) e fibrinogênio. Os capilares são centrifugados em centrífugas de microhematócrito (MH 11.5 ou Centurion Scientific), e a leitura do microhematócrito é realizada utilizando uma tabela apropriada. A PPT é medida manualmente com auxílio de um refratômetro.

A contagem diferencial de leucócitos, a estimativa de plaquetas e leucócitos, bem como a avaliação morfológica celular, são procedimentos fundamentais na hematologia veterinária, geralmente conduzidos por veterinários residentes por meio de análise microscópica. Essas práticas permitem a identificação de alterações celulares que podem indicar diversas patologias (Feldman et al., 2000).

A contagem de reticulócitos é realizada utilizando uma solução de corante supravital (azul de cresil brilhante; novo azul de metileno), que se liga ao RNA residual presente nos reticulócitos, permitindo sua identificação. O procedimento envolve a homogeneização do sangue com o corante na proporção de 1:1, seguida de incubação por 15 minutos em banho-maria a 37°C. Após a incubação, são preparados esfregaços sanguíneos para análise microscópica dos reticulócitos (Weiss; Wardrop, 2010).

Os dados referentes aos exames realizados durante o período de estágio, de acordo com a espécie animal, podem ser observados na tabela 2.

Tabela 2. Distribuição dos exames realizados no Laboratório Clínico Veterinário da Universidade Estadual Paulista, *campus* Botucatu durante o período de estágio, divididos de acordo com a espécie animal.

Espécie	Hemograma	Contagem de reticulócitos	Fibrinogênio	VG/PPT	Contagem de plaquetas	Leucograma
Aves	26	0	0	0	0	0
Bovino	12	0	12	0	0	0
Canino	1456	76	0	36	20	1
Caprino	7	0	7	0	0	0
Equino	17	0	17	0	0	0
Felino	312	23	0	17	4	0
Mamíferos silvestres	32	0	0	1	0	0
Ovino	58	0	58	0	0	0
Répteis	11	0	0	1	0	0

VG: volume globular. PPT: proteínas plasmáticas totais. Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

1.3.3. Urinálise

A análise de urina é composta pelo exame físico, químico e a sedimentoscopia. No exame físico, observa-se o volume, a coloração, o aspecto, o odor e a densidade da urina, que é medida com um refratômetro manual. Esses parâmetros fornecem indícios sobre o estado do sistema urinário e refletem condições gerais de saúde.

O exame químico envolve a análise de diversos compostos presentes na urina. O pH, as proteínas, a glicose, os corpos cetônicos, o urobilinogênio, a bilirrubina, o sangue oculto e os sais biliares são avaliados para detectar possíveis distúrbios metabólicos, inflamatórios ou infecciosos. Para essa análise, são utilizadas fitas colorimétricas (Combur10 Test® M).

Para a análise do sedimento, a urina é centrifugada para concentrar as células e outras estruturas presentes. O processo é feito a 1500 rpm por 5 minutos (CARLSON, 1993), removendo o sobrenadante e deixando 0,5 mL de sedimento, que é cuidadosamente homogeneizado. Esse sedimento é então colocado em uma lâmina de microscopia para observação da presença de células descamativas,

células epiteliais, hemácias, leucócitos, cilindros, espermatozoides, muco, bactérias e cristais.

A sedimentoscopia é fundamental para elucidar os achados das etapas anteriores. Para garantir uma análise precisa, é recomendado que a amostra tenha pelo menos 5 mL (Navarro, 1996). Caso o volume seja menor, a análise será qualitativa, porém ainda importante. A amostra deve ser protegida da luz, pois a exposição pode degradar a bilirrubina e alguns cristais.

Tabela 3. Distribuição das urinálises realizadas no Laboratório Clínico Veterinário da Universidade Estadual Paulista, *campus* Botucatu, durante o período de estágio por espécie animal.

Espécie	Urinálise
Bovino	3
Canino	107
Caprino	1
Equino	5
Felino	82
Ovino	9
Total	198

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

1.3.4. Derrames cavitários

As etapas da análise de derrames cavitários são semelhantes ao processamento da urinálise. Para a realização do exame, é solicitado que a amostra seja acondicionada num tubo contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e um tubo seco (Center, 2004). Com a amostra do tubo seco, são realizadas as análises físicas, como avaliação do volume, coloração, presença de coagulação, aspecto, odor e densidade do líquido, com auxílio de um refratômetro manual.

A análise química também é realizada com o material sem anticoagulante, através da imersão das fitas colorimétricas (Combur10 Test® M) e observação dos resultados de pH, proteínas, glicose e sangue oculto. Adicionalmente, é realizada a avaliação da proteína por refratometria manual, podendo ser realizado o teste de fibrinogênio caso o valor de proteína seja maior que três (Dempsey; Ewing, 2011).

Apesar de falar-se da avaliação microscópica no fim da avaliação do líquido, a contagem celular e a confecção das lâminas são o primeiro passo após o recebimento da amostra. Para assegurar uma análise fidedigna, imediatamente após o recebimento da amostra, é realizada a contagem manual de células na câmara de Neubauer, sendo a diluição realizada apenas em amostras com elevada contagem celular. Além disso, a contagem celular serve de base para a escolha da técnica de confecção das lâminas, podendo ser realizado o *squash* direto em amostras com mais de 3.000 células, a concentração por centrifugação em amostras com 500 a 2.500 células ou citocentrífuga, para amostras com menos de 500 células.

A distribuição das análises de líquido cavitário realizadas durante o período de estágio está exposta na tabela 4.

Tabela 4. Distribuição dos derrames cavitários realizados no Laboratório Clínico Veterinário da Universidade Estadual Paulista, *campus* Botucatu durante o período de estágio por espécie animal.

Espécie	Derrames cavitários
Canino	23
Equino	5
Felino	12
Mamífero selvagem	2
Réptil	3
Total	45

Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

2. CAPÍTULO II

2.1. Artigo científico

Estudo da coinfeção por *Leishmania infantum*, *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em cães do estado de Pernambuco

Introdução

Diversos protozoários apresentam importância para a clínica médica de caninos e felinos por causarem prejuízos à saúde, além de algumas espécies apresentarem potencial zoonótico (Esch; Petersen, 2013). O conhecimento sobre a infecção por esses agentes tem relevância epidemiológica em virtude da relação entre os cães, gatos e humanos, sendo necessária a adoção de medidas higiênico-sanitárias para evitar a transmissão (Coelho et al., 2013). Dentre esses agentes parasitários que podem infectar cães e gatos, destacam-se *Leishmania infantum*, *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii*.

Leishmania infantum é o agente etiológico da Leishmaniose Visceral (LV), sendo o cão um dos principais reservatórios em áreas urbanas no Brasil (Hirschmann et al., 2015). A transmissão ocorre por meio da picada de insetos flebotomíneos do gênero *Lutzomyia*, destacando-se as espécies *Lu. longipalpis* e *Lu. cruzi* no Brasil (Brasil, 2014). A LV é considerada uma enfermidade negligenciada, de perfil endêmico em 98 países (Alvar et al., 2012) e estima-se que mais de 12 milhões de pessoas estão infectadas (Opas, 2025). Nas Américas, cerca de 90% dos casos humanos são procedentes do Brasil (Brasil, 2014; Costa, 2014).

