

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA**

Allan de Jesus Mendonça Severino

**ENTEROPARASITOS EM CÃES DA CIDADE DE PORTEIRINHA, NORTE  
DE MINAS GERAIS, E ASSOCIAÇÃO COM A SINTOMATOLOGIA CLÍNICA DA  
LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA**

Belo Horizonte

2023

Allan de Jesus Mendonça Severino

**ENTEROPARASITOS EM CÃES DA CIDADE DE PORTEIRINHA, NORTE  
DE MINAS GERAIS, E ASSOCIAÇÃO COM A SINTOMATOLOGIA CLÍNICA DA  
LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Parasitologia.

Orientador: Prof. Dr. Stefan Michael Geiger

Belo Horizonte

2023

043

Severino, Allan de Jesus Mendonça.

Enteroparasitos em cães da cidade de Porteirinha, Norte de Minas Gerais, e associação com a sintomatologia clínica da Leishmaniose Visceral Canina [manuscrito] / Allan de Jesus Mendonça Severino. – 2023.

97 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Dr. Stefan Michael Geiger.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Parasitologia.

1. Parasitologia. 2. Cães. 3. Leishmaniose Visceral. 4. Enteropatias Parasitárias. 5. Ancylostoma. 6. Coinfecção. I. Geiger, Stefan Michael. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.

CDU: 576.88/89



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
COLEGIADO DO PROGRAMA DE GRADUAÇÃO PÓS-GRADUAÇÃO EM PARASITOLOGIA

**FOLHA DE APROVAÇÃO**

**DISSERTAÇÃO 455/10/2023**

**TÍTULO: "ENTEROPARASITOS EM CÃES DA CIDADE DE PORTEIRINHA, NORTE DE MINAS GERAIS, E ASSOCIAÇÃO COM A SINTOMATOLOGIA CLÍNICA DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA"**

**ALUNO: ALLAN DE JESUS MENDONÇA SEVERINO**

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: HELMINTOLOGIA**

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada, no dia **quatorze de julho de 2023**, pela Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação Parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais constituída pelos seguintes doutores:

**Lilian Lacerda Bueno**

UFMG

**Weslen Fabrício Pires Teixeira**

UFMG

**Stefan Michael Geiger**- Orientador

UFMG

Belo Horizonte, 14 de julho de 2023.



Documento assinado eletronicamente por **Stefan Michael Geiger, Membro**, em 02/08/2023, às 09:51, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de](#)

[13 de novembro de 2020.](#)



Documento assinado eletronicamente por **Weslen Fabricio Pires Teixeira, Professor do Magistério Superior**, em 03/08/2023, às 11:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Lilian Lacerda Bueno, Professora do Magistério Superior**, em 03/08/2023, às 18:55, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **2405271** e o código CRC **E00E8CF6**.

*Dedico esse trabalho a minha mãe **Angela**, a  
minha avó **Therezinha** e ao meu irmão **Kauã**.*

Esta dissertação foi produzida no **Laboratório de Helmintos Intestinais (LHI)** do ICB-UFMG, e com apoio das seguintes instituições e colaboradores:

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS – UFMG**

**- *Departamento de Parasitologia***

Dr. João Carlos França Silva

**- *Departamento de Morfologia***

Laboratório de Biologia das Interações Celulares

Professor Dr. Rodolfo Cordeiro Giunchetti

**- *Escola de Veterinária***

Laboratório de Patologia Clínica da Escola de Veterinária

Professor Dr. Paulo Ricardo de Oliveira Paes

**INSTITUIÇÕES PÚBLICAS DO MUNICÍPIO**

Prefeitura Municipal de Porteirinha – MG

Setor de Endemias (Vigilância em saúde)

**SUPORTE FINANCEIRO**

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG.

Fundação Nacional de Saúde (FUNASA).

Prefeitura de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a minha mãe **Angela**, por nunca medir esforços para eu alcançar meus sonhos e objetivos. Não tenho palavras para agradecer o incentivo e o apoio que você sempre me ofereceu na minha jornada educacional. Sua dedicação e comprometimento foram fundamentais para que eu pudesse completar mais uma etapa.

Ao meu orientador, Prof. Dr. **Stefan Michael Geiger**, minha sincera gratidão, por me acolher como aluno em seu laboratório, sou imensamente grato por todo aprendizado científico que obtive, pela amizade, pelos momentos de descontração, pelas oportunidades de desenvolver diferentes trabalhos de campo, os quais me proporcionaram imensa realização pessoal e profissional.

Eterno agradecimento também à minha orientadora da graduação, Profa. Dra. **Sueli de Souza Lima**, por me inserir no mundo da parasitologia, por me incentivar a trilhar o caminho da pesquisa, pela amizade e por todo aprendizado científico. E ao **Alex Rocha**, por todo apoio e amizade durante os anos no Laboratório de Taxonomia e Ecologia Odile Bain.

Aos integrantes do Laboratório de Helmintoses Intestinais, **Paulo Coelho, Nathália Oliveira, Dharliton Gomes, Bianca Leal e Beatriz Peçanha** por todo o apoio, boas ideias, acolhimento e descontração, muito obrigado. Não teria conseguido concluir esse projeto sem a colaboração e apoio de cada um de vocês.

Ao Prof. Dr. **Rodolfo Cordeiro Giunchetti** e ao Dr. **João Carlos França-Silva** pela oportunidade de desenvolver esse projeto em Porteirinha. Essa experiência me permitiu crescer pessoalmente e profissionalmente, expandindo minha perspectiva como cientista e do meu conhecimento em Parasitologia.

Aos integrantes do Laboratório de Biologia das Interações Celulares, **André Tetzl e Maykelin Fuentes**, a **Lúcia** e ao **Marlon**, obrigado por terem sido uma equipe tão incrível e por tornar essa experiência do campo tão enriquecedora e agradável. Os campos em Porteirinha estarão para sempre em minha memória.

Ao **Saulo**, e a todos os funcionários do Centro de Endemias de Porteirinha, por toda a disponibilidade e pela fundamental ajuda em todos os momentos do desenvolvimento deste trabalho.

A Prof. Dra. **Cíntia Aparecida de Jesus Pereira**, gostaria de expressar minha gratidão à generosa contribuição que gentilmente me cedeu um dos materiais essenciais para a minha pesquisa.

Ao Prof. Dr. **Felipe Bisaggio Pereira**, por toda disponibilidade, ajuda na produção e análise dos dados estatísticos deste estudo.

Ao Msc. **Hudson Andrade dos Santos**, do Dep. de Parasitologia (ICB, UFMG) por toda a ajuda no processo de identificação e processamento dos helmintos.

Ao meu amigo **Alexander**, gratidão por toda a amizade que construímos desde a graduação, pelos bons momentos que compartilhamos juntos, pelas risadas e pelo apoio que você sempre me ofereceu. Sou muito sortudo por ter um amigo tão incrível e leal como você.

Ao meu amigo **Pietro**, pela amizade e a grande ajuda na produção dos mapas dessa dissertação.

À **Sumara Aparecida Guilherme** e **Sibele Abreu** da pós-graduação em Parasitologia. Por todo o acolhimento durante o meu processo seletivo até a finalização do projeto. Muito obrigado!

À **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG)**, pela concessão da bolsa de mestrado.

Agradeço a **Universidade Federal de Minas Gerais**, o **Instituto de Ciências Biológicas**, a todos os funcionários e professores do **Programa de Pós-graduação em Parasitologia** pela oportunidade, conhecimento e todo o suporte para a realização deste trabalho.

## RESUMO

Os cães são animais de companhia presentes em diferentes espaços compartilhados com seres humanos, no entanto, o contato próximo pode facilitar a transmissão de zoonoses, como a leishmaniose visceral canina (LVC). Além disso, cães podem hospedar diversos outros endo- e ectoparasitos que podem afetar, dentro de um cenário de saúde única, o peridomicílio, parques e praças públicas. Diante disso, esse trabalho teve como objetivo verificar a ocorrência de enteroparasitos em cães domésticos soropositivos e soronegativos para LVC e associar os helmintos intestinais com a sintomatologia clínica da leishmaniose visceral canina. Um total de 47 cães soropositivos e 24 cães soronegativos para LVC foram incluídos no estudo. Para os cães soropositivos foram realizados exame clínico, hemograma, eutanásia, necropsia e coleta de fezes. Para os cães soronegativos, apenas a coleta de material fecal. Os 47 cães soropositivos para LVC foram agrupados em estadiamentos baixo (40,4%), médio (34,04%) e grave (25,5%) conforme os sinais clínicos apresentados. Entre os sinais clínicos mais frequentes nos grupos foram observados alopecia, caquexia, onicogribose e linfadenopatia generalizada. O grupo de cães monoinfectados por *L. infantum* apresentaram anemias dos tipos macrocítica hipocrômica e normocítica normocrômica, enquanto o grupo dos coinfectados por helmintos intestinais, apresentaram macrocítica hipocrômica ( $p= 0.0455$ ) e microcítica hipocrômica ( $p= 0.01963$ ). Pelos métodos coproparasitológicos, os cães soropositivos apresentaram frequência de 41,8% para *Ancylostoma* sp., 27,9% para *Giardia* sp., 9,3% para *Dipylidium caninum*, 4,6% para *Toxocara canis* e 4,6% para *Sarcocystis* sp.. Nos cães com LVC resultou uma correlação positiva entre o número de fêmeas de ancilostomídeos recuperados durante a necropsia e carga parasitária determinada nas fezes e indicada por ovos por grama de fezes (OPG) (odds ratio: 1.3258). Para os cães soronegativos, a frequência de enteroparasitos nas amostras fecais foi de 29,1% para *Ancylostoma* sp., 16,6% para *Giardia* sp., 12,5% para *Cystoisospora* sp., 4,16% para *Spirometra* e 4,16% para *Sarcocystis* sp.. Nos animais soropositivos para LVC, a presença e a quantidade de helmintos intestinais aumentou a chance do desenvolvimento de sinais clínicos médios e graves para a LVC (odds ratio: 3.3621 e 2.7969). Em relação a carga parasitária de *Leishmania* na medula óssea dos cães soropositivos para LVC, os cães do estadiamento grave apresentaram a maior mediana (12,92 cp/ $\mu$ l) comparado aos cães do estadiamento médio (3,20 cp/ $\mu$ l) e baixo (0,68 cp/ $\mu$ l). Quanto aos parasitos intestinais, *Ancylostoma* sp. e *Dipylidium caninum*, foram as espécies mais prevalentes nos cães eutanasiados. Por fim, mapas sobre a distribuição de cães testados por sorologia e casos positivos para LVC e para parasitos intestinais da zona urbana de Porteirinha, demonstraram uma sobreposição e distribuição semelhante. Diante dos resultados obtidos, concluímos que a coinfeção por helmintos intestinais é um fator agravante para o desenvolvimento da leishmaniose visceral em cães, o que refletiu nos exames clínicos e nas alterações hematológicas dos animais. Em relação à saúde única no município, a ampla presença de parasitos intestinais com potencial zoonótico em cães com tutores chama atenção e requer medidas de controle com tratamentos periódicos dos animais, para evitar a contaminação de ambientes externos às residências.

