



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PÓS GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

**DETECÇÃO DE *Giardia* sp. e *Cryptosporidium* sp. EM CÃES COM INFECÇÃO
NATURAL POR *Leishmania Leishmania infantum***

BEATRIZ PAZ DO NASCIMENTO SOARES

Recife – PE

2022



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PÓS GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

**DETECÇÃO DE *Giardia* sp. e *Cryptosporidium* sp. EM CÃES COM INFECÇÃO
NATURAL POR *Leishmania Leishmania infantum***

BEATRIZ PAZ DO NASCIMENTO SOARES

Dissertação apresentada ao Programa de Biotécnia Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito para a obtenção do grau de Mestre em Biotécnia Animal.

Orientador: Prof. Dr. Leucio Câmara Alves

Recife - PE

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S676d

Soares, Beatriz Paz do
DETECÇÃO DE *Giardia* sp. e *Cryptosporidium* sp. EM CÃES COM INFECÇÃO NATURAL POR
Leishmania Leishmania infantum / Beatriz Paz do Soares. - 2022.
41 f.

Orientador: Leucio Camara Alves.
Inclui referências e apêndice(s).

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em
Biotecnologia Animal, Recife, 2022.

1. Coinfecção. 2. Enteroparasitos. 3. Imunofluorescência. 4. Leishmaniose visceral canina. I. Alves,
Leucio Camara, orient. II. Título

CDD 636.089



UFRPE

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL**

**DETECÇÃO DE *Giardia* sp. e *Cryptosporidium* sp. EM CÃES COM INFECÇÃO
NATURAL POR *Leishmania Leishmania infantum***

BEATRIZ PAZ DO NASCIMENTO SOARES

BANCA EXAMINADORA:

Dr.^a Gilcia Aparecida de Carvalho
Universidade Federal do Agreste de Pernambuco - UFAPE

Dr. Carlos Adriano Santana Leal
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

Dra. Renata Pimentel Bandeira de Melo
Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, fonte de paz e amor inigualáveis, por sua presença constante em minha vida.

Aos meus pais, Regina Célia Paz do Nascimento Soares e Anísio Francisco Soares, por terem me fornecido os pilares que fundamentaram a minha construção de caráter. Pelo amor incondicional, apoio e incentivo constantes e por me inspirarem, cada um à sua maneira, a buscar a cada dia ser uma pessoa melhor.

Ao meu irmão, Vinícius, pelas conversas, debates, piadas e brincadeiras. Seu apoio é muito importante pra mim.

Aos amigos conquistados ao longo da vida, que carrego sempre no coração, pelo carinho e incentivo constantes e por se alegrarem comigo a cada conquista.

Ao professor Leucio Câmara Alves, pela paciência, por acreditar na minha capacidade e ser o pivô da minha evolução como profissional pesquisadora, pelo carinho e sensibilidade que lhe fazem tão fundamentalmente humano.

Aos amigos e colegas do Laboratório de Doenças Parasitárias, pelo companheirismo, momentos de aprendizado e experiências compartilhadas.

Ao corpo de funcionários terceirizados da Universidade Federal Rural de Pernambuco, pelas histórias compartilhadas, por cuidar tão bem de nós e do nosso espaço.

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

Obrigada!

*“Desejo que você sendo jovem não amadureça depressa demais,
E que sendo maduro não insista em rejuvenescer,
E que sendo velho não se dedique a desesperar.
Porque cada idade tem o seu prazer e a sua dor e é preciso deixar que eles
escorram dentro de nós.”*

Sérgio Jockymann

RESUMO

A leishmaniose visceral canina é uma doença crônica, sistêmica e imunomediada, com grande importância para a saúde pública. Dentre os principais sinais clínicos manifestados estão as lesões cutâneas, onicogribose, sinais oculares e linfadenopatia, podendo ocorrer ainda problemas gastrointestinais, como diarreia crônica. O objetivo deste estudo foi a detecção de *Giardia* sp. e *Cryptosporidium* sp. em cães com infecção natural por *Leishmania infantum* provenientes do Estado de Pernambuco. Para tanto, material fecal de 47 animais foi processada pela Reação de Imunofluorescência Direta. A frequência de coinfeção por *Giardia* sp. e *Cryptosporidium* sp. nas amostras analisadas foi de 12,8% (6/47) e 0% (0/47), respectivamente; sem, entretanto, associação com quadros diarreicos ou histórico de problemas gastrointestinais com exceção de um animal. A análise dos dados com relação ao sexo não revelou diferença estatisticamente significativa. Concluindo, a giardíase não aparenta ter influência no cursar da leishmaniose. Este é o primeiro estudo a relatar coinfeção por *Leishmania infantum* e *Giardia* sp. em cães no Nordeste brasileiro. Faz-se necessário o desenvolvimento de mais estudos para um melhor entendimento do perfil parasitológico dos cães naturalmente infectados por *Leishmania (L.) infantum* e a possível interação entre suas coinfeções.

Palavras-chave: Coinfeção; Enteroparasitos; Imunofluorescência; Leishmaniose visceral canina

ABSTRACT

Canine visceral leishmaniasis is a chronic, systemic and immune-mediated disease of importance to public health. The main clinical signs manifested by the disease are cutaneous lesions, onychogryphosis, ocular signs and lymphadenopathy. Gastrointestinal problems such as diarrhea may also occur. The objective of this study was to detect *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* sp. in dogs with natural infection by *Leishmania infantum* from the State of Pernambuco. Fecal samples from 47 animals were processed by Direct Immunofluorescence Reaction. The frequency of co-infection by *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* sp. was 2.8% (6/47) and 0% (0/47), respectively, without association with diarrheal conditions or history of gastrointestinal, exceptionally by one animal. Data analysis did not reveal a statistically significant difference related to sex. In conclusion, giardiasis does not appear to influence the course of leishmaniasis. This is the first study to report co-infection with *Leishmania infantum* and *Giardia* sp. in dogs in the Northeast of Brazil. It is necessary. Further studies are needed to better understand the parasitological profile of dogs naturally infected by *Leishmania (L.) infantum* and the possible interaction between their co-infections.

Keywords: Canine visceral leishmaniasis; Coinfection; *Giardia* sp.; Immunofluorescence.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 Leishmaniose visceral e leishmaniose visceral canina.....	13
2.1.1 Ciclo biológico.....	15
2.1.2 Imunopatogenia.....	16
2.1.3 Manifestações clínicas.....	17
2.1.4 Diagnóstico.....	17
2.1.5 Coinfecções.....	18
2.2 Parasitos gastrointestinais em cães.....	20
2.2.1 Patógenos gastrointestinais de cães com perfil oportunista.....	21
2.2.2 Métodos de diagnóstico de parasitos gastrointestinais em cães.....	21
3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	23
4 OBJETIVOS.....	31
4.1 Objetivo geral.....	31
4.2 Objetivos específicos.....	31

CAPÍTULO I - COINFEÇÃO POR *Giardia* sp. E *Cryptosporidium* sp. EM CÃES COM LEISHMANIOSE VISCERAL PROVENIENTES DO ESTADO DE PERNAMBUCO

RESUMO.....	33
1. INTRODUÇÃO.....	34
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	35
2.1 Aspectos éticos.....	35
2.2 Obtenção de amostras.....	35
2.3 Reação de Imunofluorescência Direta (RIFD).....	36
2.4 Análise estatística.....	36
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	36
4. CONCLUSÃO.....	38
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico da leishmaniose visceral..... 15

CAPÍTULO I

Figura 1. Aspecto microscópico de cistos de *Giardia* sp. em uma lâmina de Reação de Imunofluorescência Direta, na objetiva de 40x..... 37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CEUA - Comitê de Ética no Uso de Animais

CXCL2 – Ligante 2 da quimiocina CXC

ELISA – Ensaio de Imunoabsorção Enzimática

IFN- γ – Interferon gamma

IL-3 – Interleucina 3

IL-10 – Interleucina 10

IL-17 – Interleucina 17

LV – Leishmaniose Visceral

LVC – Leishmaniose Visceral Canina

MS – Ministério da Saúde

PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

qPCR – Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa

RIFD - Reação de Imunofluorescência Direta

Slc11a1 – Solute carrier family 11a member 1

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

Treg – Células T reguladoras

1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença sistêmica, crônica, zoonótica e potencialmente fatal, causada por protozoários do gênero *Leishmania* (MAXFIELD; CRANE, 2021).

A distribuição da LV no Brasil aumentou muito nas últimas duas décadas, se fazendo presente nas 24 unidades federativas do país. Somente no ano de 2019 foram confirmados 2.529 novos casos da doença, sendo registrado uma taxa de letalidade de 9%, a mais elevada dos últimos 10 anos. Grande parte dessas ocorrências se concentram na região Nordeste, sendo Pernambuco o quinto estado com mais casos da região (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2021).

No Brasil, o cão doméstico é o reservatório urbano de *L. (L.) infantum* (LAMATTINA et al., 2019) e o surgimento da leishmaniose visceral canina (LVC) precede a infecção do homem em áreas não endêmicas (BORGES et al., 2014).

Na literatura, há relatos de coinfeção de *L. (L.) infantum* com patógenos como *Anaplasma* sp., *Ehrlichia canis*, *Mycoplasma haemocanis*, *Rickettsia coronii* (ATTIPA et al., 2018; BAXARIAS et al., 2018), *Babesia* sp., *Hepatozoon* sp., *Toxoplasma gondii* (ATTIPA et al., 2018; BAXARIAS et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2017), *Dirofilaria immitis* (MAIA et al., 2016), *Demodex* sp. (MOZOS et al., 1999), entre outros.