Considerando o cão um sentinela da leishmaniose, é importante a identificação de animais infectados, que podem ser assintomáticos ou apresentar sinais clínicos variados, com evolução aguda ou crônica (Morales-Yuste et al., 2022). Os principais sinais clínicos desenvolvidos por cães com leishmaniose estão relacionados às dermatopatias (dermatite esfoliativa sem prurido, com ou sem alopecia, dermatite ulcerativa, modular e/ou papular, onicogribose), oftalmopatias (blefarites, conjuntivite, uveíte e endoftalmite), emagrecimento progressivo, letargia, linfadenopatia e hepatoesplenomegalia (Brasileish, 2018; Figueiredo; Madeira,

2014). Alguns animais podem apresentar epistaxe, claudicação (por poliartrite, osteomielite, polimiosite), vasculopatias (vasculite sistêmica e tromboembolismo) e neuropatias (Leishvet, 2018; Ribeiro, 2016).

Neospora caninum e *Toxoplasma gondii* são protozoários coccídios intracelulares obrigatórios, formadores de cistos teciduais e apresentam distribuição mundial (Dubey et al., 2002). São descritos como hospedeiros intermediários animais endotérmicos de diversas espécies, enquanto os hospedeiros definitivos são canídeos e felídeos, respectivamente. Destaca-se que os canídeos também podem atuar como hospedeiros intermediários de ambos os agentes. Com relação à infecção por *Neospora caninum*, este protozoário realiza reprodução sexuada no epitélio intestinal de cães domésticos e alguns canídeos silvestres, com eliminação de milhares de oocistos nas fezes, contaminando o ambiente (Dubey et al., 2011; Gondim et al., 2004; King et al., 2010).

A transmissão de *T. gondii* e *N. caninum* para os hospedeiros suscetíveis (intermediários e definitivos) pode ocorrer por via horizontal, pela ingestão de água ou alimentos contaminados por oocistos esporulados ou pela ingestão de tecidos com cistos contendo bradizoítos, sendo esta a principal forma de infecção em carnívoros. Outra possibilidade é a via vertical por transmissão transplacentária, quando taquizoítos são transferidos da gestante infectada para o feto. Na neosporose, esta é a principal forma de infecção em ruminantes, especialmente bovinos, desempenhando um papel importante na manutenção e na propagação do agente nos rebanhos (Davison et al., 1999; Dubey et al., 2007).

Os hospedeiros intermediários podem apresentar-se assintomáticos, no entanto, neosporose e toxoplasmose podem causar sinais clínicos respiratórios, gastrointestinais, neurológicos e musculares (Mineo et al., 2001) e, em alguns casos, alterações dermatológicas e hepática (Didiano et al., 2020; Webb et al., 2005). Além disso, cães acometidos por neosporose podem ter morte súbita por miocardite severa, sem o envolvimento de outros tecidos (Dubey et al., 2017). Já distúrbios oftálmicos, como conjuntivite necrosante, uveíte e coriorretinite foram descritos em cães com toxoplasmose e neosporose (Swingera et al., 2009; Wolfer et al., 1996), entretanto, estas enfermidades comumente estão associadas a quadros de imunocomprometimento e coinfeções (Calero-Bernal; Gennari, 2019).

É importante destacar que *Toxoplasma gondii* apresenta potencial zoonótico, com a prevalência podendo chegar a 90% nos humanos (Flegr et al, 2014). O Brasil

apresenta alta incidência, com 35% dos surtos relatados para toxoplasmose. (Dubey, 2021; Pinto-Ferreira et al, 2019).

Os sinais clínicos das doenças parasitárias refletem as interações do agente com a resposta imunológica do hospedeiro (Pearson, 1993). As coinfeções podem predispor ao imunocomprometimento e animais coinfectados com múltiplos agentes são mais propensos a apresentar alta parasitemia, o que facilita a transmissão vetorial de *L. infantum* e a permanência da doença (Deiró et al., 2018). A associação de infecções por *Leishmania* spp. e outros protozoários em cães já foi descrita no Brasil (Coelho et al., 2013; Gama-Melo et al., 2019; Morgado et al., 2016; Savani et al., 2005) e no mundo (Cringoli et al., 2002; Domenico et al., 2019; Jiang et al., 2016; Medkour et al., 2020; Sharifdini et al., 2011). No Brasil, a coinfeções em cães por *Leishmania* spp., *N. caninum* e/ou *T. gondii* foram confirmadas nos estados da Bahia (Deiró et al., 2018), Piauí (Lopes et al., 2011), Mato Grosso do Sul (Andreotti et al., 2002) e São Paulo (Coelho et al., 2013; Gennari et al., 2006; Seabra et al., 2015).

O diagnóstico dessas infecções indica a circulação desses protozoários na população e região estudadas e, no caso de leishmaniose, a identificação de cães infectados tem precedido os casos humanos nos municípios, permitindo que os animais atuem como sentinelas da infecção (Costa et al., 2018). Diante disso, objetivou-se determinar a presença de anticorpos anti-*N. caninum* e anti-*T. gondii* em cães naturalmente infectados por *L. infantum* com quadros clínicos distintos (assintomáticos e sintomáticos), provenientes do estado de Pernambuco, Brasil. Os animais infectados com *L. infantum* foram classificados de acordo com os sinais clínicos apresentados e as taxas de coinfeção por *N. caninum* e *T. gondii* foram comparadas.

Material e Métodos

Amostras biológicas

Foram utilizadas 136 amostras de soro de cães naturalmente infectados por *L. infantum*, provenientes do banco de soros do Laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Esses animais foram anteriormente atendidos no Ambulatório de Leishmaniose Canina do Hospital Veterinário (HOVET-UFRPE) e

tinham diagnóstico parasitológico positivo (observação de formas amastigotas em aspirado de medula óssea ou linfonodo) para a infecção por *L. infantum*. Todos os soros selecionados foram provenientes de animais domiciliados, de raça, sexo e idade variados, e que ainda não tinham sido submetidos ao tratamento para LV.

Com relação aos aspectos éticos, conforme parecer da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), para este estudo a licença CEUA é dispensada, visto que não houve manipulação de animais, sendo realizada análise de amostras oriundas de banco de soros.

Análise sorológica

As amostras de soro foram submetidas à Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para pesquisa de anticorpos IgG anti-*N. caninum* e anti-*T.gondii*, de acordo com o protocolo descrito por Dubey et al. (1988) e Camargo (1964), com pontos de corte 1:50 e 1:16, respectivamente. Para sensibilização das lâminas, foram utilizados como antígeno taquizoítos da cepa NcSp7 de *N. caninum* e da cepa ME-49 de *T. gondii*, obtidos por meio de cultura em células MA-104 (ATCC® CRL-2378.1) e purificados através de filtração em coluna PD10 (Shepadex). Foram utilizados controles positivos e negativos em todas as reações.

Classificação dos sinais clínicos para leishmaniose e análise de dados

Foram avaliados dados de registro da amostra, como idade, sexo, raça e procedência (município) do animal. De acordo com o registro do atendimento disponível no banco de dados do Ambulatório de Leishmaniose Canina, os animais foram classificados considerando os sinais clínicos apresentados em: assintomáticos – animais aparentemente saudáveis, sem sinais clínicos sugestivos de leishmaniose; oligossintomáticos – animais que apresentam aumento de linfonodos (poplíteos ou submandibulares), discreta perda de peso e/ou pelo opaco; sintomáticos – animais que apresentam sinais clínicos sugestivos de leishmaniose, como alterações cutâneas (dermatite esfoliante, papular, alopecia e/ou úlceras), alterações oftálmicas (uveíte, ceratoconjuntivite e/ou hifema), linfadenomegalia, onicogrifose, caquexia, conforme descrito por Mancianti et al. (1988) e Megid et al. (2016).