Palavras-chave: cães; leishmaniose visceral canina; enteroparasitos; *Ancylostoma* sp.; coinfeção; Porteirinha; norte de Minas Gerais.

## ABSTRACT

Dogs are our pets and are present in different spaces shared with human beings. However, close or intimate contact can facilitate the transmission of zoonoses, such as canine visceral leishmaniasis (CVL). Furthermore, dogs can serve as hosts for many endo- and ectoparasites, which, within a one health scenario, may affect the close neighborhood, as well as public spaces like parks and others. Therefore, this study aimed to investigate the occurrence of enteroparasites in seropositive and seronegative, domestic dogs for CVL and search for associations between intestinal helminth infections and clinical symptoms of CVL. A total of 47 seropositive dogs and 24 seronegative dogs for CVL were included in the study. For seropositive dogs, clinical examination, blood counts, euthanasia, necropsy, and collection of fecal samples were done. For seronegative dogs, the collection of only one fecal sample was done. The 47 seropositive dogs were classified into light (40.4%), medium (34.04%) and severe (25.5%) clinical degrees for CVL, according to the clinical signs presented. Among the frequently registered clinical signs were alopecia, cachexia, onychogryphosis and generalized lymphadenopathy. The group of those monoinfected by *L. infantum* presented anemia of the macrocytic hypochromic and normocytic normochromic types, while the group of those coinfecting with intestinal helminths presented macrocytic hypochromic ( $p= 0.0455$ ) and microcytic hypochromic anemia ( $p= 0.01963$ ). According to coproparasitological methods, seropositive dogs showed a frequency of 41.8% for *Ancylostoma* sp., 27.9% for *Giardia* sp., 9.3% for *Dipylidium caninum*, 4.6% for *Toxocara canis* and 4.6% for *Sarcocystis* sp.. In dogs with CVL there was a positive correlation between the recovery of adult female hookworms and the measured parasite load in fecal samples, as defined as eggs per gram of feces (EPG) (odds ratio: 1.3258). For seronegative dogs, the frequency of intestinal parasites was 29.1% for *Ancylostoma* sp., 16.6% for *Giardia* sp., 12.5% for *Cystoisospora* sp., 4.16% for *Spirometra* and 4.16% for *Sarcocystis* sp.. Besides that, dogs with VL, the presence and the number of intestinal helminths increased the risk for the development of medium or severe clinical signs for CVL (odds ratio: 3.3621 and 2.7969, respectively). Concerning the *Leishmania* parasite load in the bone marrow of dogs seropositive for CVL, dogs with severe, clinical staging had the highest median parasite load (12.92 cp/ $\mu$ l), compared to dogs with medium staging (3.20 cp/ $\mu$ l) and low, clinical staging (0.68 cp/ $\mu$ l). Regarding intestinal parasites, *Ancylostoma* sp. and *Dipylidium caninum*, were the most frequent parasites in euthanized dogs. Finally, mapping of serological testing of dogs and distribution of seropositive LVC cases and of the distribution of intestinal parasites in the urban area of Porteirinha showed overlapping and a similarity in distribution. In view of the results obtained, we concluded that co-infection with intestinal helminths is an aggravating factor for the development of visceral leishmaniasis in dogs, which was reflected by increased clinical signs of CVL and hematological alterations in coinfecting animals. In regard to the scenario of One Health in the municipality, the elevated frequency of intestinal parasites with zoonotic potential in dogs from pet owners calls attention and points to the necessity of control measures with periodic treatment of domestic animals, in order to avoid contamination of peridomestic spaces, public parks and nearby environments.

**Keywords:** dogs; canine visceral leishmaniasis; enteroparasites; *Ancylostoma* sp.; co-infection; Porteirinha; north of Minas Gerais.

## LISTA DE FIGURA

<b>Figura 1:</b> Características morfológicas de <i>Ancylostoma</i> sp.....	20
<b>Figura 2:</b> Características morfológicas de <i>Toxocara canis</i> .....	23
<b>Figura 3:</b> Características morfológicas de <i>Dipylidium caninum</i> .....	26
<b>Figura 4:</b> Características morfológicas de <i>Trichuris vulpis</i> .....	28
<b>Figura 5:</b> Características morfológicas de <i>Giardia</i> sp.....	30
<b>Figura 6:</b> Ciclo biológico de <i>Leishmania (Leishmania) infantum</i> no hospedeiro invertebrado e nos hospedeiros vertebrados.....	33
<b>Figura 7:</b> Flebotomíneo fêmea.....	34
<b>Figura 8:</b> Características morfológicas de <i>Leishmania (Leishmania) infantum</i> .....	35
<b>Figura 9:</b> Sinais clínicos característicos da leishmaniose visceral canina.....	36
<b>Figura 10:</b> Mapas com imagens de satélite com a localização do município de Porteirinha..	42
<b>Figura 11:</b> Distribuição das raças e portes dos cães soropositivos para LVC do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.....	50
<b>Figura 12:</b> Distribuição das raças e portes dos cães soronegativos para LVC do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.....	51
<b>Figura 13:</b> Hemácias infectadas com trofozoítos de <i>Babesia</i> sp.....	53
<b>Figura 14:</b> Formas parasitárias diagnosticadas em amostras fecais de cães soropositivos do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.....	54
<b>Figura 15:</b> Formas parasitárias encontradas em amostras fecais de cães soronegativos para LVC no município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.....	56
<b>Figura 16:</b> Fluxograma de trabalho para o diagnóstico de parasitoses intestinais.....	57
<b>Figura 17:</b> Distribuição espacial dos cães examinados por ELISA in house sanduíche na região urbana de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.....	65
<b>Figura 18:</b> Distribuição espacial de enteroparasitos em cães da região urbana de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.....	66

## LISTA DE TABELA

<b>Tabela 1:</b> Sinais clínicos dos cães soropositivos para leishmaniose visceral do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.....	52
<b>Tabela 2:</b> Frequência de enteroparasitos em cães soropositivos para LVC (N=47) do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.....	54
<b>Tabela 3:</b> Classificação por carga parasitária (OPG), pelo método de McMaster, dos cães parasitologicamente positivos para ancilostomídeos (N= 16) ou <i>Toxocara canis</i> (N= 2) de cães soropositivos para LVC do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.....	55
<b>Tabela 4:</b> Análise estatística pelo modelo de Poisson para associação entre fêmeas e adultos de <i>Ancylostoma</i> e OPG dos cães soropositivos para LVC .....	55
<b>Tabela 5:</b> Frequência de enteroparasitos em cães soronegativos para LVC (N=24) do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil .....	56
<b>Tabela 6:</b> Média da análise hematológica de cães soropositivos para LVC monoinfectados por <i>L. infantum</i> e coinfectados com helmintos intestinais do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.....	58
<b>Tabela 7:</b> Média da análise hematológica para presença e ausência de infecção por <i>Ancylostoma</i> sp. em cães soropositivos para LVC do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.....	58
<b>Tabela 8:</b> Análise do tipo de anemias nos cães soropositivos para LVC monoinfectados por <i>L. infantum</i> e coinfectados com helmintos intestinais do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil .....	59
<b>Tabela 9:</b> Análise do leucograma dos cães soropositivos para LVC monoinfectados por <i>L. infantum</i> e coinfectados com helmintos intestinais do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil .....	59
<b>Tabela 10:</b> Frequência de helmintos intestinais em cães soropositivos necropsiados do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.....	60
<b>Tabela 11:</b> Frequência, carga parasitária média, intensidade média e amplitude de variação de helmintos intestinais em 47 cães necropsiados e soropositivos para LVC do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.....	61
<b>Tabela 12:</b> Relação da frequência de parasitoses intestinais com a idade dos cães soropositivos para LVC do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.....	61
<b>Tabela 13:</b> Prevalência de helmintos intestinais e o sexo dos cães soropositivos para LVC necropsiados do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.....	62
<b>Tabela 14:</b> Tabela comparativa entre a carga parasitária de <i>L. infantum</i> na medula óssea,	

helminhos intestinais adultos e carga parasitária encontrada nas fezes (OPG) de coes soropositivos para LVC do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.....63

**Tabela 15:** Tabela de associaao entre a carga parasitária de *L. infantum* na medula óssea e *Ancylostoma* com variáveis dos coes soropositivos para LVC do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.....64

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- CDC** – Centros de Controle e Prevenção de Doenças. Do inglês: *Centers for Disease Control and Prevention*
- CEUA** – Comitê de Ética no Uso de Animais
- CPM** – Carga parasitária na medula óssea
- Cm** – Centímetros
- DPP** – Plataforma de Duplo Caminho. Do inglês: *Dual Path Platform*
- DTNs** – Doenças tropicais negligenciadas
- ELISA** – Ensaio Imunoenzimático. Do inglês: *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*
- FIG.** – Figura
- GL** – °Gay Lussac
- GPS** – Sistema de Posicionamento Global. Do inglês: *Global Positioning System*
- HPJ** – Hoffman, Pons e Janer
- IBGE** – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- ICB** – Instituto de Ciências Biológicas
- IDH** – Índice de Desenvolvimento Humano
- KCl** – Cloreto de potássio
- LMC** – Larva *migrans* cutânea
- LMO** – Larva *migrans* ocular
- LMV** – Larva *migrans* visceral
- LV** – Leishmaniose visceral
- LVC** – Leishmaniose visceral canina
- MG** – Minas Gerais
- MIF** – Mercúrio Iodo Formol
- NaCl** – Cloreto de sódio
- OPG** – Ovos por grama de fezes
- PCR** – Reação em Cadeia da Polimerase. Do inglês: *Polymerase Chain Reaction*
- PCR-RFLP** – Reação em Cadeia da Polimerase - Polimorfismo de Restrição do Fragmento Amplificado. Do inglês: *Polymerase Chain Reaction: Restriction Fragment Length Polymorphism*
- qPCR** – Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real. Do inglês: *Quantitative Polymerase Chain Reaction*
- RIFI** – Reação de Imunofluorescência Indireta