Entretanto, poucos estudos investigaram a coinfeção entre *L. (L.) infantum* e parasitos gastrointestinais (ANDREOTTI et al., 2006; SALDANHA-ELIAS et al., 2019). Sauda et al. (2018) ressaltam a relevância das infecções por estes parasitos, particularmente aquelas com potencial zoonótico, dando destaque à importância de se promover a vigilância parasitológica, intervenções preventivas e tratamento destes patógenos para que seja possível melhorar a saúde e bem-estar animal, assim como reduzir os riscos de transmissão dessas doenças para humanos.

Por outro lado, *Cryptosporidium* spp., *Cystoisospora* spp., *Giardia duodenalis* e *Strongyloides stercoralis* (CERVONE et al., 2019; MONTES; SAWHNEY; BARROS, 2010), podem apresentar perfil oportunista, agravando o quadro clínico apresentado por doenças primárias e comprometendo ainda mais a qualidade de vida dos animais.

Da mesma forma, alguns helmintos como *Ancylostoma caninum*, *Toxocara canis*, *Dipylidium caninum* e *Trichuris vulpis* (KLIMPEL et al., 2010; KOHANSAL et al., 2017a; OSTERMANN, 2008), apresentam potencial zoonótico e são muito comuns

em cães, o que aumenta o risco de infecção humana devido à coabitação no meio urbano.

Neste contexto, este estudo teve como objetivo a detecção de *Giardia* sp. e *Cryptosporidium* sp. em cães com infecção natural por *Leishmania infantum*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Leishmaniose visceral e leishmaniose visceral canina

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença sistêmica de caráter crônico e potencialmente fatal quando não tratada, causada principalmente pelas espécies *Leishmania donovani* (velho mundo) e *Leishmania (Leishmania) infantum* (novo e velho mundo) (MAXFIELD; CRANE, 2021), havendo relatos de *Leishmania major* (KARAMIAN et al., 2007) e *Leishmania tropica* (ALBORZI; RASOULI; SHAMSIZADEH, 2006) sendo causadoras eventuais da doença no velho mundo. Os agentes causadores de LV são transmitidos por vetores flebotomíneos do gênero *Phlebotomus* (velho mundo) e *Lutzomyia* (novo mundo), acometendo caninos, felinos, animais silvestres e o homem e assumindo um importante papel para a saúde pública (GRIENSVEN; DIRO, 2012; MAXFIELD; CRANE, 2021; SILVA et al., 2014).

Com distribuição mundial, se faz presente em 89 países, particularmente na Ásia, África Oriental, região do Mediterrâneo e América do Sul, sendo mais prevalente nos trópicos (MAXFIELD; CRANE, 2021). É endêmica em 13 países das américas, dentre os quais se destaca o Brasil, que em 2019 notificou casos humanos equivalentes a 97% do total de casos registrados no continente (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE, 2020).

No país, a doença passou por um período de expansão, migrando rapidamente das zonas rurais da região nordeste para as grandes cidades e alcançando quase todas as unidades federativas, em paralelo a um grande aumento no número de casos, assumindo um papel importante para a saúde pública. Por esse motivo, há um grande interesse da vigilância sanitária em pôr em prática medidas preventivas e interventivas que visem o controle da disseminação da doença. Ações essas que se dividem entre os componentes epidemiológico, tratamento, diagnóstico, controle de reservatório, controle vetorial e educação em saúde (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2021).

O cão (*Canis lupus familiaris*) é considerado o reservatório urbano da LV no território brasileiro, enquanto a raposa (*Dusicyon vetulus* e *Cerdocyon thous*) e marsupiais (*Didelphis albiventris*) são considerados reservatórios silvestres (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). Além disso, a disseminação da LV em cães precede o surgimento de casos humanos em áreas não-endêmicas, sendo importante o

controle do alastramento da doença entre essa população (CAMARGO-NEVES; SPÍNOLA; LAGE, 2003).

A leishmaniose visceral canina (LVC), causada pela *L. infantum*, possui uma ampla distribuição, apresentando prevalências que variam entre 2,3% e 27% ao redor do mundo (LAMATTINA et al., 2019; MEDKOUR et al., 2019; MOROSETTI et al., 2020; RIVAS et al., 2020; SHOKRI; FAKHAR; TESHNIZI, 2017; VITALE et al., 2020). Na América Latina, foram reportadas prevalências semelhantes (FUJISAWA et al., 2021; LAMATTINA et al., 2019; MEDKOUR et al., 2019; RIVAS et al., 2020; SATRAGNO et al., 2017). No Brasil, estudos em áreas endêmicas demonstram prevalências entre 3,1% a 36,0% (BRITO et al., 2016; CARVALHO et al., 2020; LOPES et al., 2020; MARCILI et al., 2020; MARCONDES; DAY, 2019). Já na região Nordeste, a prevalência da infecção varia de 2,4% a 42,8% (BRITO et al., 2016; EVARISTO et al., 2020; KAZIMOTO et al., 2018; LINS et al., 2018; VELOSO et al., 2021), sendo estes os mesmos valores encontrados nas áreas endêmicas do Estado de Pernambuco (BRITO et al., 2016; EVARISTO et al., 2020; LINS et al., 2018).

Os estudos acerca da LVC se intensificaram nas últimas décadas, após a descoberta de sua relação direta com a doença em humanos e o consequente interesse no controle de sua disseminação (ALVAR et al., 2004). Sabe-se que além da transmissão vetorial clássica, os cães podem se infectar, ainda que em menor proporção, via transfusão de sangue infectado, transmissão vertical e de forma venérea, o que possibilita o surgimento de casos autóctones em áreas não-endêmicas a partir de casos importados, mesmo na ausência do vetor (FREITAS et al., 2006; KARKAMO et al., 2014; NAUCKE; LORENTZ, 2012; SVOBODOVA et al., 2017).

No Brasil, o Ministério da Saúde preconiza um monitoramento ativo por parte dos órgãos de vigilância através da realização de inquéritos sorológicos periódicos na população canina em áreas não endêmicas cuja presença do vetor tenha sido confirmada e em áreas com casos confirmados da doença. São recomendadas o uso de duas técnicas sequenciais: o teste rápido, que faz a triagem dos animais negativos, e o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) que serve como exame confirmatório dos animais positivos ao teste rápido (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019). Os casos confirmados devem ser encaminhados para eutanásia, porém, no caso de cães domiciliados, o tutor pode optar pela realização de tratamento (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2016).

2.1.1 Ciclo biológico

Ao realizar o repasto sanguíneo em um humano, canídeo ou marsupial infectado, a fêmea de flebotomíneo ingere o protozoário na sua forma amastigota. Uma vez no intestino médio as células ingeridas se rompem, liberando as amastigotas que, após divisão binária, irão passar para duas formas de promastigota que por sua vez se multiplicam e conseguem migrar do intestino até a válvula do estomodeu, esôfago, faringe e cibário. Após a migração, torna-se possível identificar promastigotas metacíclicas (curtas com um flagelo longo), forma infectante do parasito, que são injetadas na corrente sanguínea do hospedeiro invertebrado juntamente com a saliva do vetor durante o próximo repasto sanguíneo (Figura 1.). As promastigotas metacíclicas são rapidamente fagocitadas por células monocíticas fagocitárias (geralmente macrófagos) e, uma vez no fagolisossomo, voltam à sua forma amastigota e se replicam até o rompimento da célula de defesa, sendo então fagocitadas por uma nova célula, o que aumenta sucessivamente a carga parasitária e encerra o ciclo. Em paralelo, algumas amastigotas se depositam em órgãos e tecidos. Os principais órgãos parasitados são a medula óssea, baço, linfonodos e fígado, seguido de rins, intestino, pulmões e pele (NEVES et al., 2016).

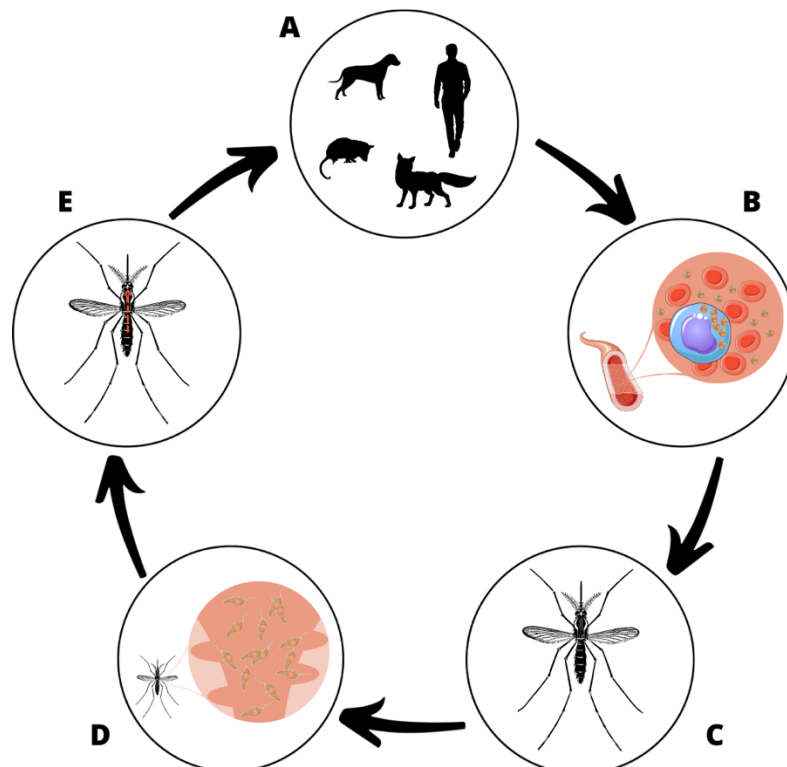


Figura 1. Ciclo biológico da leishmaniose visceral.