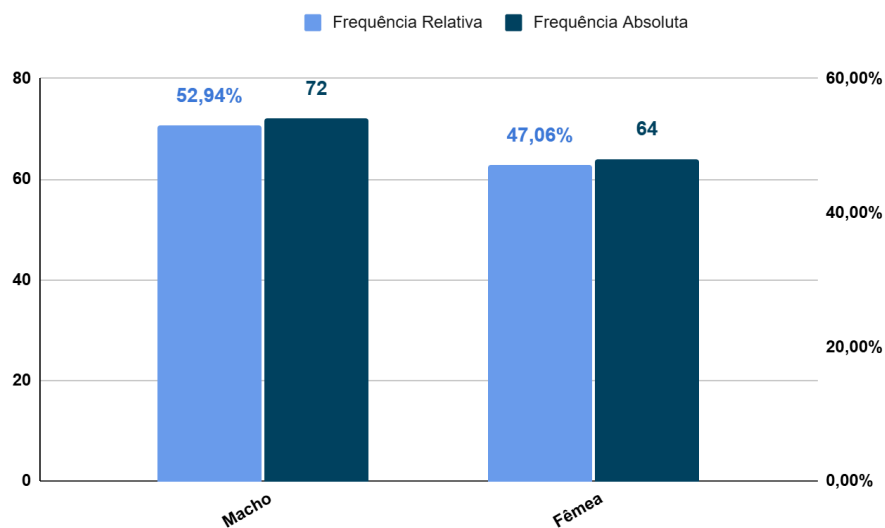
Os resultados obtidos foram analisados utilizando-se análise descritiva para cálculo de frequências absoluta e relativa (Sampaio, 2002). Associações entre as coinfeções e as variáveis analisadas serão avaliadas pelo Teste Exato de Fisher (p

$\leq 0,05$). A comparação entre a presença infecção por *N. caninum*, *T. gondii* e a classificação dos sinais clínicos sugestivos de leishmaniose (assintomáticos, oligossintomáticos e sintomáticos) foi realizada pelo teste exato de Fisher.

Resultados e Discussão

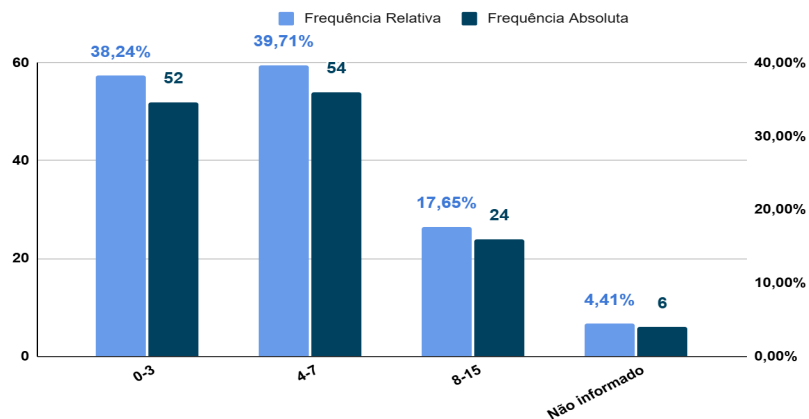
Em total, foram analisadas 136 amostras, sendo 72 (52,94%) de machos e 64 (47,06%) de fêmeas (Gráfico 1). Sobre a idade dos cães, 52 (38,24%) tinham de 0-3 anos, 54 (39,71%) de 4-7 anos, 24 (17,65%) de 8-15 anos e seis (4,41%) com idade não informada (Gráfico 2).

Gráfico 1. Características dos animais positivos para *Leishmania infantum* avaliados no estudo de acordo com o sexo.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

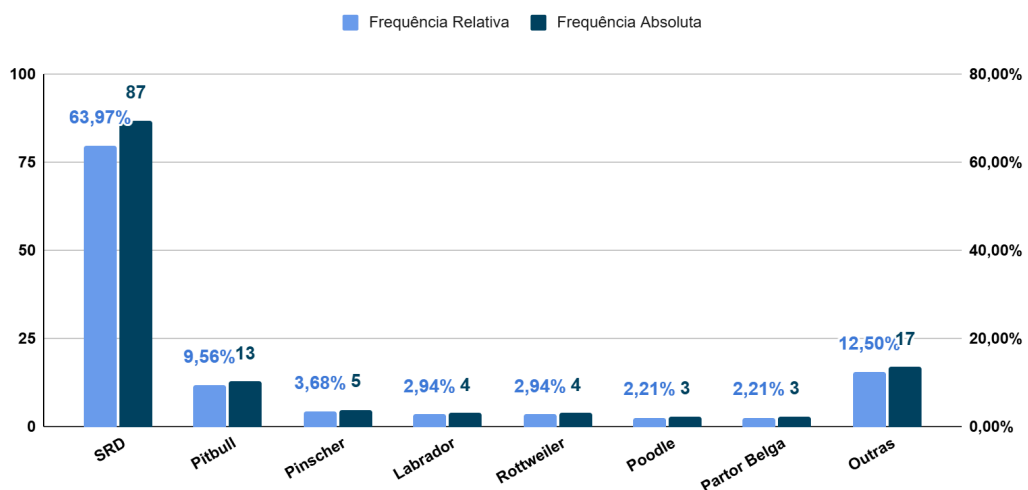
Gráfico 2. Faixa etária dos animais positivos para *Leishmania infantum* avaliados no estudo.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Entre os 136 animais, 87 (63,97%) eram sem raça definida (SRD) e 49 (36,03%) tinham raça definida, conforme o gráfico 3. Apesar da prevalência elevada de cães SRD positivos para leishmaniose, não há relatado na literatura predisposição associada a essa característica. Possivelmente, esse dado reflete o perfil dos pacientes atendidos no HOVET-UFRPE.

Gráfico 3. Características dos animais positivos para *Leishmania infantum* avaliados no estudo de acordo com a raça (SRD: sem raça definida).