**SRD** – Sem raça definida

**Th1** – Linfócitos T helper tipo 1

**Th2** – Linfócitos T helper tipo 2

**rpm** – Rotação por minuto

**UFMG** – Universidade Federal de Minas Gerais

**WHO** – Organização Mundial de Saúde. Do inglês: *World Health Organization*

**µm** – micrômetro

## Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	17
1.1 Zoonoses e saúde pública.....	17
1.2 Relação humano-cão.....	17
1.3 Enteroparasitoses caninas.....	18
1.4 Leishmaniose visceral canina.....	33
2 JUSTIFICATIVA.....	40
3 OBJETIVOS.....	41
3.1 Geral.....	41
3.2 Específicos.....	41
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
4.1 Considerações éticas.....	42
4.2 Área de estudo.....	42
4.3 Amostra canina.....	43
4.4 Exame sorológico e hematológico de cães .....	43
4.5 Exame clínico e eutanásia.....	44
4.6 Necropsia e coleta de amostras.....	44
4.7 Esfregaço sanguíneo e carga parasitária de <i>Leishmania infantum</i> .....	45
4.8 Diagnóstico coproparasitológico.....	46
4.9 Identificação de enteroparasitos e quantificação de helmintos adultos.....	47
4.10 Mapeamento da distribuição de infecções zoonóticas .....	49
4.11 Análise estatística.....	49
5 RESULTADOS.....	50
6 DISCUSSÃO .....	67
7 CONCLUSÃO .....	81
REFERÊNCIAS.....	82
ANEXOS.....	96

## **1 INTRODUÇÃO**

### **1.1 Zoonoses e saúde pública**

As zoonoses são doenças transmissíveis de animais silvestres e domésticos aos seres humanos. Existem mais de 200 doenças consideradas zoonoses a partir de diferentes agentes infecciosos (vírus, bactérias, protozoários, fungos e helmintos) que podem ser transmitidos por vetores biológicos ou água e alimentos contaminados (MAVROIDI, 2008). Entre os organismos zoonóticos, os helmintos e protozoários constituem-se como os principais agentes de infecções acidentais. A ausência de diagnóstico e tratamento adequado dessas infecções acidentais impede o controle de novas transmissões. Algumas zoonoses parasitárias estão classificadas como doenças tropicais negligenciadas (DTNs), com uma associação forte à pobreza, afetando principalmente países tropicais e subtropicais com notabilidade para saúde pública (WHO, 2020).

Algumas parasitoses humanas são consideradas zoonoses e demandam vigilância epidemiológica e sanitária devido a fácil disseminação associada a variedade de meios de transmissão. A transmissão de zoonoses está associada a alterações ambientais por ações antrópicas, insalubridade e interação próxima de animais (KARESH, 2012). O controle no avanço de novas infecções por zoonoses pode ser prevenido por medidas profiláticas, como saneamento básico, vigilância e educação em saúde (CHOMEL, 2003).

Existem aproximadamente 60 zoonoses listadas como doenças tropicais negligenciadas que possuem os animais de companhia como hospedeiros definitivos e reservatórios (INÁCIO et al., 2021). Dentre os animais transmissores, destacam-se os cães domésticos (*Canis familiaris* Linnaeus, 1758), cujas infecções podem ser transmitidas ao ser humano por vetores, mordidas, secreções e formas infectantes (ovos, larvas, cistos e oocistos) liberadas no ambiente com as fezes (ROBINSON; PUGH, 2002). Entre as transmissões indiretas por cães destacam-se a criptosporidiose, giardíase, leishmaniose visceral, equinococose, dipilidiose, estrogiloidíase e manifestações de larva *migrans* cutânea, ocular e visceral (ROBERTSON; THOMPSON, 2002).

### **1.2 Relação humano-cão**

A relação humana com o cão é notória em áreas rurais e urbanas. Desde a sua domesticação, a presença desses animais no cotidiano é observada em diversas atribuições conforme as diferentes culturas e ocupações socioeconômicas de tutores devido aos mútuos benefícios compartilhados (CABRAL; SAVALLI, 2020). Ao longo do deslocamento humano pelos continentes, o número populacional de cães aumentou exponencialmente devido ao fácil

manejo e adequação aos diferentes ambientes. Esses canídeos representam uma população mundial aproximada de 700 milhões de indivíduos em domicílios e espaços peridomiciliares (HUGHES; MACDONALD, 2013). Contudo, o aumento no número de cães errantes pode representar um risco para a saúde humana e animal. Em vista da aproximação entre humanos e cães domésticos, a utilização regular de fármacos é indispensável para a manutenção da integridade do bem-estar animal e humano (WRIGHT et al., 2020).

No Brasil, de acordo com a Pesquisa Nacional da Saúde realizada em 2019, estima-se que 46,1% dos domicílios possuem pelo menos um cão, que soma uma população estimada de 54,2 milhões de indivíduos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). No entanto, o aumento no número de cães abandonados pode contribuir potencialmente, para agravamentos de transtornos urbanos. Dentre os problemas trazidos pelo abandono de cães, tem-se a procriação descontrolada, aumento de poluição ambiental por dejetos, acidentes de trânsito, ataques a animais silvestres, mordeduras e a propagação de epizootias e zoonoses (SILVA et al., 2013). Diante disso, a estimativa em relação a quantidade de cães domésticos e errantes presentes em municípios e cidades é imprescindível para decisões de saúde pública e aprimoramento da mobilidade urbana. Fatores como a ausência de políticas públicas, diagnóstico e medidas profiláticas contribuem para a persistência de parasitoses zoonóticas em cidades e municípios do Brasil e no mundo (MCCARTHY; MOORE, 2000; KATAGIRI; OLIVEIRA-SEQUEIRA, 2007).

### **1.3 Enteroparasitoses caninas**

A presença de parasitos intestinais no país é relatada em estudos de diferentes localidades e pode apresentar pouca diferença entre as espécies de acordo com as regiões geográficas. Estima-se que no Brasil existam cerca de 22 espécies de protozoários, 34 espécies de platelmintos, 20 espécies de nematoides, 1 acantocéfalo e 31 de artrópodes que usualmente infectam e parasitam os cães domésticos (DANTAS-TORRES; OTRANTO, 2014). As infecções causadas por enteroparasitos apresentam-se como as principais notificações de distúrbios intestinais em consultórios veterinários e centros de pesquisas científicas (KATAGIRI; OLIVEIRA-SEQUEIRA, 2007).

A coinfeção entre helmintos e protozoários intestinais em cães é reportada no mundo inteiro e apresenta elevada frequência de infecção. Diferentes trabalhos na literatura (GENNARI et al., 1999; MUNDIM et al., 2001; FUNADA et al., 2007; PALMER et al., 2008; KLIMPEL et al., 2010; STALLIVIERE et al., 2013; SALDANHA-ELIAS et al., 2019; LABRUNA et al., 2022) apontam *Ancylostoma caninum* Ercolani, 1859, *Ancylostoma*

*braziliense* Faria, 1910, *Toxocara canis* Werner, 1782, *Dipylidium caninum* Linnaeus, 1758, *Trichuris vulpis* Froelich, 1789, *Strongyloides* sp. Grassi, 1879, *Taenia* spp. Linnaeus, 1758, *Giardia* sp. Kunstler, 1882, *Cryptosporidium* sp. Tyzzer, 1907, *Cystoisospora* sp. Frenkel, 1977 e *Sarcocystis* sp. Lankester, 1882 como os enteroparasitos de maior recorrência em cães domésticos e errantes. No geral, as helmintoses e protozooses intestinais possuem sinais clínicos semelhantes, como anemia, emagrecimento e diarreia com muco e sangue, o que dificulta o diagnóstico exato por exame clínico (GENNARI, 2015). Desta forma e devido a grande similaridade entre os sinais clínicos, o diagnóstico laboratorial se torna uma ferramenta importante na identificação da infecção para escolha do tratamento adequado. Além do impacto veterinário pela possibilidade na propagação de zoonoses, essas infecções espoliam o hospedeiro e podem agravar doenças crônicas existentes nesses animais (VANPARIJS et al., 1991; SZWABE; BLASZKOWSKA, 2017).

### **1.3.1 *Ancylostoma braziliense*, *Ancylostoma caninum***

#### **1.3.1.1 Epidemiologia**

A distribuição de infecções por *A. braziliense* e *A. caninum* é relatada em diversas regiões do planeta, principalmente nas áreas subtropicais e tropicais. No Brasil, estudos parasitológicos com fezes de cães detectaram a presença de ancilostomídeos em todas as regiões do país, sendo assim, ações de controle são necessárias para evitar contaminação ambiental (CAPUANO; ROCHA, 2006; RODRIGUES et al., 2014; DE LIMA ROSALES; MALHEIROS, 2017; DOS SANTOS ZANETTI et al., 2019; FERRAZ et al., 2019). O controle da parasitose é realizado por ação terapêutica de fármacos que visem a eliminação de vermes adultos no hospedeiro e conseqüentemente diminuição da eliminação de ovos e contaminação ambiental (FREITAS, 1977). Ainda, a higiene do local onde os cães transitam pode dificultar o desenvolvimento de larvas e impedir o sucesso de infecção. Áreas com grande incidência de sol podem também auxiliar no controle, visto que a temperatura elevada e a falta de umidade, alteram a viabilidade dos ovos e larvas (GENNARI, 2015).

#### **1.3.1.2 Morfologia e ciclo biológico**

Entre as infecções helmínticas de maior prevalência nos cães, destacam-se os ancilostomídeos *A. braziliense* e *A. caninum*, responsáveis pela ancilostomíase canina. Esses nematoides são parasitos de intestino delgado, possuem o corpo delgado, de coloração esbranquiçada e hábito hematofágico (TAYLOR; COOP; WALL, 2015). Os ovos das duas espécies são semelhantes em fezes frescas, possuem uma casca fina e podem conter 2-8

blastômeros com tamanho variável de 75-95 x 41-45  $\mu\text{m}$  (Fig. 1-A). Os adultos das duas espécies possuem dimorfismo sexual, as fêmeas são maiores que os machos, medindo 9-20 mm e 7,5-12 mm, respectivamente. Os machos possuem na porção posterior uma estrutura auxiliar de cópula, denominada bolsa copuladora (Fig. 1-B). As fêmeas possuem uma cauda apontada e uma estrutura terminal filiforme. Esses ancilostomídeos possuem estruturas bucais que são importantes no auxílio da fixação na mucosa intestinal e de caráter taxonômico. Observa-se em *A. caninum*, uma cápsula bucal grande com um par de três dentes marginais (Fig. 1-C). E para *A. braziliense* um par de placas dentárias dorsais proeminentes (Fig. 1-D).

O ciclo biológico das duas espécies é de forma direta com infecção comumente pela penetração da larva filarióide L3 na pele ou pela ingestão de hospedeiros paratênicos infectados. Após a infecção, as larvas migram pela corrente sanguínea até os pulmões, local onde ocorre a muda para L4 nos brônquios, sendo deglutidas e chegam ao intestino delgado onde ocorre a muda final e desenvolvimento para o verme adulto. Ao atingirem a maturidade sexual, os adultos fazem a cópula e a fêmea realiza a oviposição. Os ovos são então eliminados junto às fezes do hospedeiro. Quando a infecção acontece por ingestão da larva filarióide, as larvas podem penetrar ativamente pela mucosa oral ou pela mucosa intestinal e realizar a migração pulmonar. Independente do trajeto das larvas, a infecção por ancilostomídeos tem um período pré-patente de 14-21 dias (URQUHART et al., 1996).