2.1.2 Imunopatogenia

A LVC é uma doença crônica e sua evolução depende fortemente da resposta imune do hospedeiro à presença da *Leishmania* sp. no seu organismo (TOEPP; PETERSEN, 2020). A depender da maneira como o sistema imune é ativado, os sinais clínicos podem levar de três meses a sete anos para se fazerem presentes (SCHIMMING; PINTO E SILVA, 2012).

A manutenção da forma subclínica da doença se sustenta no correto balanceamento entre a ação da via celular e humoral no combate ao protozoário. A chave está na predominância das respostas de tipo Th1 e Th17, capazes de controlar a multiplicação do parasito, e da ativação em escala reduzida da resposta Th2 que leva a uma menor produção de anticorpos. Inicialmente, os linfócitos T CD4⁺ liberam ligante 2 da quimiocina CXC (CXCL2), interferon gama (IFN- γ), interleucina 3 (IL-3) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) que atuam respectivamente na manutenção, ativação, recrutamento e diferenciação dos macrófagos, necessários para a eliminação da forma amastigota de *Leishmania* sp. Ao mesmo tempo, essas células ativam em menor escala linfócitos B que por sua vez servem de apresentadores de antígeno e produzem anticorpos específicos anti-*Leishmania* em pequena quantidade. Paralelamente, os linfócitos Th17 ajudam no recrutamento de neutrófilos e macrófagos por meio da liberação de interleucina 17 (IL-17) (TOEPP; PETERSEN, 2020).

Com o passar do tempo, a exposição prolongada aos antígenos leva a uma exaustão das células T CD4⁺ que passam a expressar receptores que reduzem sua própria proliferação e, conseqüentemente, sua atuação na ativação dos macrófagos. A ação antagônica da interleucina 10 (IL-10) produzidas pelas células T reguladoras (Treg) e B, se torna predominante, inibindo a ativação de macrófagos, produção de espécies reativas de oxigênio usadas para eliminar as amastigotas e também a proliferação de células T CD4⁺. Além disso, os linfócitos B passam a produzir anticorpos cada vez menos específicos e em maior quantidade, levando à formação de imunocomplexos, cuja deposição é a principal causa do surgimento de sinais clínicos, caracterizando o princípio da fase sintomática da doença (TOEPP; PETERSEN, 2020).

2.1.3 Manifestações clínicas

De acordo com a condição clínica apresentada pelo cão, é possível classificá-lo entre assintomático e sintomático, sendo importante a realização de um estadiamento para o monitoramento contínuo da doença em caso de tratamento (JERICÓ; ANDRADE NETO; KOGIKA, 2015).

Na fase inicial da doença, costuma-se observar linfadenomegalia e dermatite papular. Já no estágio moderado, a dermatite descamativa pode se fazer presente, assim como onicogrífose, ulcerações, anorexia, perda de peso, febre e epistaxe. Quando na fase mais avançada, pode ocorrer vasculite, artrite, uveíte e glomerulonefrite. A fase final pode cursar com tromboembolismo pulmonar, síndrome nefrótica e doença renal em estágio terminal (SOLANO-GALLEGO et al., 2011).

Embora lesões de pele sejam as manifestações mais frequentes, alguns animais podem apresentar outros sinais clínicos de forma mais significativa, não sendo uma regra a presença dessas lesões (SOLANO-GALLEGO et al., 2011).

Estudos têm tentado elucidar quais fatores influenciam a transição entre o tipo de resposta imune predominante no hospedeiro e consequente desenvolvimento da LVC (BURNHAM et al., 2020; GHARBI et al., 2018; HIDE et al., 2013; SANCHEZ-ROBERT et al., 2008; SOLANO-GALEGO et al., 2000). Fatores genéticos do hospedeiro parecem estar envolvidos na suscetibilidade à doença. Sanchez-Robert et al. (2008) identificaram três polimorfismos do gene *Slc11a1* (solute carrier family 11a member 1) relacionados ao desenvolvimento da forma sintomática da doença. Este gene atua como um antiportador de prótons/cátions divalentes, que controla a replicação de parasitos intracelulares alterando o ambiente intravacuolar do fagossomo contendo microrganismos. Outra linha de investigação é sobre a possível influência da variabilidade genética do agente infeccioso na evolução da doença (GHARBI et al., 2018; HIDE et al., 2013).

2.1.4 Diagnóstico

O diagnóstico da LVC pode ser complexo. Os sinais clínicos da doença são amplos e comuns a outras enfermidades e a presença de coinfeções pode dificultar o diagnóstico diferencial. Além disso, as alterações laboratoriais encontradas são inespecíficas, podendo se apresentar também em outras condições. Portanto, pode-se fazer necessário aliar à análise clínico-patológica a realização de diferentes testes

de diagnóstico e diagnóstico diferencial, sendo necessário avaliar caso a caso (SOLANO-GALLEGO et al., 2011). Os diferentes testes disponíveis para a confirmação da suspeita de LVC se enquadram em três categorias: os parasitológicos, sorológicos e moleculares.

O teste parasitológico é o padrão-ouro para a detecção da infecção, no qual se visualiza a forma amastigota de *Leishmania* sp. em esfregaço, realizado mediante punção de medula óssea, aspirado de linfonodo, hepático, esplênico, escarificação de pele e biópsia de pele (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019; SCHIMMING; PINTO E SILVA, 2012; THAKUR; JOSHI; KAUR, 2020). Todavia, a sua baixa sensibilidade em relação a outros métodos e a necessidade de experiência para a identificação dos parasitos são algumas de suas desvantagens (SOLANO-GALLEGO et al., 2011).

Os testes sorológicos se baseiam na detecção de anticorpos específicos (SOLANO-GALLEGO et al., 2009). São mais sensíveis que os testes parasitológicos, embora estejam sujeitos a reações cruzadas (SOLANO-GALLEGO et al., 2011). São os exames de escolha para a efetuação do inquérito sorológico censitário em cães preconizado pelo Ministério da Saúde (MS) como parte das ações de controle e prevenção da disseminação da LVC no Brasil, sendo recomendada a utilização do teste rápido para a triagem dos animais negativos e do ELISA como confirmatório de casos positivos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

Os testes moleculares, através da identificação de trechos específicos de DNA do parasito ainda que em pequena quantidade, possibilitam um diagnóstico altamente sensível e acurado (BERNARDI, 2020; RAMOS et al., 2013). A principal técnica pertencente a esse grupo é a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), que pode ser usada para identificar o agente parasitário antes mesmo de ocorrer a soroconversão. Uma das suas variações, a Reação em Cadeia da Polimerase quantitativa (qPCR), possibilita ainda a quantificação da carga parasitária do indivíduo (BERNARDI, 2020). Porém, os testes são passíveis de resultados falso positivos devido a contaminação por DNA (SOLANO-GALLEGO et al., 2011).

2.1.5 Coinfecções

Na literatura, há diversos relatos de casos de infecção concomitante entre *Leishmania* sp. e outros parasitos (ATTIPA et al., 2018; BAXARIAS et al., 2018; MAIA et al., 2016; MOZOS et al., 1999).

Um estudo do sul de Portugal avaliou a frequência de coinfeções em cães entre *L. infantum* e *D. immitis*, encontrando uma taxa de 8,3% (MAIA et al., 2016). No Brasil, Cardinot et al., (2016) documentaram a ocorrência de coinfeção entre a *L. infantum* e *Ehrlichia canis*, *Babesia vogeli* e *Toxoplasma gondii* por meio da identificação do DNA desses patógenos em amostras de tecido cerebral de cães de Araçatuba/SP. Segundo Attipa et al. (2018), animais com LVC têm 12 vezes mais chances de terem coinfeção por *E. canis* que os saudáveis (OR = 12,4; 95% IC = 1,5-106,0; $p = 0,022$). Por outro lado, a coinfeção por *Dioctophyme renale* em um cão de quatro anos com *L. infantum* foi reportada por Oliveira et al. (2019) no Rio de Janeiro – Brasil.

Contudo, é importante ressaltar que a concomitância de infecções não implica necessariamente na existência de uma relação e/ou interação entre essas mesmas infecções.

Em uma pesquisa realizada em Campo Grande/Mato Grosso do Sul, Andreotti et al. (2006) compararam um grupo de cães positivos para *L. infantum* com um de cães saudáveis considerando a soroprevalência de *Neospora caninum* averiguada nesses grupos amostrais, não encontrando correlação entre eles ($\chi^2 = 0,21$; $p = 0,64$) a despeito de a coinfeção por esses dois parasitos ser comum na região.

Por outro lado, um estudo de caso-controle com 82 animais testou a presença de anticorpos contra *E. canis*, *Anaplasma phagocytophilum*, *Rickettsia conorii* e *Bartonella henselae*, concluindo que além de o grupo com LVC ter mais chances de apresentar coinfeção por pelo menos um dos agentes testados (OR = 5,7; 95% IC = 1-35; $p = 0,036$), a presença de cada uma das infecções concomitantes se mostrou diretamente relacionada à manifestação de sinais clinicopatológicos específicos (BAXARIAS et al., 2018).