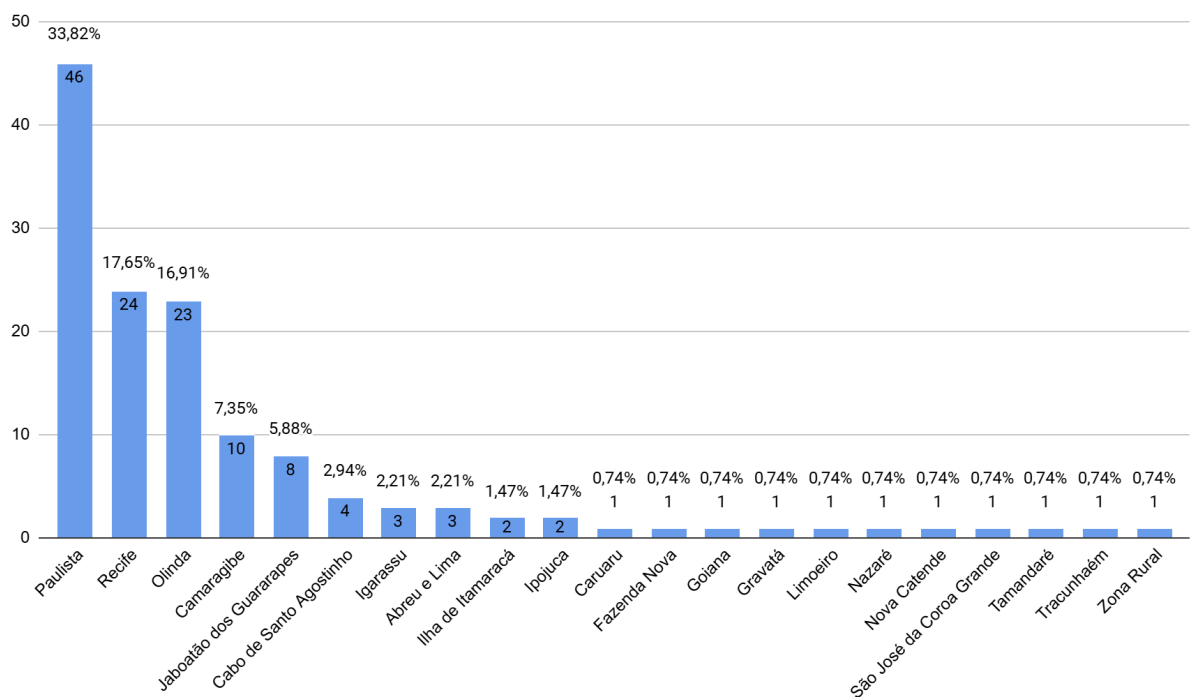


Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A maioria dos animais eram residentes do município de Paulista (46; 33,82%), seguido por Recife (24; 17,65%) e Olinda (23; 16,91%) (Figura 4). A frequência elevada de animais infectados por *L. infantum* em Paulista e Olinda pode ser

explicada por se tratarem de áreas endêmicas para leishmaniose. A cidade do Recife não é considerada endêmica para LV, estando a presença de cães positivos associada, provavelmente, à migração de animais de áreas endêmicas para a cidade ou dos animais residentes para os municípios endêmicos, além da possibilidade de transmissão transplacentária, sexual ou iatrogênica (Soares et al., 2022). Os demais municípios podem ser observados no gráfico 4.

Gráfico 4. Procedência dos animais positivos para *Leishmania infantum* avaliados no estudo de acordo com o município de residência.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Das 136 amostras, 42 (30,88%) foram reagentes para anticorpos IgG anti-*T. gondii*, 28 (20,59%) foram reagentes para anticorpos IgG anti-*N. caninum* e 24 (17,65%) foram reagentes para ambos os agentes, indicando uma significativa frequência de coinfeção.

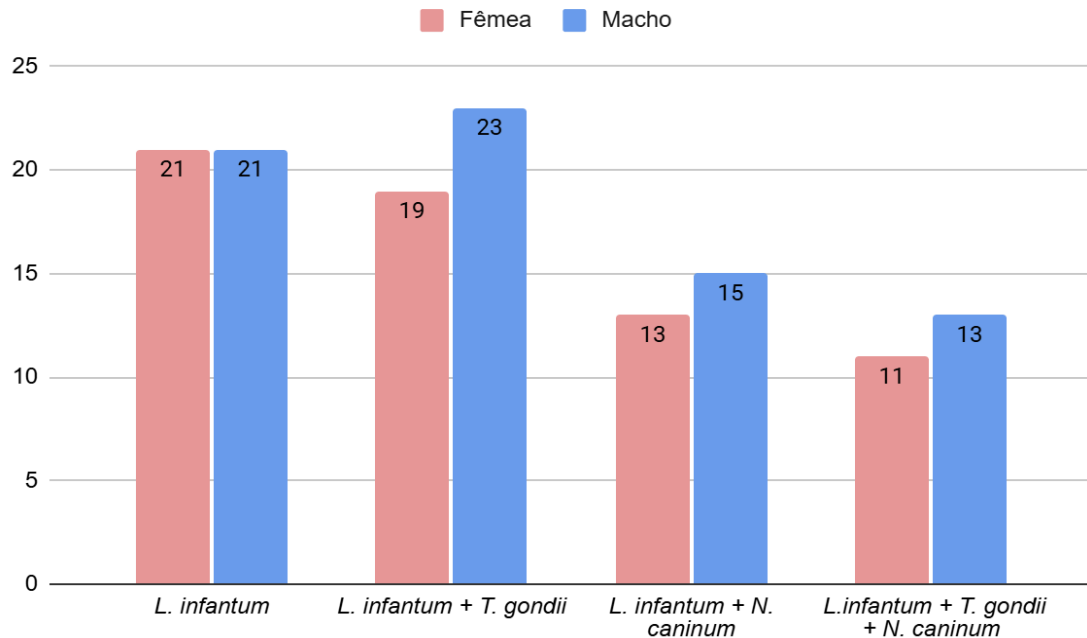
Estudos utilizando técnicas distintas, que também investigaram a coinfeção por *Leishmania infantum*, *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em cães de diferentes regiões do Brasil, reportaram frequências variadas. Gennari et al. (2006) encontraram uma taxa de coinfeção por *L. infantum* e *N. caninum* de 32,6% (32/98) e uma coinfeção entre *L. infantum* e *T. gondii* de 40,8% (40/98) em cães da região

de Araçatuba, estado de São Paulo. Lopes et al. (2011) relataram a presença de coinfeção no estado do Piauí, onde 3,2% (17/530) das amostras de cães foram positivas para IgG anti-*N. caninum* e 18,0% (100/530) para IgG anti-*T. gondii*, sendo todas soropositivas para anticorpos anti-*Leishmania* sp. Em um estudo subsequente, esses autores encontraram uma taxa de coinfeção com *N. caninum* de 2,5% (3/120) e *T. gondii* 19,17% (23/120) em cães positivos para *L. infantum*.

Outros estudos, utilizando metodologias distintas, determinaram a prevalência da infecção por *T. gondii* e por *N. caninum* em cães de diferentes regiões do Brasil: 3,3% (2/60) para *N. caninum* e 25% (15/60) para *T. gondii* na Região Metropolitana de Belo Horizonte, Minas Gerais (Ribeiro et al., 2011); 7,69% (3/39) para *Neospora* e 12,82% (5/39) para *Toxoplasma* em Andradina (Coelho et al., 2013) município no estado de São Paulo; 7,5% (4/53) para *N. caninum* e 15,1% (8/53) para *T. gondii* em cães da região central do Rio Grande do Sul (Ratzlaff et al., 2018).