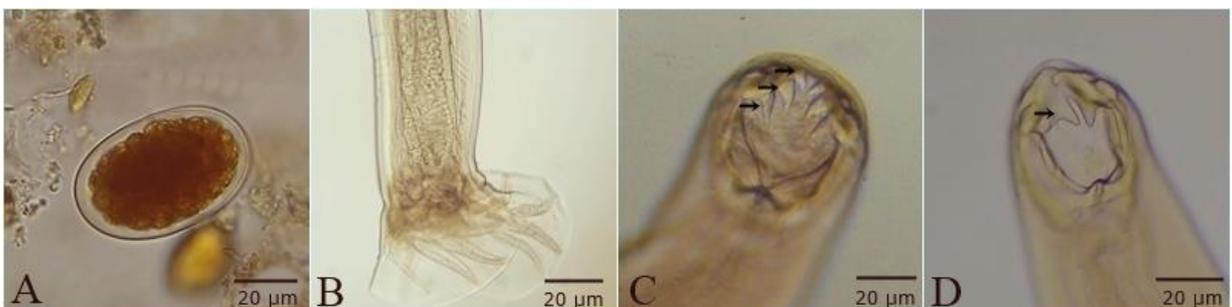


Figura 1 – Características morfológicas de *Ancylostoma* sp.. (A) Ovo de ancilostomídeo, com casca hialina e blastômeros formados; (B) bolsa copulatória do macho; (C) cavidade bucal de *Ancylostoma caninum*, com um par de três dentes bucais de tamanho igual (♣); (D) cavidade bucal de *Ancylostoma braziliense*, com um par de dois dentes bucais desiguais (♣). Fonte: Allan de J. M. Severino.

### 1.3.1.3 Sinais clínicos e patogenia

Em cães, a sintomatologia observada por infecções por ancilostomídeos são anemia, diarreia, melena, vômitos e perda de peso, sobretudo em cães jovens infectados via lactação (LEFKADITIS et al., 2006). Em vista da migração das larvas pelo tecido pulmonar, na fase aguda, os animais podem apresentar cansaço e dificuldade respiratória em infecções com

grande quantidade de larvas. O cão pode também apresentar irritação e inflamação no local de penetração da larva. Devido ao hábito hematofágico do parasito, os animais podem desenvolver anemia hemorrágica aguda ou crônica e conseqüentemente perda de ferro. Os ancilostomídeos adultos retiram cerca de 0,1 mL de sangue do hospedeiro por dia, e por isso, em infecções maciças, os cães são diagnosticados com anemia microcítica hipocrômica, diarreia, hemorragias, pelagem opaca e emagrecimento (URQUHART et al., 2001).

#### **1.3.1.4 Diagnóstico**

O diagnóstico da infecção pode ser constituído de uma anamnese com exame dos sinais clínicos associado a exame hematológico a fim de verificar eosinofilia. Ainda assim, para confirmação da infecção, métodos de diagnóstico parasitológico de fezes de rotina (método de sedimentação espontânea, método de Willis) são recomendados para encontrar os ovos.

#### **1.3.1.5 Aspectos zoonóticos**

Esses helmintos possuem impacto zoonótico devido a manifestação de larva *migrans* cutânea (LMC) e enterite eosinofílica provocadas pela presença e migração de larvas infectantes em tecidos e órgãos humanos (WALKER et al., 1995). A LMC, está associada ao contato direto do ser humano ao solo contaminado com larvas filarióides, decorrentes da liberação de ovos em fezes de cães. Ao entrar em contato com a epiderme, as larvas migram para o tecido subcutâneo desenvolvendo reações imunológicas como dermatose, pruridos e erupções cutâneas (SANTARÉM; GIUFFRIDA; ZANIN, 2004). Essas reações são visualizadas comumente em pés, pernas, mãos e nádegas que são regiões mais expostas em caixas de areia de parques e praias e menos frequente na região facial. Embora não haja gravidade em muitas infecções, a utilização de tratamento tópico à base de tiabendazol pode ser necessária para melhora clínica e evitar infecções secundárias (LIMA; CAMARGO; GUIMARÃES, 1984). Essa infecção ocorre em maior frequência em crianças, devido ao hábito de brincar em contato direto com o solo. A enterite eosinofílica está associada à presença de larvas na mucosa intestinal de seres humanos, embora não atinjam a maturidade adulta, podem desencadear episódios autolimitantes de náusea, dor abdominal, diarreia e emagrecimento (CABRERA; E SILVA, 2008).

### 1.3.2 *Toxocara canis*

#### 1.3.2.1 Epidemiologia

A toxocaríase é uma doença de distribuição mundial, principalmente nos trópicos. No Brasil é uma das infecções recorrentes em cães domésticos e errantes devido a diferentes formas e vias de infecção pelo ciclo biológico. Fatores como a ausência de diagnóstico, grande liberação de ovos nas fezes do hospedeiro adequado, resistência do ovo no solo e cadelas que podem albergar larvas na musculatura, permitem que o parasito tenha uma fácil disseminação e propagação pelo ambiente (DESPOMMIER, 2003). Como prevenção, é recomendado o descarte correto de fezes, vermifugação periódica em casos de histórico da infecção e impedir o acesso de cães a áreas recreativas devido ao risco de contaminação do solo e ao potencial zoonótico do parasito.

#### 1.3.2.2 Morfologia e ciclo biológico

O ascarídeo *Toxocara canis* é um nematoide parasito de intestino delgado de canídeos pertencente à família Ascaridoidea. É um helminto de coloração esbranquiçada, e tamanho variável, os machos medem cerca de 10 cm e as fêmeas podem chegar a 18 cm. Os machos possuem dois espículos e uma cauda com projeção digitiforme. Os helmintos se alimentam de substâncias digeridas disponíveis no intestino, e alguns casos do tecido intestinal. A porção anterior é elíptica e cercada por três lábios envolvidos na boca e com a notável presença de asas cefálicas longas e estreitas (Fig. 2-A). Os ovos de *T. canis* (Fig. 2-B) possuem uma membrana grossa e rugosa de coloração castanho-escuro e medindo cerca de 90 x 75 µm (TAYLOR; COOP; WALL, 2015).

Os hospedeiros definitivos de *T. canis* são canídeos predatórios, como cães e raposas, no entanto infecções em gatos domésticos também já foram descritas (MUNDIM et al., 2004). Em cães, a infecção por *T. canis* ocorre via transmamária, transplacentária por larvas em hipobiose, ingestão de hospedeiro paratênico infectados ou ingestão de ovos larvados (OVERGAAUW; NEDERLAND et al., 1997). A forma básica de infecção por *T. canis* ocorre pela ingestão de ovos embrionados no ambiente, contendo a larva L3. Após a ingestão dos ovos larvados ocorre a eclosão das larvas no intestino, penetração da parede intestinal e subsequente migração da L3 pela corrente sanguínea até fígado e pulmão (DESPOMMIER, 2003; SCHNIEDER; LAABS; WELZ, 2011). No pulmão, as larvas sofrem a muda, seguem para faringe, são deglutidas e no intestino desenvolvem a forma adulta. No intestino delgado, os adultos ao atingir a maturidade sexual fazem a cópula, a fêmea faz a ovipostura na luz do intestino, e os ovos eliminados juntos às fezes. Durante a fase larval, em cadelas, as larvas

podem migrar para tecidos musculares e infectar os filhotes pela via transmamária e transplacentária (GILLESPIE, 1988). A infecção pela via transmamária ocorre durante a lactação quando as larvas L3 são ingeridas no leite pelo filhote. E a via transplacentária pela migração de larvas na corrente sanguínea da placenta até os pulmões dos neonatos.

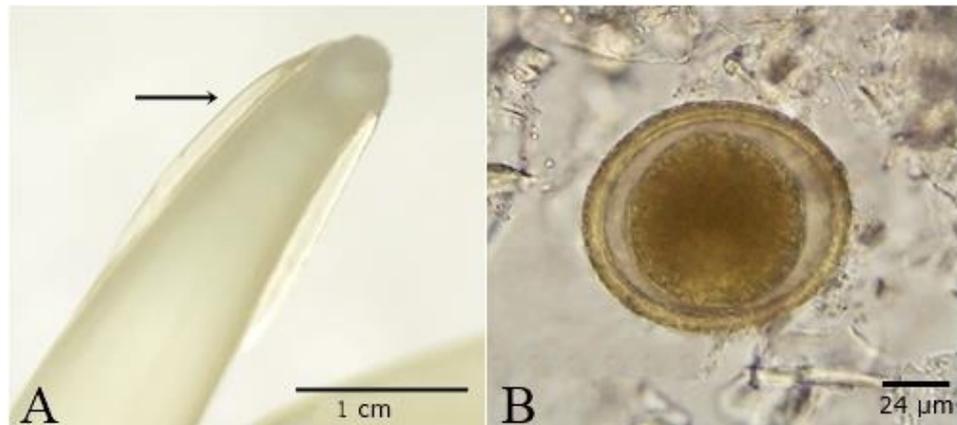


Figura 2 – Características morfológicas de *Toxocara canis*. (A) parte anterior de um adulto de *T. canis* com asas cefálicas longas e estreitas (↖), visualização em microscópio estereoscópico; (B) ovo não larvado de *T. canis*.  
Fonte: Allan de J. M. Severino.

### 1.3.2.3 Sinais clínicos e patogenia

Os cães podem apresentar diferentes sinais clínicos para a infecção como diarreias, desidratação, inapetência, falta de apetite, respiração ofegante, constipações, fraqueza e eosinofilia (SANTARÉM et al., 2009). Em infecções maciças pode haver obstrução completa ou parcial do intestino. Na fase larval do helminto, a migração de larvas pode provocar quadros de tosse e inflamação no tecido pulmonar (TAYLOR; COOP; WALL, 2015). A toxocaríase é uma doença de maior prevalência e carga parasitária em cães filhotes e jovens devido a maior chance de infecção ocorrer durante a gestação e a lactação e devido à falta de uma resposta imune adequada para controlar o parasito. Os animais neonatos e filhotes são os que mais registram óbito da doença devido a transmissão transplacentária e durante a amamentação de larvas infectantes em quantidade bem elevada, visto que a cadela pode abrigar larvas encistadas na musculatura (MORAES et al., 2004). Em cães adultos infectados, as larvas podem permanecer em hipobiose, e em casos de imunodepressão ocorre uma ativação das larvas hipobióticas e o ciclo hepato-traqueal se completa, permitindo o desenvolvimento de helmintos adultos (FERNANDES, 2010). Nos cães adultos, a imunodepressão é um dos fatores para o ressurgimento da infecção, visto que os hospedeiros previamente infectados podem adquirir imunidade contra a infecção pelo helminto.