Da mesma forma, um caso de três cães acometidos por leishmaniose e demodicose generalizada foi atribuído à ação imunossupressora da *Leishmania* sp., que ao reduzir drasticamente a presença de linfócitos T no infiltrado granulomatoso e perifolicular causados pela demodicose, atuaria como um fator predisponente à generalização da infecção de pele (MOZOS et al., 1999).

Parasitoses gastrointestinais também já foram detectadas em concomitância com LVC, embora poucos trabalhos abordem esse tema. Saldanha-Elias et al. (2019) investigaram cães de rua dos arredores de Belo Horizonte/Minas Gerais e observaram coinfeções entre *Leishmania* sp. e *A. caninum*, *Ancylostoma braziliense*, *D. caninum*,

T. vulpis e *G. duodenalis*, observando correlação entre a positividade em sorologia para *Leishmania* sp. e a presença de *D. caninum*.

Outro aspecto importante das coinfeções é que alguns de seus agentes etiológicos possuem potencial zoonótico, sendo de extrema importância a promoção da vigilância parasitológica, de intervenções preventivas e tratamento destes patógenos (BIANCARDI; CURI, 2014; DOLTRÁRIO et al., 2018; LOZANO GÓMEZ; MARÍN CASAJÚS; OBÓN AZUARA, 2020; HING et al., 2019; JERICÓ; ANDRADE NETO; KOGIKA, 2015; OLIVEIRA, 2018; OTRANTO et al., 2011; PEREZ et al., 2006; SAUDA et al., 2018).

2.2 Parasitos gastrointestinais em cães

As enteroparasitoses em cães possuem uma distribuição cosmopolita e são causadas principalmente por helmintos e protozoários (STANKOVIĆ et al., 2012). No Brasil, os parasitos gastrointestinais que mais infectam cães e gatos são os nematódeos dos gêneros *Ancylostoma*, *Toxocara*, *Trichuris*, e *Strongyloides*, seguido do cestódeo do gênero *Dipylidium*, todos possuindo potencial zoonótico (JERICÓ; ANDRADE NETO; KOGIKA, 2015; OLIVEIRA, 2018).

Entre os protozoários entéricos de cães, os mais estudados são os dos gêneros *Giardia* e *Cryptosporidium*, que possuem potencial zoonótico, estando entre os principais responsáveis por quadros de diarreia persistente em humanos (DUPONT, 2016). *Giardia* sp. tem caráter não invasivo por permanecer aderida ao epitélio intestinal sem penetrar nos tecidos e apresenta uma prevalência variada entre os caninos, influenciada, entre outros fatores, pela idade do animal, se ele é ou não domiciliado, pela presença ou não de sinais clínicos e pelo método de diagnóstico empregado (BOUZID et al., 2015). Acomete principalmente filhotes, podendo causar uma síndrome de má absorção e digestão devido à redução da área de absorção intestinal derivada do encurtamento das microvilosidades dos enterócitos (JERICÓ; ANDRADE NETO; KOGIKA, 2015).

Por outro lado, *Cryptosporidium* sp. é considerado um parasito minimamente invasivo por não penetrar nas células constituintes das camadas mais profundas da mucosa intestinal (MIYAMOTO; ECKMANN, 2015). A criptosporidiose causa perda da superfície absorptiva e transporte desequilibrado de nutrientes, levando a um quadro de diarreia por má absorção (JERICÓ; ANDRADE NETO; KOGIKA, 2015).

2.2.1 Patógenos gastrointestinais de cães com perfil oportunista

A imunossupressão é um fator predisponente para o estabelecimento de infecções secundárias, por vezes com caráter oportunista (CERVONE et al., 2019). Porém poucos estudos abordam casos de infecção oportunista em cães (CERVONE et al., 2019; FRY et al., 2009; GREVOT et al., 2005; LEGNANI et al., 2016; MCATEE et al., 2017; PERRUCCI et al., 2017; WEBB et al., 2005), dos quais, apenas um se concentra em infecções por parasitos gastrointestinais. Em um estudo de caso-controle, Cervone et al. (2019) investigaram as fezes de cães acometidos por linfoma multicêntrico de alto grau de malignidade no momento do diagnóstico e após o início da quimioterapia, comparando os seus resultados com os de um grupo sadio. Foram encontrados ancilostomídeos, *Cryptosporidium* spp., complexo *Cystoisospora ohioensis*, *Entamoeba* sp., *G. duodenalis*, *Spirocerca lupi* e *T. canis*, sendo os agentes *Cryptosporidium* spp., complexo *C. ohioensis*, *Entamoeba* sp. e *S. lupi* encontrados apenas no grupo com linfoma. Apesar de não terem observado diferença no índice total de coinfeções entre o grupo doente e o controle, os autores averiguaram que o primeiro grupo apresentava uma taxa significativamente maior de coinfeção por protozoários que o segundo. No grupo com linfoma a proporção encontrada de coinfeção por protozoários em relação à de helmintos também foi maior, tanto nas amostras colhidas no momento do diagnóstico quanto após o início da quimioterapia. Além disso, algumas espécies de protozoários identificados no grupo só foram visibilizadas em amostras colhidas após o início do tratamento, sendo esses fatores indícios de ação oportunista.

2.2.2 Métodos de diagnóstico de parasitos gastrointestinais em cães

Se enquadram em três grandes grupos, que são os métodos parasitológicos, imunológicos e moleculares, podendo ser utilizados de forma isolada ou em associação (BOUZID et al., 2015; JERICÓ; ANDRADE NETO; KOGIKA, 2015; OLIVEIRA-ARBEX et al., 2017).

Os métodos parasitológicos são de baixo custo e muito utilizados na rotina laboratorial (FERNANDES et al., 2008; KLIMPEL et al., 2010; SEVÁ et al., 2018; TORRICO et al., 2008), se dividindo em técnicas de sedimentação e flutuação e podendo ou não passar por etapas de centrifugação (FAUST et al., 1939; LUTZ, 1919;

NEVES et al., 2016; RITCHIE, 1948; RUGAI; MATTOS; BRISOLA, 1954; SHEATHER, 1923). A identificação direta de estruturas parasitárias nas fezes é responsável pela alta especificidade desses testes, porém quanto à sensibilidade, há uma divergência sobre a sua eficiência ser inferior ou semelhante à de outras formas de diagnóstico (BOUZID et al., 2015; LIMA et al., 2015; LITTLE et al., 2019).

Recentemente, o FLOTAC[®], técnica baseada no método de centrífugo-flutuação, tem se mostrado promissor por ser mais sensível que técnicas parasitológicas tradicionais e apresentar alta precisão e exatidão de resultados, que são quantitativos (CRINGOLI et al., 2010; LIMA et al., 2015), sendo equiparável inclusive a testes imunológicos (PEPE et al., 2019).

Dentre os métodos imunológicos, os mais utilizados para diagnóstico de enteroparasitoses são o teste de ELISA e a Reação de Imunofluorescência, podendo também ser usados os testes imunocromatográficos. A imunofluorescência possibilita uma melhor identificação de cistos e oocistos, sendo padrão-ouro para o diagnóstico de *Giardia* sp. (PEPE et al., 2019).

Quanto aos métodos moleculares, trazem a vantagem de possibilitar a identificação do parasito a nível de espécie e subespécie, proporcionando uma maior precisão diagnóstica. Apresenta uma alta sensibilidade, identificando pequenas quantidades de material genético. Além de auxiliar na clínica, possui aplicabilidade na farmacologia e na elucidação de aspectos epidemiológicos (MOHD-SHAHARUDDIN et al., 2019; TRAUB et al., 2004), tendo sido empregado em diversos estudos (BEUGNET et al., 2014; COLLI et al., 2015; KOHANSAL et al., 2017b; OLIVEIRA-ARBEX et al., 2017; OTTO et al., 2008; SUGANYA et al., 2019; THAKUR; JOSHI; KAUR, 2020).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBORZI, A.; RASOULI, M.; SHAMSIZADEH, A. *Leishmania tropica*-isolated patient with visceral leishmaniasis in southern Iran. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 74, n. 2, p. 306–307, 2006.
- ALVAR, J. et al. Canine Leishmaniasis. In: **Advances in Parasitology**. [s.l.] Elsevier Inc., 2004. v. 57p. 1–88.
- ANDREOTTI, R. et al. Occurrence of *Neospora caninum* in dogs and its correlation with visceral leishmaniasis in the urban area of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 135, n. 3–4, p. 375–379, 18 fev. 2006.
- ATTIPA, C. et al. Association between canine leishmaniosis and *Ehrlichia canis* co-infection: A prospective case-control study. **Parasites and Vectors**, v. 11, n. 1, p. 1–9, 2018.
- BAXARIAS, M. et al. Does co-infection with vector-borne pathogens play a role in clinical canine leishmaniosis? **Parasites and Vectors**, v. 11, n. 1, p. 1–16, 2018.
- BERNARDI, J. C. M. **Avaliação do mielograma e da carga parasitária em cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* submetidos a tratamento experimental com domperidona associada a alopurinol**. [s.l.: s.n.].
- BEUGNET, F. et al. Occurrence of *Dipylidium caninum* in fleas from client-owned cats and dogs in Europe using a new PCR detection assay. **Veterinary Parasitology**, v. 205, n. 1–2, p. 300–306, 2014.
- BIANCARDI, A. L.; CURI, A. L. L. Cat-scratch disease. **Ocular Immunology and Inflammation**, v. 22, n. 2, p. 148–154, 9 abr. 2014.
- BORGES, L. F. N. M. et al. Prevalence and spatial distribution of visceral leishmaniasis in dogs Juatuba, Minas Gerais, Brazil. **Ciência Rural**, v. 44, n. 2, p. 352–357, fev. 2014.
- BOUZID, M. et al. The prevalence of *Giardia* infection in dogs and cats, a systematic review and meta-analysis of prevalence studies from stool samples. **Veterinary Parasitology**, v. 207, n. 3–4, p. 181–202, 2015.
- BRITO, F. G. et al. Canine visceral leishmaniasis in the Northeast Region of Brazil. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, v. 22, n. 1, p. 10–13, 2016.
- BURNHAM, A. C. et al. Exploring the relationship between susceptibility to canine leishmaniosis and anti-*Phlebotomus perniciosus* saliva antibodies in Ibizan hounds and dogs of other breeds in Mallorca, Spain. **Parasites and Vectors**, v. 13, n. 1, p. 1–15, 2020.
- CAMARGO-NEVES, V. L. F. DE; SPÍNOLA, R.; LAGE, L. A leishmaniose visceral americana no estado de São Paulo: Situação epidemiológica em 2001-2002. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 2, p. 27–29, 2003.