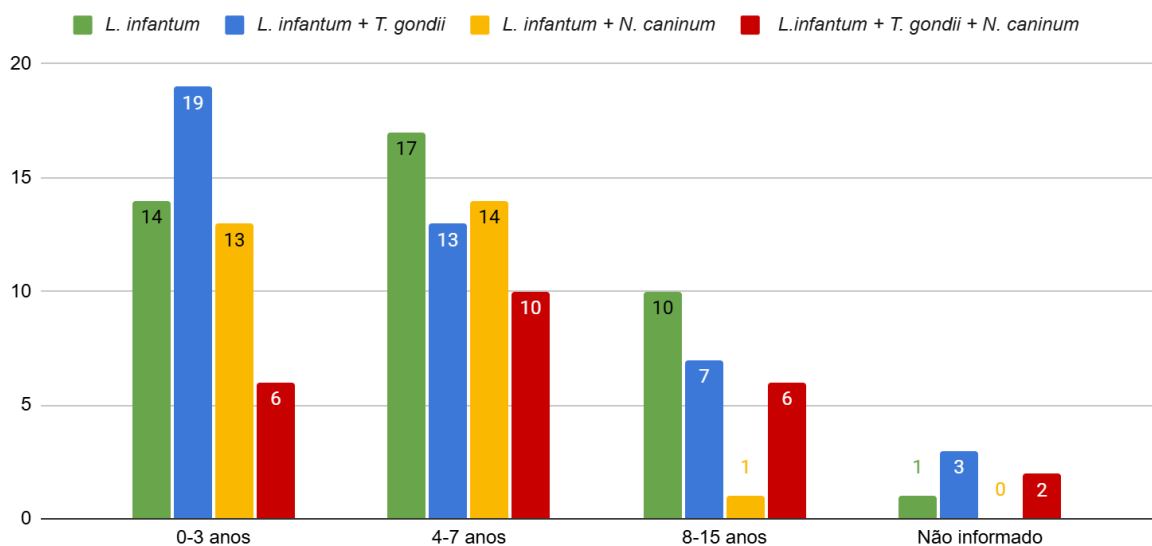
Das 136 amostras, 94 foram reagentes para *N. caninum* ou *T. gondii*. No que concerne à infecção por *N. caninum*, 15 (53,57%) eram cães machos, 14 (50%) tinham entre 4 e 7 anos de idade e 18 (64,28%) eram SRD. Para *T. gondii*, 19 (54,76%) eram cães machos, 19 (45,24%) tinham entre 0 e 3 anos de idade e 27 (64,28%) eram SRD. Com relação aos animais reagentes simultaneamente para ambas as infecções, 13 (54,17%) eram cães machos, 10 (41,67%) tinham entre 4 e 7 anos de idade e 17 (70,83%) eram cães SRD. O alto número de cães SRD com anticorpos IgG anti-*N. caninum* pode estar relacionado ao grande número de animais SRD atendidos no HOVET-UFRPE, visto que não é relatado na literatura predisposição racial para a infecção. As informações detalhadas sobre sexo, idade e raça, por coinfeções dos pacientes estão expostas nos gráficos 5, 6 e 7 respectivamente.

Gráfico 5. Distribuição dos animais positivos para *Leishmania infantum* e coinfectados por *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* avaliados no estudo de acordo com o sexo.



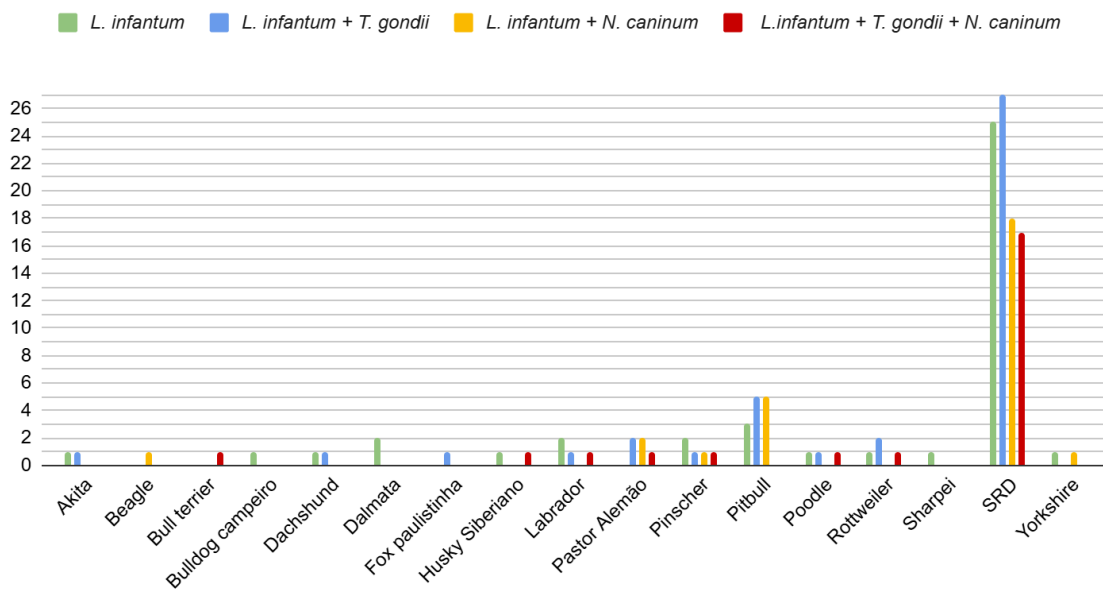
Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Gráfico 6. Faixa etária dos animais positivos para *Leishmania infantum* e coinfectados por *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* avaliados no estudo.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

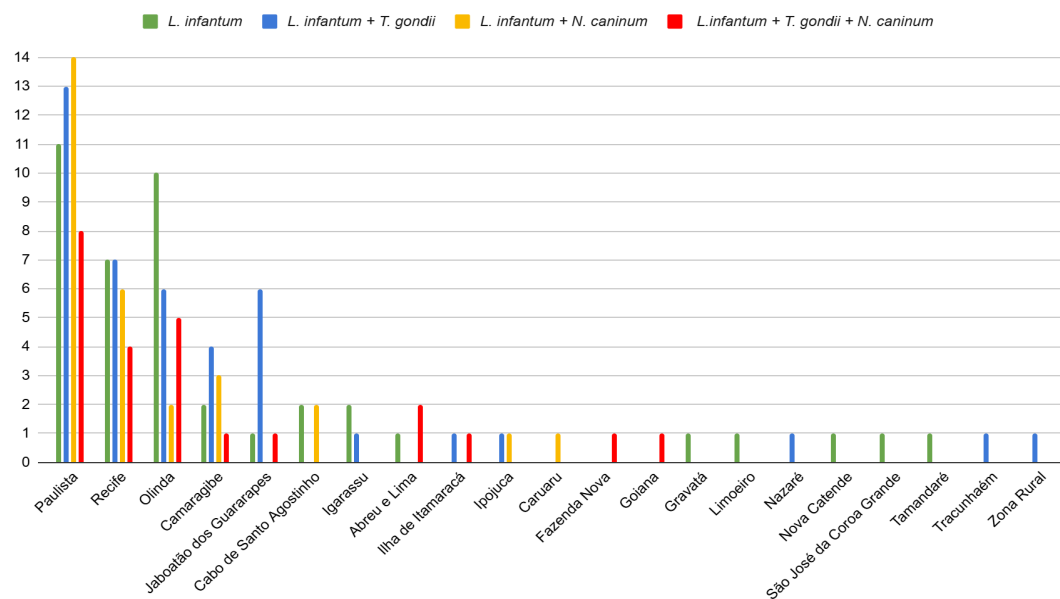
Gráfico 7. Distribuição dos animais positivos para *Leishmania infantum* e coinfectados por *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* avaliados no estudo de acordo com a raça (SRD: Sem Raça Definida).