#### 1.3.2.4 Diagnóstico

Para o diagnóstico da toxocaríase, a anamnese e exames hematológicos associados a técnicas coproparasitológicas são eficientes para confirmação da infecção (KATAGARI; OLIVEIRA-SIQUEIRA, 2007). A partir de técnicas coproparasitológicas de rotina, o diagnóstico pode ser realizado para detecção de ovos que diariamente são liberados em grande quantidade junto às fezes. O diagnóstico por imagem também pode auxiliar em casos graves, para detectar lesões nos órgãos do cão causadas pelos helmintos. Além disso, o cão pode expelir helmintos adultos quando em infecções com alta carga parasitária, o que também contribui para o diagnóstico.

#### 1.3.2.5 Aspectos zoonóticos

A infecção por *T. canis* em humanos está associada a larva *migrans* visceral (LMV) e ocular (LMO) devido a ingestão acidental de ovos embrionados infectantes em água e alimentos contaminados (GILLESPIE, 1988). O ser humano é um hospedeiro acidental das manifestações de larva *migrans*. A LMV, ocorre quando há uma migração de larvas de *Toxocara* em tecidos e órgãos humanos. Após a ingestão do ovo embrionado e eclosão da larva, a mucosa intestinal se torna porta de entrada para a corrente sanguínea. Ao entrar na circulação sanguínea, a larva pode atingir órgãos como fígado, coração, pulmão e cérebro onde se manifestam os principais sintomas. Entre os sinais clínicos observados, estão a febre, tosse seca, desconforto abdominal, lesões no tecido hepático e pulmonar, reação inflamatória aguda e granulomas (PERUCA; LANGONI, 2012). A maioria das infecções tem caráter assintomático e o diagnóstico parasitológico se torna difícil, contudo a anamnese do paciente e eosinofilia permite presumir a infecção. O diagnóstico por métodos sorológicos pode ser usado para detectar a presença de anticorpos anti-*Toxocara*. Essa manifestação normalmente dispensa tratamento, no entanto, um quadro clínico mais agudo e grave com manifestações musculares, oculares e/ou neurológicas, o uso de drogas anti-helmínticas pode ser recomendado (ROLDÁN et al., 2010). A LMO é caracterizada pela presença de larvas no tecido ocular, e entre os sinais clínicos descritos estão a endoftalmia crônica, leucocoria, febre, estrabismo, vermelhidão ocular, falha de visão, e em casos graves granulomas e hemorragias (GLICKMAN et al., 1987). Para o diagnóstico dessa infecção, o exame oftalmológico e sorológico associado a anamnese pode confirmar a infecção.

### 1.3.3 *Dipylidium caninum*

#### 1.3.3.1 Epidemiologia

A infecção por *D. caninum* é descrita mundialmente e principalmente em cães errantes que se infestam com maior facilidade por ectoparasitos. A endemicidade do hospedeiro intermediário e a ausência de sinais clínicos do hospedeiro são fatores que contribuem na persistência da parasitose (ROUSSEAU et al., 2022). A dipilidiose é mais comum em áreas com altas populações de pulgas, com climas quentes e úmidos. Além disso, a infecção é mais frequente em filhotes e cães jovens, que são mais propensos a ingerir os insetos enquanto se limpam (WANI et al., 2015). O controle deve ser realizado com a integração de inseticidas e no uso de anti-helmínticos. Como zoonose, crianças possuem um risco maior de infecção, especialmente se elas brincarem com cães infectados. Por isso, medidas profiláticas como práticas de higiene pessoal e tratamentos periódicos em animais de estimação são necessárias.

#### 1.3.3.2 Morfologia e ciclo biológico

Entre os platelmintos de cães de potencial zoonótico, destaca-se a espécie *Dipylidium caninum* causador da dipilidiose. Esse parasito é hermafrodita, pertence à família Dipylidiidae e pode medir cerca de 80 cm de comprimento. Entre os cestódeos, esse helminto possui uma alta recorrência em cães domésticos e errantes. O escólex é retrátil com rostelo armado com quatro ou cinco fileiras de ganchos (Fig. 3-A). O corpo dividido em colo e proglotes, que se dividem em jovens, com órgãos reprodutivos em desenvolvimento (Fig. 3-B). Proglotes maduras, com dois conjuntos de órgãos reprodutivos formados (Fig. 3-C) e proglotes grávidas contendo cápsulas ovíferas que abrigam os ovos (Fig. 3-D) (CABELLO et al., 2011).

O ciclo biológico é heteroxeno, e tem como hospedeiro intermediário artrópodes, como pulgas e piolhos. A infecção nos cães ocorre quando insetos infectados com a larva cisticercóide são ingeridos durante o ato de coçar a pelagem. Ao chegar no intestino delgado, a larva cisticercóide eclode, se desenvolve em adulto e fixa-se na mucosa intestinal. Após o desenvolvimento e reprodução do helminto, as proglotes grávidas são liberadas pelas fezes, ao chegar no ambiente essas proglotes se rompem liberando cápsulas ovíferas, e os ovos contidos serão ingeridos pelo hospedeiro intermediário no ambiente. No hospedeiro intermediário, a larva eclode e se desenvolve na cavidade corporal até o inseto adulto ser ingerido pelo cão (BOREHAM et al., 1990). Esses cestódeos não possuem sistema digestório e a alimentação ocorre por absorção de moléculas digeridas no intestino do hospedeiro por sua epiderme especializada.

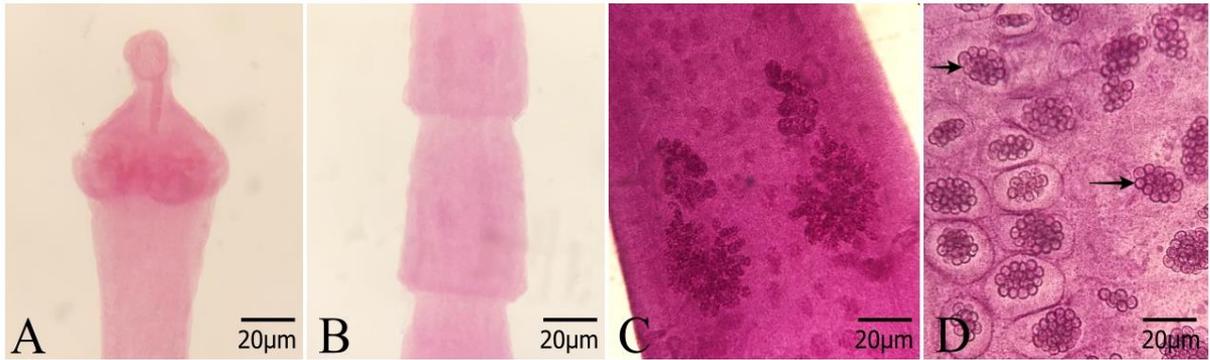


Figura 3 – Características morfológicas de *Dipylidium caninum*. (A) Escólex com rostelo e quatro ventosas; (B) proglotes jovens com sistema reprodutor em desenvolvimento; (C) proglote madura com sistema reprodutor desenvolvido com dois conjuntos de órgãos sexuais; (D) proglote grávida com cápsulas ovíferas e ovos no interior (↔). Fonte: Allan de J. M. Severino.

### 1.3.3.3 Sinais clínicos e patogenia

Nos cães as infecções por *D. caninum* se caracterizam quando sintomáticas por enterites, prostração, prurido anal, diarreias e comportamento de rastejar o ânus no chão. Com tudo, a maioria dos cães apresenta infecções de caráter assintomático, quando em baixa carga parasitária (SAINI et al., 2016). Outro sintoma recorrente são hemorragias focais na mucosa intestinal onde o parasito se fixa. O helminto adulto não possui alto grau de patogenicidade, além da espoliação nutricional do hospedeiro. É descrito que muitas infecções podem ser toleradas sem apresentar qualquer sinal clínico. No entanto, a presença de pulgas e piolhos podem provocar no cão quadros de alergias dérmicas severas.

### 1.3.3.4 Diagnóstico

O diagnóstico dessa parasitose baseia-se no encontro de proglotes grávidas nas fezes ou na região perianal do animal, que pode ser feito por swab anal, exame direto das fezes, ou por peneiração delas (ROUSSEAU et al., 2022). As proglotes liberadas possuem movimentação ativa e podem ser observadas próximas das fezes.

### 1.3.3.5 Aspectos zoonóticos

As infecções humanas causadas por *D. caninum* ocorrem pela ingestão de pulgas infectadas, tendem a ser assintomáticas e estão associadas a crianças (JIANG et al., 2017). Quando há sintomas podem variar entre desconforto e dor abdominal, diarreia, perda de apetite, febre e náuseas. O diagnóstico em humanos pode ser realizado pela observação de proglotes nas fezes ou nas roupas íntimas e tratamento seguido com praziquantel (ROUSSEAU et al.,

2022). A menor prevalência da infecção em adultos pode ser explicada pelo sistema imunológico desenvolvido e melhores hábitos de higiene pessoal que diminuem o risco de infecção (PORTOKALIDOU et al., 2019).

### **1.3.4 *Trichuris vulpis***

#### **1.3.4.1 Epidemiologia**

A tricuriase canina possui ampla distribuição mundial, não sendo restrita a região tropical e subtropical. A recorrência de infecção em cães tem como fatores a alta viabilidade dos ovos no ambiente, os animais adultos são os mais afetados com a alta carga parasitária comparado aos registros em animais jovens (TAYLOR; COOP; WALL, 2015). As infecções possuem maiores registros nas localidades onde há baixas condições sanitárias, alta densidade de cães e ausência na utilização de antiparasitários (AREEKUL et al., 2010). Como controle da parasitose, recomenda-se medidas sanitárias acompanhadas pelo uso de anti-helmínticos como estratégia para reduzir a contaminação ambiental (RAZA et al., 2018).

#### **1.3.4.2 Morfologia e ciclo biológico**

A tricuriase canina é causada por um nematódeo da espécie *Trichuris vulpis*, pertencente à família Trichuridae e ordem Trichocephalida. É um parasito de intestino grosso, os adultos possuem coloração branca com comprimento de 4,5 a 7,5 cm (Fig. 4-A), possuem a região anterior longa e afilada que fixa e penetra na mucosa intestinal (YEVSTAFIEVA et al., 2019). Os ovos possuem coloração castanha com dois opérculos polares de tamanho 85 x 40µm (Fig. 4-B) e tem como hospedeiros canídeos e felinos.