- CARDINOT, C. B. et al. Detection of *Ehrlichia canis*, *Babesia vogeli*, and *Toxoplasma gondii* DNA in the Brain of Dogs Naturally Infected with *Leishmania infantum*. **Journal of Parasitology**, v. 102, n. 2, p. 275–279, abr. 2016.
- CARVALHO, M. R. et al. Canine visceral leishmaniasis: perception, prevalence, and spatial distribution in municipality of Nossa Senhora do Livramento, Mato Grosso, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 29, n. 2, p. 1–11, 2020.
- CERVONE, M. et al. Intestinal parasite infections in dogs affected by multicentric lymphoma and undergoing chemotherapy. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 63, n. January, p. 81–86, 2019.
- COLLI, C. M. et al. Identical assemblage of *Giardia duodenalis* in humans, animals and vegetables in an urban area in Southern Brazil indicates a relationship among them. **PLOS ONE**, v. 10, n. 3, p. 1–12, 11 mar. 2015.
- CRINGOLI, G. et al. FLOTAC: New multivalent techniques for qualitative and quantitative copromicroscopic diagnosis of parasites in animals and humans. **Nature Protocols**, v. 5, n. 3, p. 503–515, 25 mar. 2010.
- DOLTRÁRIO, A. B. et al. Human pulmonary dirofilariasis with secondary myocarditis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 52, n. November 2018, p. 0–2, 2019.
- DUPONT, H. L. Persistent diarrhea: A clinical review. **Journal of the American Medical Association**, v. 315, n. 24, p. 2712–2723, 2016.
- EVARISTO, A. M. DA C. F. et al. Canine leishmaniasis in the semi-arid region of Pernambuco, northeastern Brazil: epidemiology, factors associated with seropositivity and spatial analysis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 29, n. 2, p. 1–13, 2020.
- FAUST, E. C. et al. Comparative efficiency of various technics for the diagnosis of protozoa and helminths in feces. **The Journal of Parasitology**, v. 25, n. 3, p. 241, jun. 1939.
- FERNANDES, A. B. et al. [Relationship between companion animals and intestinal parasites in children at municipality of Seropédica, RJ]. **Revista brasileira de parasitologia veterinaria = Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria**, v. 17 Suppl 1, n. 1, p. 296–300, set. 2008.
- FREITAS, E. DE et al. Transmission of *Leishmania infantum* via blood transfusion in dogs: Potential for infection and importance of clinical factors. **Veterinary Parasitology**, v. 137, n. 1–2, p. 159–167, abr. 2006.
- FRY, D. R. et al. Protozoal hepatitis associated with immunosuppressive therapy in a dog. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, n. 2, p. 366–368, mar. 2009.
- FUJISAWA, K. et al. Emergent canine visceral leishmaniasis in Argentina: Comparative diagnostics and relevance to proliferation of human disease. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 7, p. 1–19, 19 jul. 2021.

GHARBI, M. et al. Symptoms of Canine Leishmaniosis in Tunisian Dogs. **Bulletin de la société de pathologie exotique**, v. 111, n. 1, p. 51–55, 28 fev. 2018.

GREVOT, A. et al. Leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in a FIV and FeLV positive cat with a squamous cell carcinoma diagnosed with histological, serological and isoenzymatic methods. **Parasite**, v. 12, n. 3, p. 271–275, 15 set. 2005.

GRIENSVEN, J. VAN; DIRO, E. Visceral Leishmaniasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, v. 26, n. 2, p. 309–322, jun. 2012.

HIDE, M. et al. Parasitic genotypes appear to differ in leishmaniasis patients compared with asymptomatic related carriers. **International Journal for Parasitology**, v. 43, n. 5, p. 389–397, abr. 2013.

HING, M. et al. Prevalence of *Anaplasma phagocytophilum* in humans in Belgium for the period 2013–2016. **Acta Clinica Belgica**, v. 74, n. 4, p. 280–285, 4 jul. 2019.

JERICÓ, M. M.; ANDRADE NETO, J. P. DE; KOGIKA, M. M. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. 1st. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan LTDA, 2015.

KARAMIAN, M. et al. *Leishmania major* infection in a patient with visceral leishmaniasis: Treatment with Amphotericin B. **Parasitology Research**, v. 101, n. 5, p. 1431–1434, out. 2007.

KARKAMO, V. et al. The first report of autochthonous non-vector-borne transmission of canine leishmaniosis in the Nordic countries. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 56, n. 1, p. 84, 10 dez. 2014.

KAZIMOTO, T. A. et al. Impact of 4% deltamethrin-impregnated dog collars on the prevalence and incidence of canine visceral leishmaniasis. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 18, n. 7, p. 356–363, jul. 2018.

KLIMPEL, S. et al. Gastrointestinal and ectoparasites from urban stray dogs in Fortaleza (Brazil): High infection risk for humans? **Parasitology Research**, v. 107, n. 3, p. 713–719, 8 ago. 2010.

KOHANSAL, M. H. et al. Dogs' gastrointestinal parasites and their association with public health in Iran. **Journal of Veterinary Research**, v. 61, n. 2, p. 189–195, 1 jun. 2017.

LAMATTINA, D. et al. Twice upon a time: The progression of canine visceral leishmaniasis in an Argentinean city. **PLOS ONE**, v. 14, n. 7, p. 1–18, 2019.

LEGNANI, S. et al. Emergence of cutaneous neosporosis in a dog receiving immunosuppressive therapy: molecular identification and management. **Veterinary Dermatology**, v. 27, n. 1, p. 49-e14, fev. 2016.

LIMA, A. L. **Coinfecção natural por *Leishmania infantum* e *Ehrlichia spp.*: Influência sobre os sinais clínicos, parâmetros hematológicos, fator de necrose tumoral alfa e interleucina 10**. [s.l: s.n.].

LINS, T. N. B. et al. Seroprevalence and spatial distribution of canine leishmaniasis in an endemic region in Brazil: how has the situation changed after 10 years?

Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 51, n. 5, p. 680–682, out. 2018.

LITTLE, S. E. et al. Coproantigen detection augments diagnosis of common nematode infections in dogs. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 35, p. 42–46, jun. 2019.

LOPES, J. V. et al. Canine visceral leishmaniasis in area with recent *Leishmania* transmission: prevalence, diagnosis, and molecular identification of the infecting species. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 53, p. 1–9, 2020.

LOZANO GÓMEZ, H.; MARÍN CASAJÚS, O.; OBÓN AZUARA, B. Shock séptico por *Rickettsia conorii*. **Medicina Clínica**, v. 157, n. 10, p. 498–499, nov. 2021.

LUTZ, A. O *Schistosomum mansoni* e a Schistosomatose segundo observações, feitas no Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 11, n. 1, p. 121–155, 1919.

MAIA, C. et al. Molecular detection of *Leishmania infantum*, *filariae* and *Wolbachia* spp. in dogs from southern Portugal. **Parasites and Vectors**, v. 9, n. 1, p. 16–21, 2016.

MARCILI, A. et al. Canine Visceral Leishmaniasis in São Paulo, Brazil, the Most Populous City of South America: Isolation, Molecular Diagnosis, and Phylogenetic Inferences. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 20, n. 10, p. 768–772, 1 out. 2020.

MARCONDES, M.; DAY, M. J. Current status and management of canine leishmaniasis in Latin America. **Research in veterinary science**, v. 123, n. January, p. 261–272, abr. 2019.

MAXFIELD, L.; CRANE, J. S. Leishmaniasis. p. 1–9, 2021.

MCATEE, B. B. et al. Opportunistic invasive cutaneous fungal infections associated with administration of cyclosporine to dogs with immune-mediated disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 31, n. 6, p. 1724–1729, nov. 2017.