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

A prevalência de cães soropositivos na cidade de Paulista foi de 30,43% (14/46) para *N. caninum*, 28,26% (13/46) para *T. gondii* e 17,39% (8/46) para *N. caninum* e *T. gondii*, simultaneamente. Em um estudo anterior realizado por Figueiredo et al. (2008), foram analisadas 289 amostras de soro de cães de Paulista, utilizando pontos de corte de 1:50 e 1:64, para *N. caninum* e *T. gondii*, respectivamente. Desse modo, foi observado que 25,95% (75/289) das amostras foram reagentes para anticorpos anti-*N. caninum*. Das 75 amostras reagentes, 74 foram testadas para *T. gondii* e foi observada taxa de coinfecção de 56,8% (42/74), confirmando a circulação de *N. caninum* e *T. gondii* na região após 15 anos. Além disso, a cidade do Recife também apresentou frequência significativa, com 25% (6/24) cães reagentes para *N. caninum*, 29,17% (7/24) para *T. gondii* e 16,67% (4/24) para *N. caninum* e *T. gondii*. Os detalhes sobre a distribuição dos animais sororreagentes para *N. caninum* e *T. gondii* de acordo com município de residência estão disponíveis no gráfico 8.

Gráfico 8. Procedência dos animais positivos para *Leishmania infantum* e coinfectados por *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* avaliados no estudo de acordo com o município de residência.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

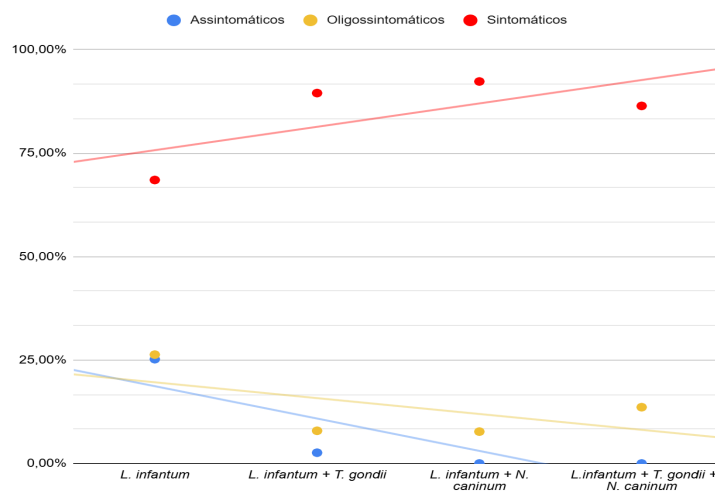
A apresentação clínica da leishmaniose canina (LCan) pode variar de doença subclínica, linfadenopatia e lesões dermatológicas até doença renal crônica avançada (Solano-Gallego et al., 2011). A progressão da doença varia entre os cães e os fatores que contribuem para essa progressão ainda são pouco compreendidos (Beasley et al., 2021). Muitos estudos indicam uma maior probabilidade de coinfeção com outras doenças infecciosas quando um cão é diagnosticado com LCan (Attipa et al., 2017; 2018; Baxarias et al., 2018; Toepp et al., 2019), visto que tais coinfeções podem favorecer o aparecimento de sinais clínicos ou mesmo acelerar a progressão da doença.

Dos 136 cães analisados, 12 não apresentavam sinais clínicos registrados no sistema. Assim, para a classificação dos sinais clínicos, conforme descrito por Mancianti et al. (1988) e Megid et al. (2016), 83,06% (103/124) dos animais eram sintomáticos, 14,51% (18/124) eram oligossintomáticos e 2,42% (3/124) eram assintomáticos.

Ao avaliar separadamente os grupos de animais com diferentes condições, foi identificado que, entre aqueles diagnosticados apenas com a infecção por *L. infantum*, 68,42% (26/38) eram sintomáticos, 26,31% (10/38) eram oligossintomáticos e 5,26% (2/38) eram assintomáticos. Entre os coinfectados por *L. infantum* e *T. gondii*, 89,47% (34/38) eram sintomáticos, 7,89% (3/38) eram oligossintomáticos e 2,63% (1/38) eram assintomáticos. Nos animais coinfectados

por *L. infantum* e *N. caninum*, 92,31% (24/26) eram sintomáticos e 7,69% (2/26) eram oligossintomáticos. Já no grupo com coinfeção pelos três protozoários, 86,36% (19/22) eram sintomáticos e 13,64% (3/22) eram oligossintomáticos. Os dados referentes à distribuição dos sinais clínicos nas coinfeções estudadas, apresentando as linhas de tendência, podem ser observados no gráfico 9.

Gráfico 9. Distribuição percentual de cães sintomáticos, oligossintomáticos e assintomáticos positivos para *Leishmania infantum* e coinfectados com *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* avaliados no estudo.



Fonte: Elaborado pelo autor (2025).

Com base na análise do gráfico de distribuição de manifestações clínicas, os dados sugerem uma tendência de aumento na proporção de animais sintomáticos conforme se acrescentam coinfeções. Paralelamente, notou-se uma redução progressiva nas proporções de animais assintomáticos e oligossintomáticos, sugerindo que a presença de coinfeções pode estar associada a uma maior predisposição ao desenvolvimento de manifestações clínicas.

A análise estatística realizada por meio do teste exato de Fisher, com um valor de significância considerado inferior a 0,05, não demonstrou associação significativa entre a presença de coinfeções por *L. infantum*, *T. gondii* e *N. caninum* e a expressão de sinais clínicos nos cães avaliados. O valor de p foi de 0,369 e 0,206, para *T. gondii* e *N. caninum* indicando que a ocorrência de coinfeções não esteve estatisticamente relacionada à gravidade dos sinais clínicos na amostra estudada. Esses achados sugerem que outros fatores podem influenciar as

manifestações clínicas nesses animais, reforçando a necessidade de investigar outros aspectos das interações entre o ambiente, os cães e seu estado imunológico.

Visto que esses protozoários coccídios formam cistos teciduais e podem ficar de forma latente em tecidos por anos e que a infecção por *L. infantum* pode causar supressão de células T, alerta-se para a possibilidade de reativação da infecção por *N. caninum* durante estágios avançados da LCan, como sugerido também para a infecção por *T. gondii* (Beasley et al., 2021). A reativação pode agravar o quadro clínico dos cães, intensificando manifestações clínicas, como sinais neurológicos, oftálmicos e articulares. Além disso, sabe-se que respostas imunológicas alteradas ou defeituosas promovidas por coinfeções subsequentes podem facilitar a progressão da LCan. Essas coinfeções podem resultar em interações sinérgicas que podem, conseqüentemente, impactar o diagnóstico da infecção por *L. infantum*, a gravidade da doença e o tratamento (Toepp et al., 2019; 2020). Portanto, compreender as interações entre *L. infantum* e outros patógenos pode ajudar no desenvolvimento de melhores estratégias de prevenção, diagnóstico e tratamento.

Conclusão

A detecção de anticorpos anti-*T. gondii* e anti-*N. caninum* nos animais estudados indica a circulação do agente na região e na população estudada. A partir da avaliação dos sinais clínicos nos diferentes grupos, observou-se uma tendência ligeiramente maior da ocorrência de sinais clínicos mais severos em animais coinfectados. Apesar disso, as análises estatísticas sugerem que mesmo havendo diferença na proporção de animais sintomáticos entre os grupos, a ocorrência de sinais clínicos pode não estar associada diretamente às coinfeções estudadas. Desse modo, são necessários estudos sobre a modulação da resposta imunológica em casos de coinfeções e sua influência nos quadros clínicos das enfermidades parasitárias.

3. Considerações Finais

O estágio supervisionado realizado no Laboratório Clínico Veterinário da Universidade Estadual Paulista foi uma experiência fundamental para formação acadêmica e profissional. Durante o período de estágio, foi possível aplicar os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do curso de Medicina Veterinária em situações práticas, desenvolvendo habilidades essenciais para a atuação na área. A oportunidade de acompanhar a realização de exames laboratoriais e a interação com profissionais experientes contribuíram significativamente para o aprendizado.