O ciclo biológico é monoxeno, o estágio infectante é o ovo embrionado, contendo a larva L1 que pode ser ingerida em água e alimentos contaminados. Após a ingestão do ovo e digestão do opérculo, a larva eclode e penetra na mucosa, onde se desenvolve até a diferenciação para a forma adulta. Os adultos no intestino grosso, quando atingem a maturidade sexual, fazem a cópula e os ovos são eliminados juntos às fezes (TAYLOR; COOP; WALL, 2015). Esses nematoides se alimentam do tecido intestinal, fluidos intestinais, além de possuírem hábitos hematófagos.

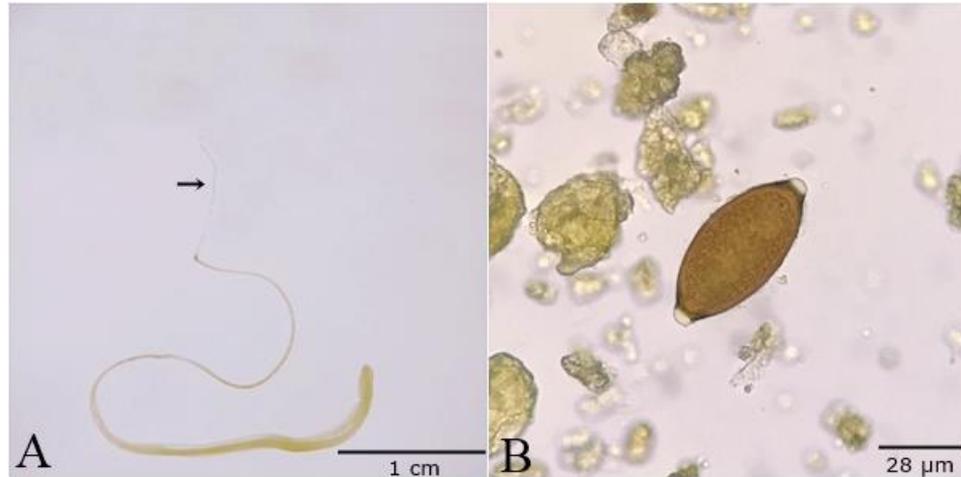


Figura 4 – Características morfológicas de *Trichuris vulpis*. (A) Fêmea adulta com o esôfago fino e alongado (➔), visualização em microscópio estereoscópico; (B) Ovo operculado e não larvado de *T. vulpis*. Fonte: Allan de J. M. Severino.

#### 1.3.4.3 Sinais clínicos e patogenia

Em cães sintomáticos observa-se colite, diarreia com muco, desidratação, perda de peso, melena, anemia e icterícia como sintomas clássicos. A presença do verme adulto pode servir de entrada para patógenos oportunistas devido a danos e aberturas na mucosa intestinal. A maioria das infecções ocorrem de forma assintomática, o que dificulta o diagnóstico, mas em grande quantidade de helmintos podem ocasionar em colite hemorrágica e inflamação tecidual extensa na mucosa cecal (HENDRIX et al., 1987).

#### 1.3.4.4 Diagnóstico

A infecção pode ser diagnosticada por metodologias coprológicas de rotina, visto que pela anamnese dos sinais clínicos do cão não é possível confirmar a infecção (TRAVERSA, 2011).

#### 1.3.4.5 Aspectos zoonóticos

Ainda existem controvérsias sobre os relatos de infecções pelo tricurídeo *T. vulpis* em humanos, mas as infecções relatadas estão associadas a crianças com sintomatologia variável de enterites, anemia, eosinofilia e manifestação larva *migrans* visceral (SAKANO et al., 1980; MÁRQUEZ-NAVARRO et al., 2012). O diagnóstico dessa infecção pode ser realizado por biópsia e métodos sorológicos, contudo métodos moleculares precisam ser usados para confirmar a ocorrência da LMV associada a essa espécie de tricurídeo e caracterizar como helminto de potencial zoonótico transmitido por cães (TRAVERSA, 2011).

### 1.3.5 *Giardia* sp.

#### 1.3.5.1 Epidemiologia

A giardíase é uma protozoose de distribuição mundial, principalmente em países subdesenvolvidos localizados nas regiões tropicais e subtropicais. A infecção acomete diversos mamíferos, e com a facilidade de dispersão de cistos que atingem corpos d'água facilitam a transmissão entre outros hospedeiros. É uma protozoose intestinal comum em áreas com alta densidade de cães, como canis e abrigos (UPJOHN et al., 2010). Nesses locais, os cães podem ser infectados por contato direto com outros animais infectados ou por meio de objetos contaminados, como tigelas de comida. Outro fator importante relacionado a dispersão de cistos, é que muitas infecções permanecem de forma assintomática, impossibilitando o diagnóstico correto e tratamento (LEUNG et al., 2019). O controle da giardíase em cães deve ser realizado com a utilização de antiparasitários, controlar o contato com cães errantes, limpeza e desinfecção do local onde os animais se alimentam e defecam.

#### 1.3.5.2 Morfologia e ciclo biológico

Entre as protozooses gastrointestinais de maior prevalência em cães com potencial zoonótico está a giardíase. A giardíase canina é causada por espécies do gênero *Giardia*, pertencente a família Hexamitidae, protozoário cosmopolita com habitat de intestino delgado de diversos mamíferos, incluindo seres humanos e cães. O protozoário possui duas formas evolutivas. A forma de trofozoíto, encontrada no intestino delgado do hospedeiro, e o cisto, encontrado nas fezes eliminadas no ambiente. O trofozoíto tem um formato piriforme, com disco de fixação, dois núcleos, oito flagelos e um par de corpúsculos (Fig. 5-A). O cisto tem formato ovóide e contém quatro núcleos (Fig. 5-B).

O ciclo biológico é direto e simples, a infecção ocorre via fecal-oral com ingestão de cistos em água ou alimentos contaminados. Após a ingestão do cisto, ocorre o processo de desencistamento, os trofozoítos são liberados e iniciam a colonização da mucosa intestinal por meio da reprodução assexuada. Na luz do intestino, os trofozoítos se encistam e são eliminados juntamente às fezes do hospedeiro (TAYLOR; COOP; WALL, 2015).

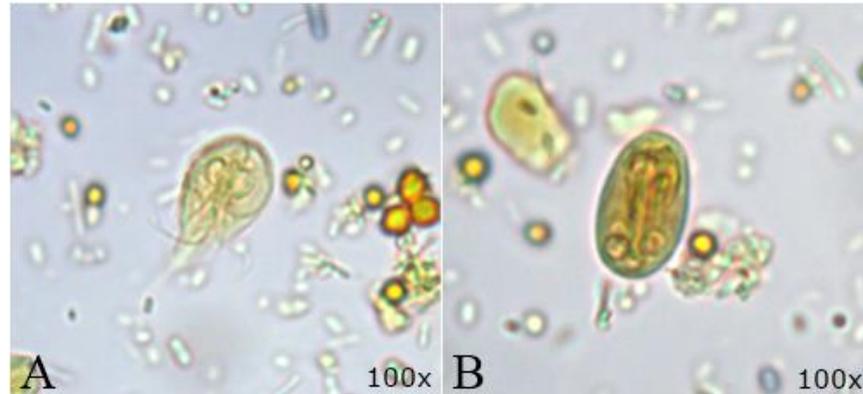


Figura 5 – Características morfológicas de *Giardia* sp. (A) Trofozoíto com flagelos, disco ventral e núcleos centrais; (B) cisto elipsóide com núcleos e axonema. Observação em microscópio óptico (100x). Fonte: Stefan Michael Geiger.

#### 1.3.5.3 Sinais clínicos e patogenia

Em cães essa infecção pode se apresentar de forma assintomática, ou sintomática com desidratação, desencadear diarreias com esteatorréia ou ser auto-limitante (IVANOV, 2010). Os sinais clínicos também podem ser acompanhados de perda de peso e cansaço. Pode haver atrofia da mucosa intestinal e das microvilosidades impedindo a absorção de nutrientes visto que os trofozoítos se fixam entre as vilosidades (SANTANA et al., 2014).

#### 1.3.5.4 Diagnóstico

O diagnóstico clínico é inespecífico, por isso métodos coproparasitológicos podem confirmar a infecção pela observação de cistos nas fezes (SANTANA et al., 2014). Em fezes diarreicas, é possível observar a presença de trofozoítos. Em geral é necessário analisar diferentes amostras fecais visto que a eliminação de cistos não é recorrente (QUADROS, 2013).

#### 1.3.5.5 Aspectos zoonóticos

O potencial zoonótico da espécie *Giardia duodenalis* é bastante discutido devido às diferentes linhagens que a espécie apresenta em vários hospedeiros e regiões do mundo. De acordo com FENG e XIAO, 2011, não há dúvidas que os cães podem albergar diferentes cepas da espécie com grande potencial como agentes zoonóticos. Entretanto, é necessário estudos de caráter molecular associado a epidemiologia, para melhor compreensão da dinâmica da doença entre diferentes linhagens em diferentes hospedeiros (FENG & XIAO, 2011).

### 1.3.6 Protozoários coccídeos

Protozoários dos gêneros *Cryptosporidium*, *Cystoisospora* e *Sarcocystis* são comumente diagnosticados em cães, mesmo em baixa frequência, são epidemiologicamente importantes devido ao potencial zoonótico. A criptosporidiose é uma infecção intestinal provocada pelo coccídeo *Cryptosporidium* spp.. Em cães e humanos são relatados infecções pelas espécies de *C. parvum*, *C. hominis* e baixa frequência de *C. canis* em pessoas (XIAO; FENG, 2008; LUCCA et al., 2009; WIDMER et al., 2020). Frequentemente, as infecções em cães são causadas por *C. canis*, enquanto outras espécies do gênero *Cryptosporidium* são encontradas no trato gastrointestinal de gatos, humanos e outros animais. No entanto, como a espécie *C. parvum* infecta seres humanos e outros mamíferos, inclusive os cães, é destacada sua importância zoonótica (ABE et al., 2002; RAZA et al., 2018). A infecção ocorre pela ingestão de oocistos e a maior parte das infecções são assintomáticas. Sinais clínicos mais graves são observados em cães filhotes e imunocomprometidos. Da mesma forma em seres humanos, crianças e indivíduos imunossuprimidos são os grupos mais afetados pelos protozoários e que mais desenvolvem sinais clínicos mais graves durante a infecção (QUEIROZ, 2012). Em cães, são observados sinais clínicos variáveis como diarreia, desidratação, perda de peso, letargia e vômitos. Por infectar diversos hospedeiros silvestres e domésticos, este coccídeo tem importância epidemiológica em ações de controle de zoonoses. Entretanto, a detecção da forma infectante de *Cryptosporidium* spp. pelos métodos coproparasitológicos de rotina possui limitações, sendo os métodos moleculares mais adequados. Dessa forma, para o diagnóstico é necessário aplicar técnicas de maior sensibilidade, com aumento microscópico maior e com colorações específicas para os oocistos, como a técnica de Zeel-Nielsen (ORTOLANI et al., 2000). Além das técnicas coproparasitológicas, as metodologias moleculares são fundamentais para a determinação da espécie infectante.