MEDKOUR, H. et al. Potential animal reservoirs (dogs and bats) of human visceral leishmaniasis due to *Leishmania infantum* in French Guiana. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 6, p. 1–15, 19 jun. 2019.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. **Nota Técnica Nº 11/2016/CPV/DFIP/SDA/GM/MAPA - Autorização para uso de milteforan no tratamento de leishmaniose visceral canina** Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento Brasil, 2016. Disponível em: <<http://www.sbmt.org.br/portal/wp-content/uploads/2016/09/nota-tecnica.pdf>>

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de vigilância em saúde**. 4th. ed. Brasília, DF: [s.n.].

MIYAMOTO, Y.; ECKMANN, L. Drug development against the major diarrhea-causing parasites of the small intestine, *Cryptosporidium* and *Giardia*. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. November, p. 1–17, 2015.

- MOHD-SHAHARUDDIN, N. et al. Molecular characterization of *Trichuris* species isolated from humans, dogs and cats in rural community Peninsular Malaysia. **Acta Tropica**, v. 190, p. 269–272, 2019.
- MONTES, M.; SAWHNEY, C.; BARROS, N. *Strongyloides stercoralis*: there but not seen. **Current Opinion in Infectious Diseases**, v. 23, n. 5, p. 500–4, out. 2010.
- MOROSSETTI, G. et al. Canine leishmaniosis in the Italian northeastern Alps: A survey to assess serological prevalence in dogs and distribution of phlebotomine sand flies in the Autonomous Province of Bolzano - South Tyrol, Italy. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 21, n. May, p. 1–9, 2020.
- MOZOS, E. et al. Leishmaniosis and generalized demodicosis in three dogs: A clinicopathological and immunohistochemical study. **Journal of Comparative Pathology**, v. 120, n. 3, p. 257–268, 1999.
- NAUCKE, T. J.; LORENTZ, S. First report of venereal and vertical transmission of canine leishmaniosis from naturally infected dogs in Germany. **Parasites & Vectors**, v. 5, n. 1, p. 67, 1 dez. 2012.
- NEVES, D. P. et al. **Parasitologia humana**. 13. ed. São Paulo: Atheneu, 2016. v. 2015
- OLIVEIRA, T. DE. **Ocorrência de parasitos em amostras de fezes de cães e gatos nas praias do Campeche e Morro das Pedras no município de Florianópolis, SC**. [s.l.: s.n.].
- OLIVEIRA, V. DA C. et al. Occurrence of *Leishmania infantum* in the central nervous system of naturally infected dogs: Parasite load, viability, co-infections and histological alterations. **PLoS ONE**, v. 12, n. 4, p. 1–15, 2017.
- OLIVEIRA, V. DA C. et al. **First description of parasite load and clinicopathological and anatomopathological changes in a dog naturally coinfecting with *Dioctophyme renale* and *Leishmania infantum* in Brazil** **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**. Barra Mansa: Elsevier, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100351>>.
- OLIVEIRA-ARBEX, A. P. et al. Molecular identification of *Ancylostoma* species from dogs and an assessment of zoonotic risk in low-income households, São Paulo State, Brazil. **Journal of Helminthology**, v. 91, n. 1, p. 14–19, 11 jan. 2017.
- ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Leishmanioses – Informe epidemiológico das Américas**. 9. ed. Washington, D.C.: [s.n.].
- OSTERMANN, A. DE M. **Infecção por helmintos gastrintestinais em cães (Canis familiaris, LINNAEUS, 1758) errantes procedentes do município de Recife - PE**. [s.l.: s.n.].
- OTRANTO, D. et al. Human intraocular filariasis caused by *Dirofilaria* sp. nematode, Brazil. **Emerging Infectious Diseases**, v. 17, n. 5, p. 863–866, maio 2011.

- OTTO, T. D. et al. ChromaPipe: A pipeline for analysis, quality control and management for a DNA sequencing facility. **Genetics and Molecular Research**, v. 7, n. 3, p. 861–871, 2008.
- PEPE, P. et al. Comparative cost-effectiveness of immunoassays and FLOTAC for diagnosing *Giardia* spp. infection in dogs. **Parasites and Vectors**, v. 12, n. 1, p. 10–13, 2019.
- PEREZ, M. et al. Human infection with *Ehrlichia canis* accompanied by clinical signs in Venezuela. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1078, n. 1, p. 110–117, 1 out. 2006.
- PERRUCCI, S. et al. *Neospora caninum* oocyst shedding in a naturally infected dog from Italy. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 8, p. 10–12, maio 2017.
- RAMOS, R. A. N. et al. Quantification of *Leishmania infantum* DNA in the bone marrow, lymph node and spleen of dogs. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 3, p. 346–350, set. 2013.
- RITCHIE, L. S. An ether sedimentation technique for routine stool examinations. **Bulletin of the U.S. Army Medical Department. United States. Army. Medical Department**, v. 8, n. 4, p. 326, abr. 1948.
- RIVAS, A. K. et al. Serological and molecular survey of *Leishmania* infection in dogs from Venezuela. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 21, n. April, p. 1–7, 2020.
- RUGAI, E.; MATTOS, T.; BRISOLA, A. P. Nova técnica para isolar larvas de nematóides das fezes - Modificação do método de Baermann. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 14, n. 1, p. 5–8, 1954.
- SALDANHA-ELIAS, A. M. et al. Prevalence of endoparasites in urban stray dogs from Brazil diagnosed with *Leishmania*, with potential for human zoonoses. **Acta Parasitologica**, v. 64, n. 2, p. 352–359, 2019.
- SANCHEZ-ROBERT, E. et al. Slc11a1 (formerly Nramp1) and susceptibility to canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Research**, v. 39, n. 3, p. 36, 29 mai. 2008.
- SATRAGNO, D. et al. Autochthonous outbreak and expansion of canine visceral leishmaniasis, Uruguay. **Emerging Infectious Diseases**, v. 23, n. 3, p. 536–538, mar. 2017.
- SAUDA, F. et al. *Leishmania infantum*, *Dirofilaria* spp. and other endoparasite infections in kennel dogs in central Italy. **Parasite**, v. 25, n. 2, p. 2, 1 fev. 2018.
- SCHIMMING, B. C.; PINTO E SILVA, J. R. C. Canine *Leishmania* infections. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 19, p. 1–12, 2012.
- SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **Boletim epidemiológico - Doenças tropicais negligenciadas**. Brasília, DF: [s.n.].

SEVÁ, A. DA P. et al. Endoparasites in domestic animals surrounding an Atlantic Forest remnant, in São Paulo State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, n. 1, p. 12–18, 19 fev. 2018.

SHEATHER, A. L. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a floatation technique. **Journal of Comparative Pathology and Therapeutics**, v. 36, p. 266–275, jan. 1923.

SILVA, R. DE C. N. et al. Detection of antibodies against *Leishmania infantum* in cats (*Felis catus*) from the State of Pernambuco, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 1, p. 108–109, 2014.

SOLANO-GALLEGO, L. et al. The Ibizian hound presents a predominantly cellular immune response against natural *Leishmania* infection. **Veterinary Parasitology**, v. 90, n. 1–2, p. 37–45, jun. 2000.

SOLANO-GALLEGO, L. et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, v. 165, n. 1–2, p. 1–18, out. 2009.

SOLANO-GALLEGO, L. et al. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. **Parasites and Vectors**, v. 4, n. 1, p. 86, 2011.

STANKOVIĆ, B. et al. **Endoparasitoses of dogs – Review** Zemun-Belgrade, 2012. Disponível em: <<http://www.cepib.org.rs/wp-en/wp-content/uploads/2012/09/34.pdf>>

SUGANYA, G. et al. Prevalence and molecular characterization of zoonotic helminths in dogs. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 43, n. 1, p. 96–102, 17 mar. 2019.

SVOBODOVA, V. et al. Canine leishmaniosis in three consecutive generations of dogs in Czech Republic. **Veterinary Parasitology**, v. 237, n. 1, p. 122–124, abr. 2017.

THAKUR, S.; JOSHI, J.; KAUR, S. Leishmaniasis diagnosis: An update on the use of parasitological, immunological and molecular methods. **Journal of Parasitic Diseases**, v. 44, n. 2, p. 253–272, 16 jun. 2020.

TOEPP, A. J.; PETERSEN, C. A. The balancing act: Immunology of leishmaniosis. **Research in Veterinary Science**, v. 130, p. 19–25, 2020.

TORRICO, K. J. et al. Ocorrência de parasitas gastrintestinais em cães e gatos na rotina do Laboratório de Enfermidades Parasitárias. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 183, p. 182–183, 2008.

TRAUB, R. J. et al. Application of a species-specific PCR-RFLP to identify *Ancylostoma* eggs directly from canine faeces. **Veterinary Parasitology**, v. 123, n. 3–4, p. 245–255, set. 2004.

VELOSO, E. C. M. et al. Socio-economic and environmental factors associated with the occurrence of canine infection by *Leishmania infantum* in Teresina, Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 24, n. February, p. 100561, abr. 2021.

VITALE, F. et al. Cross-sectional survey of canine leishmaniasis in Pantelleria island in Sicily. **Veterinaria italiana**, v. 56, n. 2, p. 103–107, 2020.

WEBB, J. A. et al. Cutaneous manifestations of disseminated toxoplasmosis in an immunosuppressed dog. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 41, n. 3, p. 198–202, 1 maio 2005.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Identificar patógenos gastrointestinais oportunistas em cães com infecção natural por *Leishmania (L.) infantum*.

4.2 Objetivos específicos

Determinar a frequência de *Giardia* sp. e *Cryptosporidium* sp. em cães com infecção natural por *Leishmania (L.) infantum*;

Determinar a existência de relação entre a presença de infecção por *Giardia* sp. e *Cryptosporidium* sp. e o parasitismo por *Leishmania (L.) infantum* em cães.