O artigo intitulado "Estudo da coinfeção por *Leishmania infantum*, *Neospora caninum* e *Toxoplasma gondii* em cães do estado de Pernambuco" destaca a relevância da pesquisa sobre coinfeções parasitárias em cães, especialmente em uma região onde essas doenças são prevalentes. Os resultados obtidos evidenciam a necessidade de um monitoramento contínuo e de estratégias de controle e prevenção mais eficazes para a saúde animal e pública. A pesquisa não apenas contribui para o entendimento da epidemiologia das infecções parasitárias, mas também ressalta a importância do diagnóstico e de um manejo adequado para melhorar a qualidade de vida dos animais.

REFERÊNCIAS

- ALVAR, J.; VÉLEZ, I. D.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; CANO, J. et al. Leishmaniosis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One*, v. 7, n. 5, e35671, 2012.
- ANDREOTTI, R.; OLIVEIRA, J.M.; SILVA, E.A.; OSHIRO, L. M.; MATOS, M. F. Occurrence of *Neospora caninum* in dogs and its correlation with visceral leishmaniasis in the urban area of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. *Vet. Parasitol.*, v. 135, p. 375-379, 2006.
- Attipa, C.; Hicks, C.A.E.; Barker, E.N.; Christodoulou, V.; Neofytou, K.; Mylonakis, M.E.; Siarkou, V.I.; Vingopoulou, E.I.; Soutter, F.; Chochlakis, D.; et al. Canine Tick-Borne Pathogens in Cyprus and a Unique Canine Case of Multiple Co-Infections. *Ticks Tick-Borne Dis.*, v. 8, p. 341–346, 2017.
- Baxarias, M.; Álvarez-Fernández, A.; Martínez-Orellana, P.; Montserrat-Sangrà, S.; Ordeix, L.; Rojas, A.; Nachum-Biala, Y.; Baneth, G.; Solano-Gallego, L. Does Co-Infection with Vector-Borne Pathogens Play a Role in Clinical Canine Leishmaniosis? *Parasites Vectors*, v. 11, n. 135, 2018.
- BRASIL. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
- BRASILEISH. Diretrizes para o diagnóstico, estadiamento, tratamento e prevenção da Leishmaniose Canina. 2018. Disponível em: <https://www.brasileish.com.br/revistadiretriz.html>. Acesso em: 14 Jun 2022.
- CALERO-BERNAL, R.; GENNARI, S.M. Clinical toxoplasmosis in dogs and cats: An update. *Front. Vet. Sci. B.* v. 6, n. 54, p. 1-9, 2019.
- CAMARGO, M.E. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, v. 6, p. 117-118, 1964.
- CARLSON, G.P. Testes bioquímicos. In: SMITH, B.P. *Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais*. 1. ed. São Paulo: Manole, 1993. Cap. 22, p.395 – 423.
- CENTER, S.A. (2004). Fluid accumulation disorders. In Willard, M.D and Tvedten, H, *SmallAnimal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*. (4ª ed.) (247-261). USA: WB .Saunders Company.
- COELHO, W.M.D.; COELHO, A.; TEIXEIRA, W.F.P. et al. Detection of co-infections by *Leishmania (L.) chagasi*, *Trypanosoma evansi*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs. *Ars Vet.*, v.29, n. 3, p.169-174, 2013.
- COSTA, K. F. L. et al. Awareness of visceral leishmaniasis and its relationship to canine infection in riverside endemic areas in Northeastern Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v.47, p.607-6012, 2014.

COSTA, D. N. C. C. et al. Leishmaniose visceral em humanos e relação com medidas de controle vetorial e canino. Rev. Saúde Públ., v. 52, p. 92, 2018.

CRINGOLI, G.; RINALDI, L.; CAPUANO, F.; BALDI, L.; VENEZIANO, V.; CAPELLI, G. Serological survey of *Neospora caninum* and *Leishmania infantum* co-infection in dogs. Vet. Parasitol., v.106, n.4, p.307-313, 2002.

DAVISON, H.C.; OTTER, A.; TREES, A.J. Estimation of vertical and horizontal transmission parameters of *Neospora caninum* infections in dairy cattle. Int. J. Parasitol., v. 29, p. 1683–1689, 1999.

DEIRÓ, A. G. J.; MONTARGIL, S. M. A.; CARVALHO, F. S.; MUNHOZ, A. D.; ALBUQUERQUE, G. R. Antibody occurrence of *Anti-Toxoplasma gondii*, *Leishmania* sp. and *Ehrlichia canis* in dogs in Bahia State. Semina: Ciênc. Agrár., v. 39, n. 1, p. 199-210, 2018.

DIDIANO, A.; MONTI, P.; TAEYMANS, O.; CHERUBIN, G. B. Canine central nervous system neosporosis: clinical, laboratory and diagnostic imaging findings in six dogs. Vet. Rec. Case Rep., v. 8, n. e000905, 2020.

DUBEY, J. P.; CARPENTER, J. L.; SPEER, C. A.; TOPPER, M. J.; UGGLA, A. Newly recognized fatal protozoan disease of dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc., v. 192, p. 1269-1285, 1988.

DUBEY, J. P.; BARR, B. C.; BARTA, J. R.; BJERKÅS, I.; BJÖRKMAN, C.; BLAGBURN, B.L., et al. Redescription of *Neospora caninum* and its differentiation from related coccidia. Int. J. Parasitol., v. 32, n. 8, p. 929-946, 2002.

DUBEY, J.P.; SCHARES, G.; ORTEGA-MORA, L.M. Epidemiology and control of neosporosis and *Neospora caninum*. Clin. Microb. Rev., v. 20, p. 323-367, 2007.

DUBEY, J. P. Toxoplasmosis of animals and humans. Boca Raton: CRC Press, 2nd ed, 2010.

DUBEY, J.P.; JENKINS, M.C.; RAJENDRAN, C., et al. Gray wolf (*Canis lupus*) is a natural definitive host for *Neospora caninum*. Vet. Parasitol., v. 181, p. 382-387, 2011.

DUBEY, J.P.; HEMPHILL, A.; CALERO-BERNAL, R.; SCHARES, G. Neosporosis in Animals. 1st Ed. Boca Raton: CRC Press, 2017. 548 p.

Dubey JP. Outbreaks of clinical toxoplasmosis in humans: five decades of personal experience, perspectives and lessons learned. Parasit Vectors. 2021;14:263.

ESCH, K. J.; PETERSEN, C. A. Transmission and epidemiology of zoonotic protozoal diseases of companion animals. Clin Microbiol Rev., v. 26, n. 1, p. 58-85, 2015.

FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. Schalm's Veterinary Hematology. 5. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000.

FIGUEIREDO, F. B.; MADEIRA, M. F.; MADUREIRA, E. H.; LEAL, D. C.; PINHEIRO, A. M. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Pernambuco, Northeast Brazil. *Veterinary Parasitology*, v. 157, n. 3-4, p. 199-203, 2008. DOI: 10.1016/j.vetpar.2008.06.011.

Flegr J, Prandota J, Sovičková M, Israili ZH. Toxoplasmosis—a global threat. Correlation of latent toxoplasmosis with specific disease burden in a set of 88 countries. *PLoS ONE*. 2014;9:e90203.