Outra parasitose intestinal recorrente em cães é a cistoisosporíase, ocasionada por coccídeos do gênero *Cystoisospora*, anteriormente nomeado *Isospora* (DUBEY; ALMEIRA, 2019). As três principais espécies de *Cystoisospora* que infectam cães são *C. canis*, *C. ohioensis* e *C. burrowsi*, enquanto *C. neorivolta* é menos comumente relatada (RAZA et al., 2018). A maioria das infecções é assintomática, contudo, sinais clínicos são relatados em cães jovens e filhotes. A infecção ocorre por ingestão de oocistos esporulados no ambiente ou predação de hospedeiros paratênicos (LEAL et al., 2013). A infecção em humanos ocorre majoritariamente pela ingestão de oocistos esporulados da espécie *C. belli* em água ou alimentos contaminados. Os casos sintomáticos em humanos de cistoisosporíase estão associados a quadro crônicos de

diarréias em crianças e imunodeficientes. Em indivíduos imunocompetentes a infecção tem caráter assintomático e há cura espontânea (FREGONESI, 2013).

A sarcocistose é uma parasitose causada por protozoários do gênero *Sarcocystis* de distribuição mundial. As principais espécies que infectam cães são específicas, e dependem do hospedeiro intermediário envolvido. Entre essas espécies, destacam-se *S. cruzi*, *S. tenella*, *S. capracanis* e *S. bertrami* (RAZA et al., 2018). A maioria dos cães não apresentam sinais clínicos, no entanto, quando sintomáticos quadros de diarreia, vômitos, letargia, perda de peso e anemia são observados (CASTRO-FORERO et al., 2022). A infecção em cães ocorre pela ingestão de músculos e tecidos infectados de hospedeiros intermediários ou ingestão de oocistos no ambiente (TAYLOR; COOP; WALL, 2015). Em humanos, a infecção pode ocorrer pela ingestão de carnes cruas e de oocistos em água e alimentos contaminados. Em pessoas imunocompetentes, a infecção é autolimitante com episódios de diarreia, dor abdominal e náuseas. No entanto, em indivíduos imunossuprimidos a sarcocistose pode se tornar crônica e desenvolver hepatite, miocardite e encefalite (FAYER; ESPOSITO; DUBEY, 2015). A prevenção dessas parasitoses causadas por coccídeos consiste na higienização e desinfecção do local onde os cães habitam e uso regular de antiparasitários (PIRÃO, 2018).

## 1.4 Leishmaniose visceral canina

### 1.4.1 Biologia de *Leishmania infantum* e ciclo biológico

A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma doença de caráter zoonótico causada pelo protozoário *Leishmania (Leishmania) infantum* Nicolle, 1908 da ordem Kinetoplastida e família Trypanosomatidae. Protozoários do gênero *Leishmania* são pleomórficos e apresentam diferentes formas biológicas de acordo com o hospedeiro infectado. O protozoário possui um ciclo biológico heteroxeno em hospedeiro invertebrado e vertebrado (Fig. 6).

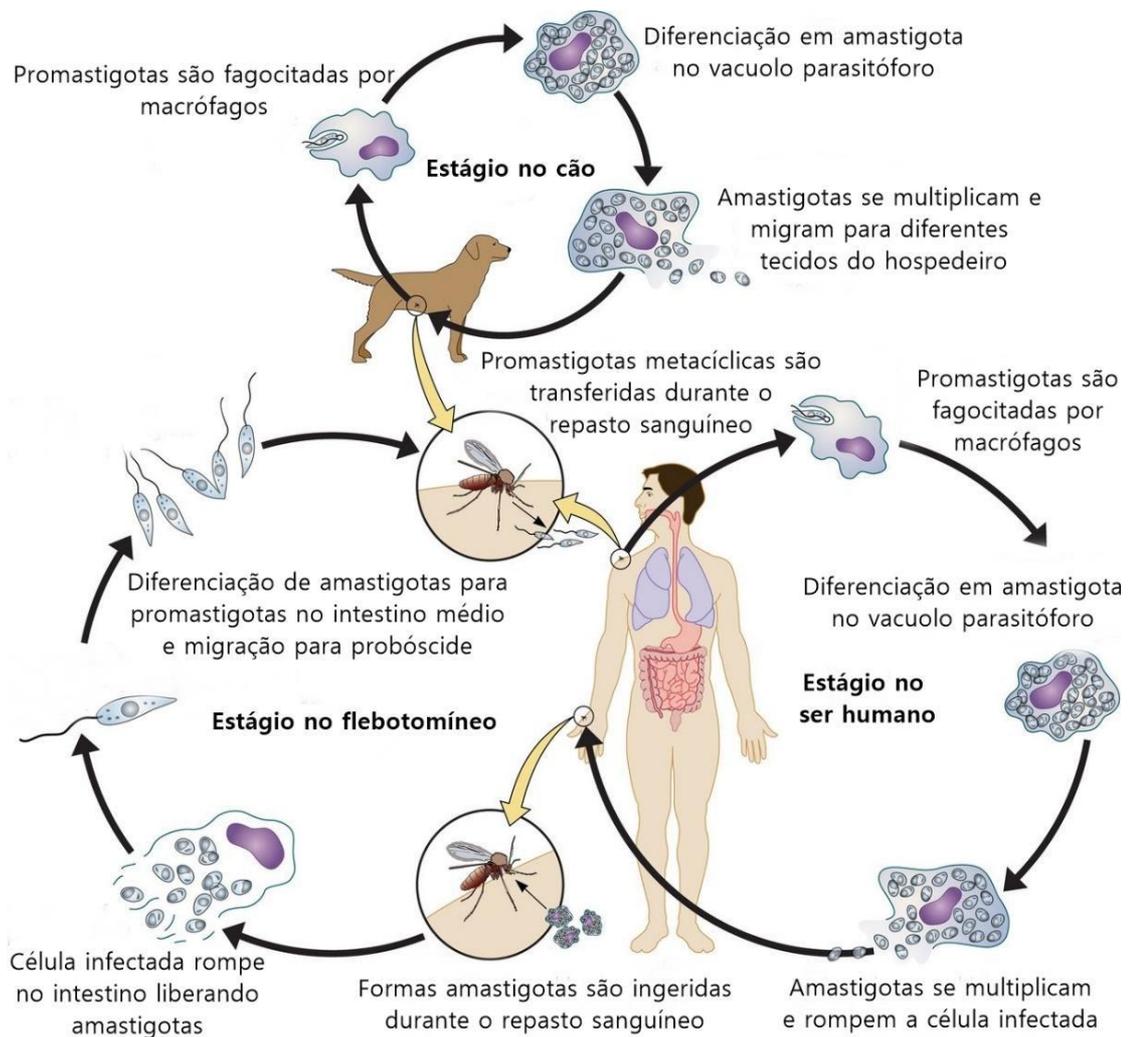


Figura 6 – Ciclo biológico de *Leishmania (Leishmania) infantum* no hospedeiro invertebrado e nos hospedeiros vertebrados. Fonte: Adaptado de ESCH; PETERSEN, 2013.

O hospedeiro invertebrado é um inseto holometábolo, pertencente à ordem Diptera, família Psychodidae e gênero *Lutzomyia*, conhecidos popularmente como mosquito-palha ou birigui (Fig. 7).



Figura 7 – Flebotomíneo fêmea. Fonte: CDC.

Dentre as espécies, destaca-se *Lutzomyia longipalpis* Lutz & Neiva, 1912 e *Lutzomyia cruzi* Mangabeira, 1938 de importância epidemiológica devido a ampla distribuição pelas regiões no país e diferentes hospedeiros vertebrados como possíveis hospedeiros definitivos e fontes de infecção. Os flebotomíneos machos e fêmeas se alimentam de carboidratos disponíveis em sucos vegetais, seiva e secreções de afídeos, no entanto, apenas as fêmeas possuem hábito hematófago para a maturação oocitária (DE SOUSA et al., 2021). Esses insetos têm maior atividade biológica no amanhecer e entardecer, sendo encontrados próximos a locais com disponibilidade de matéria orgânica, importante para o desenvolvimento do estágio larval (RANGEL; LAINSON, 2003).

Durante o repasto sanguíneo no hospedeiro vertebrado, formas amastigotas são ingeridas e no sistema digestivo do inseto ocorre a diferenciação para forma evolutiva de promastigota (Fig. 8-A). Posteriormente ao desenvolvimento no sistema digestivo do inseto, a forma promastigota se diferencia em promastigotas metacíclicas, estas possuem alta motilidade, um longo flagelo e são a forma infectante para os hospedeiros vertebrados. A infecção para o vertebrado ocorre quando as fêmeas realizam o repasto sanguíneo.

Em hospedeiros vertebrados, a forma promastigota metacíclica inoculada possui tropismo por células do sistema monofagocitário em especial, macrófagos (DAVIES et al., 2003; MURRAY et al., 2005). No interior do vacúolo parasitóforo do macrófago, diferenciam-se para amastigotas (Fig. 8-B), formas arredondadas e sem flagelos exteriorizados. As amastigotas são disseminadas pela corrente sanguínea, após o rompimento das células

infectadas devido ao excessivo número de divisões binárias. Essas formas pela via hematogênica podem infectar linfonodos e diferentes órgãos como fígado, baço, e medula óssea. Quando há infecção nesses órgãos tem-se o início de manifestações sintomatológicas da doença no hospedeiro. No ambiente silvestre e rural, os hospedeiros reservatórios são os roedores e didelfimorfos, enquanto os cães domésticos destacam-se devido a importância epidemiológica nos ambientes urbanizados, domiciliares e peridomiciliares.

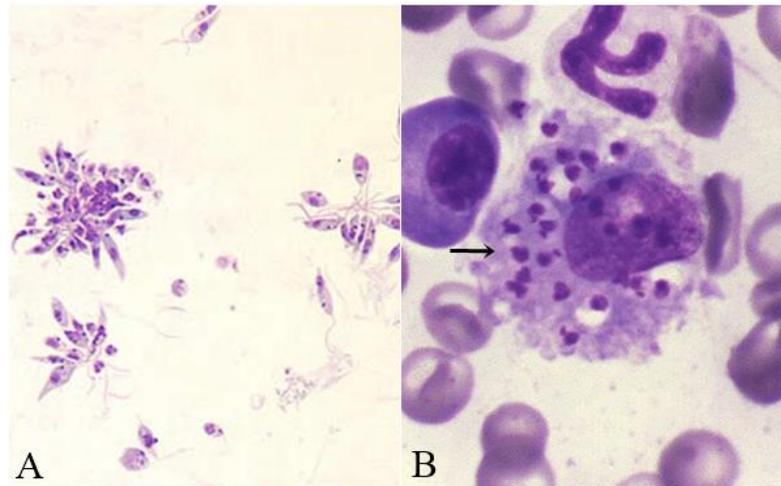


Figura 8 – Características morfológicas de *Leishmania (Leishmania) infantum*. (A) Formas promastigotas; (B) formas amastigotas em célula fagocítica do hospedeiro definitivo (↔). Fonte: CDC modificado.