CAPÍTULO I

COINFECÇÃO POR *Giardia* sp. E *Cryptosporidium* sp. EM CÃES COM
LEISHMANIOSE VISCERAL PROVENIENTES DO ESTADO DE
PERNAMBUCO

COINFECÇÃO POR *Giardia* sp. E *Cryptosporidium* sp. EM CÃES COM LEISHMANIOSE VISCERAL PROVENIENTES DO ESTADO DE PERNAMBUCO

RESUMO

A leishmaniose visceral canina é uma doença crônica e sistêmica, considerada uma doença imunomediada. Clinicamente os cães infectados apresentam lesões cutâneas, onicogribose, sinais oculares, linfadenopatia e problemas gastrointestinais, entre outros. Entretanto, a giardíase e criptosporidiose são doenças parasitárias caracterizadas por diarreia e dificuldade de digestão e absorção de nutrientes. O objetivo deste estudo foi avaliar a coinfeção por *Giardia* sp. e *Cryptosporidium* sp. em cães com diagnóstico positivo para leishmaniose visceral canina (LVC) provenientes do Estado de Pernambuco. Para tanto, material fecal de 47 animais com LVC foi processado pela Reação de Imunofluorescência Direta (RIFD). A frequência de coinfeção por *Giardia* sp. e *Cryptosporidium* sp. nas amostras analisadas foi de 12,8% (6/47) e 0% (0/47), respectivamente; sem, entretanto, associação com quadros diarreicos ou histórico de problemas gastrointestinais, com exceção de um animal. A análise dos dados não evidenciou diferença estatisticamente significativa na coinfeção para *Giardia* sp. em relação ao sexo e raça dos animais. Este é o primeiro estudo a relatar coinfeção por *Leishmania Leishmania infantum* e *Giardia* sp. em cães no Nordeste brasileiro.

Palavras-chave: Coinfeção; Giardíase; *Leishmania Leishmania infantum*; Reação de imunofluorescência direta

1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma doença crônica e sistêmica, de distribuição mundial, causada por protozoários pertencentes ao gênero *Leishmania*, família Trypanosomatidae e presente notadamente nos trópicos e sendo transmitida nas américas por flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, 2021).

A LVC é considerada uma doença imunomediada devido ao seu desenvolvimento depender fortemente da resposta imune à presença de *Leishmania* sp. primariamente na corrente sanguínea do hospedeiro, podendo se manter assintomática por longos anos (SCHIMMING; PINTO E SILVA, 2012; TOEPP; PETERSEN, 2020). A manutenção da forma subclínica da doença se sustenta na continuidade de um delicado equilíbrio entre a ativação da via celular e humoral no processo inflamatório. As respostas Th1 e Th17 são protetoras, capazes de controlar a proliferação do protozoário, enquanto a resposta Th2 favorece a manifestações clínicas devido à inibição da ativação de macrófagos e formação de imunocomplexos (TOEPP; PETERSEN, 2020).

Dentre os principais sinais clínicos presentes na forma sintomática, estão as lesões cutâneas (alopecia e dermatites), onicogribose, sinais oculares e linfadenopatia (SOLANO-GALLEGO et al., 2011), podendo também ocorrer problemas gastrointestinais como diarreia sanguinolenta e/ou mucoide (JERICÓ; ANDRADE NETO; KOGIKA, 2015). Há registro de um quadro crônico de diarreia em um cão da Inglaterra, sem outra causa aparente que não a própria LVC (WARD et al., 2019).

Há relatos de correlação entre a LVC e outros patógenos, principalmente hemoparasitos (ATTIPA et al., 2018; BAXARIAS et al., 2018; MOZOS et al., 1999; OLIVEIRA et al., 2017), contudo poucos trabalhos abordam a sua possível correlação com parasitos gastrointestinais (ANDREOTTI et al., 2006). Além disso, alguns parasitos gastrointestinais, como *Cryptosporidium* spp., complexo *Cystoisospora ohioensis*, *Entamoeba* sp., *Giardia duodenalis* e *Spirocerca lupi* podem apresentar perfil oportunista (CERVONE et al., 2019).

Por outro lado, a giardíase é uma doença intestinal importante tanto para a clínica veterinária quanto para a saúde pública, devido ao seu potencial zoonótico (DUPONT, 2016). A principal forma de infecção por *Giardia* sp. é fecal/oral, pelo consumo de água ou alimentos contaminados com cistos do parasito (ANKARKLEV

et al., 2010; NEVES et al., 2016; RAZA et al., 2018). Pode ocorrer também a transmissão por vetores mecânicos como moscas, baratas e escaravelhos (ADENUSI; AKINYEMI; AKINSANYA, 2018; CONN et al., 2006; GETACHEW et al., 2007; GRACZYK; KNIGT; TAMAN, 2005; PATEL et al., 2022). Estudos demonstram que a giardíase possui ação imunomoduladora e, em alguns casos, é capaz de causar alterações significativas na microbiota intestinal e interferir na resposta inflamatória local, havendo indícios de que também possa promover efeitos sistêmicos como a redução dos níveis séricos de proteína C reativa (COTTON; AMAT; BURET, 2015; FEKETE et al., 2021). O cursar da doença pode se dar de maneira sintomática ou assintomática (BOUZID et al., 2015; MIYAMOTO; ECKMANN, 2015; RAZA et al., 2018) e em cães, o principal sinal clínico é a diarreia, que pode ser aguda ou crônica, autolimitante e intermitente, ou contínua, podendo apresentar, nos casos mais graves, um quadro severo de enterite que, por sua vez, pode levar a uma esteatorreia, perda de peso e atraso no crescimento (RAZA et al., 2018).

Em paralelo, *Cryptosporidium* sp. é um protozoário de perfil zoonótico, sendo uma das principais causas de diarreia em humanos e animais. A infecção também é fecal/oral e se dá principalmente pelo consumo de água contaminada com oocistos (MIYAMOTO; ECKMANN, 2015). O processo infeccioso pode ser assintomático ou levar a quadros de diarreia intermitente por má absorção (JERICÓ; ANDRADE NETO; KOGIKA, 2015).

Neste contexto, o objetivo deste estudo consistiu em investigar a presença de coinfeção por *Giardia* sp. e *Cryptosporidium* sp. em cães com LV provenientes do Estado de Pernambuco.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Aspectos éticos

Este estudo foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco, obtendo aprovação mediante o protocolo CEUA nº 4624270520.

2.2 Obtenção de amostras

Amostras de fezes foram coletadas, imediatamente após a sua emissão (n = 45) e diretamente da ampola retal (n = 2), de 47 animais domiciliados provenientes da Região Metropolitana do Recife e Município de Caruaru com diagnóstico positivo para leishmaniose visceral canina mediante a visualização de *L. (L) infantum* na sua forma amastigota em estiraço de medula, independentemente de raça, sexo ou idade. As fezes frescas foram conservadas em formalina 10% e acondicionadas a uma temperatura de 2~8°C até o momento do processamento.

2.3 Reação de Imunofluorescência Direta (RIFD)

As amostras fecais previamente conservadas foram processadas utilizando o kit comercial Merifluor® *Cryptosporidium/Giardia* (Bioscience), seguindo as instruções do fabricante. As lâminas foram observadas ao microscópio de fluorescência (Olympus BX41) com objetiva de 40x para a identificação de eventuais oocistos e cistos de acordo com a morfologia, tamanho e padrão de intensidade da imunofluorescência em relação ao controle positivo fornecido pelo kit (Figura 1).

2.4 Análise estatística

Os resultados obtidos foram analisados pelo teste Exato de Fisher, considerando uma margem de erro de 5%. O software BioEstat versão 5.3 foi utilizado para as análises (AYRES et al., 2007).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos animais avaliados, 59,6% (28/47) eram machos e 40,4% (19/47) eram fêmeas, distribuídos em uma faixa etária de três meses a treze anos, dos quais 25,53% (12/47) eram de raça, enquanto 72,34% (34/47) não possuíam raça definida e 2,1% (1/47) não foi informado.

De acordo com a RIFD, 12,8% dos animais (6/47) foram positivos para *Giardia* sp., divididos igualmente entre os sexos e não diferindo estatisticamente ($p = 0,6739$). Houve uma predominância de positividade para os animais sem raça definida (66,7%; 4/6) em relação aos de raça (33,3%; 2/6), entretanto também não foi verificado diferença entre os grupos ($p = 0,6405$). Em contrapartida, nenhum animal (0/47) foi positivo para *Cryptosporidium* sp.

A frequência total de positivos verificada para *Giardia* sp. (12,8%) está abaixo da encontrada por Saldanha-Elias et al. (2019), que detectaram 24,7% (23/93) de amostras positivas para parasitos gastrointestinais em cães recolhidos em área urbana de Belo Horizonte, dos quais 80,6 (75/93) foram positivos para *Leishmania infantum* em sorologia. Porém, os autores não deixam claro qual a proporção de animais coinfectados por ambos os agentes. Além disso, à medida em que o trabalho citado incluiu apenas cães de rua, o presente estudo avaliou predominantemente cães domiciliados (45/47). Há estudos na literatura que afirmam que cães abandonados ou mantidos em canis possuem mais chances de serem positivos para o parasito que cães domésticos (BOUZID et al., 2015; KATAGIRI; OLIVEIRA-SEQUEIRA, 2007).