GAMA-MELO, M. O.; SILVESTRE, B. T.; SILVEIRA, J. A. G.; VAZ, T. P.; BARBOSA, J. R.; RIBEIRO, M. F. B.; FONTES, G. Evaluation of canine leishmaniasis and concomitant seropositivity for *Babesia canis* and *rickettsia* in a nonendemic area in the central west region of Minas Gerais. *Braz. J. Vet. Med.*, v. 41, n. e101819, 2019.

GENNARI, S. M.; CAÑON-FRANCO, W. A.; FEITOSA, M. M.; IKEDA, F. A.; LIMA, V. M. F.; AMAKU, M. Presence of anti- *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs with visceral leishmaniasis from the region of Araçatuba, São Paulo, Brazil. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, v.43, n.5, p.613-619, 2006.

GONDIM, L. F. P.; MCALLISTER, M. M.; PITT, W. C., et al. Coyotes (*Canis latrans*) are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, v. 34, p. 159-161, 2004.

HIRSCHMANN, L.C.; BROD, C.S.; RADIN, J. et al. Leishmaniose visceral canina: comparação de métodos sorológicos em cães de área indene do Rio Grande do Sul no Brasil. *Rev. Patol. Trop.*, v.44, p.33-44, 2015.

JIANG, W. et al. Seroepidemiological study of canine *Leishmania infantum* and *Toxoplasma gondii* infections in Shanghai, China, and analysis of risk factors. *An. Agric. Environ. Med.*, v. 23, n. 3, p. 420-424, 2016.

KING, J. S.; ŠLAPETA, J.; JENKINS, D.J., et al. Australian dingoes are definitive hosts of *Neospora caninum*. *Int. J. Parasitol.*, v. 40, p.945-950, 2010.

LEISH VET. Leishmaniose Canina e Felina – Informação concisa para o médico veterinário. 4a ed., 2018. 27 p. Disponível em <https://www.leishvet.org/wp-content/uploads/2018/09/PO-Guidelines.pdf> . Acesso em: 14 Jun 2022.

LOPES, M. G. et al. Presence of antibodies against *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Leishmania infantum* in dogs from Piauí. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 20, n. 2, p. 111-114, 2011.

MEDKOURA, H. et al. Canine vector-borne protozoa: Molecular and serological investigation for *Leishmania* spp., *Trypanosoma* spp., *Babesia* spp., and *Hepatozoon* spp. in dogs from Northern Algeria. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, v. 19, n. 100353, 2020.

MINEO, T. W. P.; SILVA, D. A. O.; COSTA, G. H. N.; VON ANCKEN, A. C. B.; KASPER, L. H.; SOUZA, M.A., et al. Detection of IgG antibodies to *Neospora*

caninum and *Toxoplasma gondii* in dogs examined in a veterinary hospital from Brazil. *Vet. Parasitol.*, v. 98, n. 4, p. 239-245, 2001.

MORGADO, F. N. et al. *Hepatozoon canis* and *Leishmania* spp. coinfection in dogs diagnosed with visceral leishmaniasis. *Braz. J. Vet. Parasitol.*, v. 25, n. 4, p. 450-458, 2016.

MORALES-YUSTE, M.; MARTÍN-SÁNCHEZ, J.; CORPAS-LÓPEZ, V. Canine leishmaniasis: update on epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. *Veterinary Sciences*, v. 9, n. 8, p. 387, 2022. DOI: 10.3390/vetsci9080387. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2306-7381/9/8/387>.

NAVARRO, C. E. K., *Manual de Urinálise Veterinária*, São Paulo: Varela, pág. 89, 1996.

OPAS. Organização Pan-Americana da Saúde. Leishmaniose. 2025. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/leishmaniose>. Acesso em: 26 jan. 2025.

PEARSON, R. D. Pathology of leishmaniasis. In: Warren K.S. (Ed.), *Immunology and molecular biology of parasitic infections*. 3rd ed. Boston: Blackwell Publications, 1993. p. 71-86.

Pinto-Ferreira F, Caldart ET, Pasquali AKS, Mitsuka-Breganó R, Freire RL, Navarro IT. Patterns of transmission and sources of infection in outbreaks of human toxoplasmosis. *Emerg Infect Dis*. 2019;25:2177–82

REGUERA, R. M.; MORÁN, M.; PÉREZ-PERTEJO, Y.; GARCÍA-ESTRADA, C.; BALAÑA-FOUCE, R. Current status on prevention and treatment of canine leishmaniasis. *Vet. Parasitol.*, v. 227, p. 98-114, 2016.

SAMPAIO, I.B.M. *Estatística aplicada à experimentação animal*. Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 2002. 265p.

RIBEIRO, R. R. et al. Coinfection of *Leishmania chagasi* with *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs with visceral leishmaniasis. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 31, n. 1, p. 31-34, 2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/7nJkkg3pngKT9YQXTf9b69K/>. Acesso em: 4 jan. 2025.

SAVANI, E. S. M. M.; NUNES, V. L. B.; GALATI, E. A. B.; CASTILHO, T. M.; DE ARAUJO, F. S.; ILHA, I. M. N.; OLIVEIRA CAMARGO, M. C. G.; D'AURIA, S. R. N.; FLOETER-WINTER, L. M. Occurrence of co-infection by *Leishmania (Leishmania) chagasi* and *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* in a dog in the state of Mato Grosso do Sul, Brazil. *Mem. Inst. Osw. Cruz*, v.100, n.7, p.739-741, 2005.

SEABRA, N.M. et al. *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Leishmania* spp. serology and *Leishmania* spp. PCR in dogs from Pirassununga, SP. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, v. 24, n. 4, p. 454-458, 2015.

SHARIFDINI, M.; MOHEBALI, M.; KESHAVARZ, H.; HOSSEININEJAD, M.; HAJJARAN, H.; AKHOUNDI, B.; RAHIMI FOROUSHANI, A.; ZAREI, Z.;

CHAREHDAR, S. *Neospora caninum* and *Leishmania infantum* Co-infection in domestic dogs (*Canis familiaris*) in Meshkin-Shahr District, northwestern Iran. J. Arthropod. Borne Dis., v. 5, n. 2, p. 60-68, 2011.

SOARES, L. et al. Leishmaniose Visceral: há possibilidade de transmissão sexual e vertical entre cães? Medicina Veterinária-Recife, v. 16, n. 2, p. 104–112, 16 set. 2022.

SWINGER, R. L.; SCHMIDT, K. A. JR; DUBIELZIG, R. R. Keratoconjunctivitis associated with *Toxoplasma gondii* in a dog. Vet. Ophthalmol., v. 12, p. 56-60, 2009.

Toepp, A.J.; Monteiro, G.R.G.; Coutinho, J.F.V.; Lima, A.L.; Larson, M.;Wilson, G.; Grinnage-Pulley, T.; Bennett, C.; Mahachi, K.; Anderson, B.; et al. Comorbid Infections Induce Progression of Visceral Leishmaniasis. Parasites Vectors, v. 12, n. 54, 2019.

WEBB, J. A.; KELLER, S. L.; SOUTHORN, E. P.; ARMSTRONG, J.; ALLEN, D. G.; PEREGRINE, A. S., et al. Cutaneous manifestations of disseminated toxoplasmosis in an immunosuppressed dog. J. Am. Anim. Hosp. Assoc., v. 41, p. 198-202, 2005.

WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. Schalm's Veterinary Hematology. 6. ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2010.