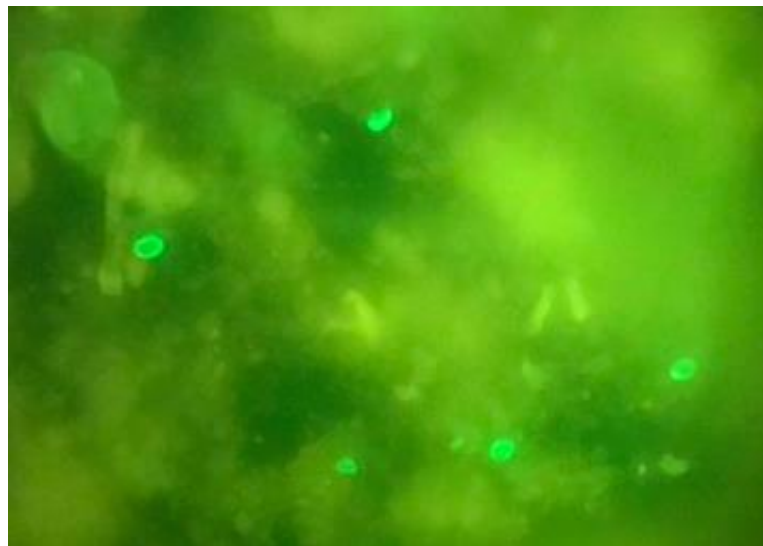


Figura 1. Cistos de *Giardia* sp. Reação de Imunofluorescência Direta.

A LVC na sua forma sintomática causa diversas manifestações clínicas, parte delas devido à formação de imunocomplexos que se depositam em órgãos e tecidos (TOEPP; PETERSEN, 2020), sendo hiperglonulinemia, linfadenomegalia generalizada, esplenomegalia, dermatite (esfoliativa, ulcerativa, nodular, papular e/ou pustular), onicogribose, uveíte, epistaxe, problemas renais, articulares e neurológicos algumas delas (SOLANO-GALLEGO et al., 2011). Pode também causar sinais gastrointestinais, como diarreia crônica (WARD et al., 2019). Já a infecção por *Giardia* sp. pode tanto ter uma evolução assintomática, como levar a quadros de diarreia, que podem ser intermitentes ou crônicos (BALLWEBER et al., 2010).

No presente estudo, nenhum dos animais coinfectados apresentava fezes diarreicas e apenas um apresentou registro de episódios diarreicos nos dias anteriores à coleta.

Os dados obtidos sugerem que a infecção por *Giardia* sp. não apresenta relação com a evolução da LVC, embora dados mais robustos fossem necessários para a realização de testes de significância. Esta interpretação estaria em concordância com os resultados encontrados por Tajebe et al. (2017), que ao comparar em um estudo de corte transversal o quadro clínico, parasitemia e resultados de exames laboratoriais de pacientes humanos positivos para leishmaniose visceral coinfectados por enteroparasitos (29/60) com os de pacientes positivos sem coinfecção (31/60), não encontraram diferença entre os grupos.

4 CONCLUSÃO

O presente estudo não demonstrou nenhuma atuação por parte da giardíase na evolução da LVC. Porém, é importante destacar que este é o primeiro estudo a relatar coinfecção por *L. (L.) infantum* e *Giardia* spp. em cães no Nordeste brasileiro e que a presença desses casos ressalta a importância de se realizar uma investigação ativa e diagnóstico acurado dessas infecções tendo em vista o papel desempenhado pelo cão como reservatório para ambos os parasitos, entrando no contexto de saúde pública.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADENUSI, A. A.; AKINYEMI, M. I.; AKINSANYA, D. Domiciliary cockroaches as carriers of human intestinal parasites in Lagos Metropolis, Southwest Nigeria: Implications for public health. **Journal of Arthropod-Borne Diseases**, v. 12, n. 2, p. 141–151, 8 ago. 2018.
- ANDREOTTI, R. et al. Occurrence of *Neospora caninum* in dogs and its correlation with visceral leishmaniasis in the urban area of Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 135, n. 3–4, p. 375–379, 18 fev. 2006.
- ANKARKLEV, J. et al. Behind the smile: Cell biology and disease mechanisms of *Giardia* species. **Nature Reviews Microbiology**, v. 8, n. 6, p. 413–422, 2010.
- ATTIPA, C. et al. Association between canine leishmaniosis and *Ehrlichia canis* co-infection: A prospective case-control study. **Parasites and Vectors**, v. 11, n. 1, p. 1–9, 2018.
- BALLWEBER, L. R. et al. Giardiasis in dogs and cats: Update on epidemiology and public health significance. **Trends in Parasitology**, v. 26, n. 4, p. 180–189, abr. 2010.
- BAXARIAS, M. et al. Does co-infection with vector-borne pathogens play a role in clinical canine leishmaniosis? **Parasites and Vectors**, v. 11, n. 1, p. 1–16, 2018.
- BOUZID, M. et al. The prevalence of *Giardia* infection in dogs and cats, a systematic review and meta-analysis of prevalence studies from stool samples. **Veterinary Parasitology**, v. 207, n. 3–4, p. 181–202, 2015.
- CERVONE, M. et al. Intestinal parasite infections in dogs affected by multicentric lymphoma and undergoing chemotherapy. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 63, n. January, p. 81–86, 2019.
- CONN, D. B. et al. Synanthropic flies as vectors of *Cryptosporidium* and *Giardia* among livestock and wildlife in a multispecies agricultural complex. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 7, n. 4, p. 643–652, dez. 2007.
- COTTON, J. A.; AMAT, C. B.; BURET, A. G. Disruptions of host immunity and inflammation by *giardia duodenalis*: Potential consequences for co-infections in the gastro-intestinal tract. **Pathogens**, v. 4, n. 4, p. 764–792, 2015.
- DUPONT, H. L. Persistent diarrhea: A clinical review. **Journal of the American Medical Association**, v. 315, n. 24, p. 2712–2723, 2016.
- FEKETE, E. et al. *Giardia* spp. and the gut microbiota: Dangerous liaisons. **Frontiers in Microbiology**, v. 11, n. January, p. 1–18, 2021.
- GETACHEW, S. et al. Non-biting cyclorrhaphan flies (Diptera) as carriers of intestinal human parasites in slum areas of Addis Ababa, Ethiopia. **Acta Tropica**, v. 103, n. 3, p. 186–194, set. 2007.

- GRACZYK, T. K.; KNIGHT, R.; TAMANG, L. Mechanical transmission of human protozoan parasites by insects. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 18, n. 1, p. 128–132, jan. 2005.
- JERICÓ, M. M.; ANDRADE NETO, J. P. DE; KOGIKA, M. M. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. 1st. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan LTDA, 2015.
- KATAGIRI, S.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G. Prevalence of dog intestinal parasites and risk perception of zoonotic infection by dog owners in São Paulo State, Brazil. **Zoonoses and Public Health**, v. 55, n. 8–10, p. 406–413, 3 set. 2008.
- MIYAMOTO, Y.; ECKMANN, L. Drug development against the major diarrhea-causing parasites of the small intestine, *Cryptosporidium* and *Giardia*. **Frontiers in Microbiology**, v. 6, n. November, p. 1–17, 2015.
- MOZOS, E. et al. Leishmaniosis and generalized demodicosis in three dogs: A clinicopathological and immunohistochemical study. **Journal of Comparative Pathology**, v. 120, n. 3, p. 257–268, 1999.
- NEVES, D. P. et al. **Parasitologia humana**. 13. ed. São Paulo: Atheneu, 2016. v. 2015
- OLIVEIRA, V. DA C. et al. Occurrence of *Leishmania infantum* in the central nervous system of naturally infected dogs: Parasite load, viability, co-infections and histological alterations. **PLoS ONE**, v. 12, n. 4, p. 1–15, 2017.
- PATEL, A. et al. A systematic review of zoonotic enteric parasites carried by flies, cockroaches, and dung beetles. **Pathogens**, v. 11, n. 1, p. 90, 13 jan. 2022.
- RAZA, A. et al. Gastrointestinal parasites in shelter dogs: Occurrence, pathology, treatment and risk to shelter workers. **Animals**, v. 8, n. 7, p. 1–23, 2018.
- SALDANHA-ELIAS, A. M. et al. Prevalence of endoparasites in urban stray dogs from Brazil diagnosed with *Leishmania*, with potential for human zoonoses. **Acta Parasitologica**, v. 64, n. 2, p. 352–359, 2019.
- SCHIMMING, B. C.; PINTO E SILVA, J. R. C. Canine Leishmania infections. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v. 19, p. 1–12, 2012.
- SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **Boletim epidemiológico - Doenças tropicais negligenciadas**. Brasília, DF: [s.n.].
- SOLANO-GALLEGO, L. et al. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. **Parasites and Vectors**, v. 4, n. 1, p. 86, 2011.
- TAJEBE, F. et al. Disease severity in patients with visceral leishmaniasis is not altered by co-infection with intestinal parasites. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 7, p. 1–16, 2017.
- TOEPP, A. J.; PETERSEN, C. A. The balancing act: Immunology of leishmaniosis. **Research in Veterinary Science**, v. 130, p. 19–25, 2020.
- WARD, P. M. et al. Leishmaniosis causing chronic diarrhoea in a dog. **Veterinary Record Case Reports**, v. 7, n. 1, p. 1–19, 2019.