#### 1.4.2 Sinais clínicos e patogenia

A LVC é uma doença crônica, de patogenia grave, onde os cães podem permanecer assintomáticos, sintomáticos ou oligossintomáticos para a doença e apresentar diferentes sinais clínicos (Fig. 9). Entre os sinais clínicos de LVC, destacam-se a caquexia, febre, anemia, hepatoesplenomegalia, linfadenopatia, epitaxia, vasculite, palidez de mucosas, atrofia muscular e manifestações dérmicas como úlceras crostosas, descamação furfurácea, onicogribose e alopecia local ou generalizada (SILVA, 2007; BRASIL, 2014). As lesões pela doença podem ter caráter cutâneo ou visceral, sendo as lesões cutâneas mais comuns. Inicialmente, a doença apresenta febre intermitente, perda de peso e linfadenopatia, seguidas por lesões nodulares e oculares, alopecia multifocal, descamação furfurácea e ulcerações (SILVA, 2007). Conforme a doença progride para casos crônicos, é comum que o cão apresente aumento de linfonodos, hepatoesplenomegalia e, em alguns casos, evolua para óbito. É importante ressaltar que os sinais clínicos podem se desenvolver de forma gradual, e o cão pode apresentar apenas alguns sintomas no início da doença. Além disso, em alguns casos, o cão pode ficar assintomático por um período de tempo, o que torna o diagnóstico mais difícil (FONSECA, 2013).



Figura 9 – Sinais clínicos característicos da leishmaniose visceral canina. (A) Onicogribose; (B) caquexia; (C) alopecia periocular e vasculite ponta de orelha; (D) ceratoconjuntivite, alopecia, ulceração cutânea; (E) hiperqueratose nasal. Fonte: Allan de J. M. Severino.

Em cães aumenta-se a tendência de gravidade da LVC quando coinfectedos por parasitos intestinais, hemobactérias e hemoprotozoários devido a desregulação do sistema imunológico (TOEPP et al., 2019). A interação em caso de coinfeções com *L. infantum* e outros patógenos é um dos fatores que podem induzir o surgimento dos sinais clínicos característicos da leishmaniose visceral canina. Em humanos e em infecções experimentais há registros de agravo clínico da patogenia e aumento no tempo no uso de antimoniais em infecções por *Leishmania* spp. quando coinfectedos por helmintos intestinais, principalmente devido a mudanças no perfil de resposta imunológica dos infectados (O'NEAL et al., 2007; AZEREDO-COUTINHO et al., 2016; CLASSON et al., 2019; MIRANDA et al., 2021). As infecções humanas por *L. infantum* são potencialmente fatais quando não tratadas principalmente em crianças e indivíduos imunocomprometidos, as manifestações sistêmicas são semelhantes às que ocorrem em cães e a ocorrência de casos caninos tem relação direta aos casos humanos (GONTIJO; MELO, 2004; SILVA, 2007).

A relação entre sinais clínicos graves da LVC e a coinfeção com helmintos intestinais em infecções ativas de *Leishmania* spp., é pouco conhecida e limitada comparado aos estudos desenvolvidos envolvendo coinfeções humanas. No entanto, nos estudos de DE CASTRO (2019) e AZEVEDO (2020) com cães, apontam que o início das manifestações clínicas da LVC e agravos da doença na presença de helmintoses são comuns devido a interferências da resposta imunológica. Nesses trabalhos foi relatado que a resposta imunológica do tipo Th1, predominante em protozooses intracelulares pode ser suprimida pela ocorrência da resposta do tipo Th2, comum em infecções extracelulares causadas por helmintos. Essa interferência imunológica pode influenciar como um dos fatores iniciadores da manifestação sintomatológica da doença nos cães. Além da resposta imunológica, a cepa do parasito, a carga parasitária de *L. infantum*, acesso a espaço externo, pelagem do cão, raça, idade, estado físico e nutricional são outros fatores de importância na manifestação da doença (GONÇALVES, 2014).

### 1.4.3 Diagnóstico da leishmaniose visceral canina

O diagnóstico da LVC pode ser realizado pela anamnese considerando a origem do cão, os sinais clínicos apresentados e por métodos laboratoriais. O exame clínico é inconclusivo, visto que os sinais clínicos apresentados pelo cão podem ser confundidos com outras infecções. Devido a possibilidade de cães permanecerem assintomáticos e com um amplo espectro de sinais clínicos, o diagnóstico laboratorial se torna imprescindível para confirmação da infecção. Entre os métodos de diagnóstico para confirmação, podem ser utilizados o parasitológico, imunológico, sorológico ou molecular. O diagnóstico parasitológico consiste na visualização do parasito, e pode ser realizado por punção aspirativa ou biópsia de órgãos como baço, fígado, pele, medula óssea e linfonodos (GONTIJO; MELO, 2004). Pela utilização de fragmentos desses tecidos é possível visualizar formas do protozoário em lâminas coradas por técnicas histopatológicas ou em exames rápidos por ‘imprint’ e coloração panótica. Para o diagnóstico imunológico e sorológico em cães, comumente métodos como DPP® (Dual Path Platform) para triagem de testagem rápida e ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) e RIFI (reação de imunofluorescência indireta) são utilizados para detecção de antígenos e/ou anticorpos anti-*Leishmania*. De acordo com as diretrizes do Ministério da Saúde (2014), a testagem para a LVC deve ser realizada em cães que vivem em áreas endêmicas, independentemente da sintomatologia apresentada. Em casos de resultados inconclusivos por outras metodologias, o diagnóstico molecular se torna uma ferramenta aliada na confirmação da infecção. As metodologias moleculares possuem alta sensibilidade e especificidade. As técnicas de PCR, qPCR e PCR-RFLP são úteis e eficientes para identificação da infecção, caracterização do parasito e quantificação de carga parasitária em cães assintomáticos ou sintomáticos (QUARESMA, 2007; FARIA & DE ANDRADE, 2012). Para a testagem molecular, diferentes amostras biológicas contendo material genético podem ser utilizadas como sangue, fragmentos de pele, raspagem de mucosas e aspirado de medula óssea.

### 1.4.4 Epidemiologia

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença endêmica de 83 países localizados em regiões tropicais e subtropicais (WHO, 2020). Inicialmente, essa zoonose estava associada ao ambiente rural com cerca de 90% dos casos notificados em pessoas de baixa condições socioeconômicas (MARCONDES; ROSSI, 2013). No entanto, conforme a expansão e modificação do ambiente pelo ser humano e mudanças na ecologia do vetor, a doença se espalhou para áreas antes consideradas indenes, como a região Sul do Brasil (DANTAS-TORRES, 2009). Além disso, a introdução de cães oriundos de áreas endêmicas para LV

contribuiu como um dos fatores para expansão da zoonose para as áreas urbanas. Com o avanço da urbanização, o crescimento demográfico relacionado a ausência de coleta de lixo e saneamento básico, o ambiente urbano tornou-se propício para o desenvolvimento e manutenção do ciclo biológico do vetor (MIRANDA, 2008; MARCONDES; ROSSI, 2013). A doença hoje é descrita por toda a América Latina, desde regiões do México até a Argentina, atingindo os países da região do mar do Caribe, Colômbia, Venezuela e Brasil (ALVAR et al., 2012). A LV e a LVC são infecções de importância epidemiológica no país, principalmente em Minas Gerais, estado onde concentra-se as maiores taxas de infecção da região Sudeste (PEREIRA DA SILVA, et al., 2017). De acordo com o Boletim Epidemiológico das Doenças Negligenciadas (2021) disponibilizado pelo Ministério da Saúde, em 2019 a região Sudeste registrou 323 (12,77%) de casos notificados e o estado de Minas Gerais continuou a registrar as maiores taxas de infecção. A presença de cães infectados representa um elo importante na dinâmica do ciclo biológico de *L. infantum* no ambiente doméstico e peridoméstico na atração de flebotômíneos e conseqüentemente maiores chances de infecções em seres humanos (SILVA et al., 2005). A importância epidemiológica deve-se ao fato de que os cães podem permanecer assintomáticos ou oligossintomáticos, o que impede o reconhecimento inicial da doença. A distribuição, incidência e prevalência de casos humanos de leishmaniose visceral pode estar relacionada com casos de LVC não diagnosticados (D'ANDREA; GUIMARÃES, 2018).

### **1.5 Fatores de infecção em cães**

Cães de todas as idades podem ser infectados espontaneamente por diferentes grupos parasitários (artrópodes, helmintos e protozoários), contudo as infecções comumente ocorrem nos indivíduos filhotes e jovens, isto pelo fato de muitas vias de transmissão ocorrerem via placentária, contato de secreções maternas e ao sistema imunológico incapacitado de produzir resposta imune eficaz contra patógenos (BALASSIANO, 2007; GUEX; MATTOS, 2020).

Diante as parasitoses que acometem os cães domésticos e errantes, a vigilância epidemiológica torna-se aliada na prevenção de casos de zoonoses visto que muitas infecções intestinais podem permanecer assintomáticas, porém com contínua liberação de formas infectantes ao ambiente. Para além da presença do cão e suas características intrínsecas (raça, idade, estado nutricional e imunológico), os fatores genéticos do parasito e a interação com o hospedeiro são decisivos para o sucesso do ciclo biológico e início da patogenia e sintomatologia da infecção.

As infecções intestinais por diferentes espécies de parasitos estão relacionadas a cães

debilitados, expostos a vetores, com acesso a locais insalubres e ingestão de alimentos contaminados. O manejo do tutor com a alimentação e água oferecida, a utilização correta de antiparasitários, eliminação de potenciais vetores, coabitação com outros animais domésticos ou silvestres, procedência do cão e nível socioeconômico do tutor são fatores de importância associados às infecções, transmissão e controle de doenças (BALASSIANO, 2007; PINTO et al., 2007; RIBEIRO et al., 2015; SNAK et al., 2019). Outro fator de importância no progresso biológico de parasitoses são os fatores abióticos, a localização geográfica, mudanças na umidade, temperatura e incidência da luz solar podem afetar a viabilidade de formas infectantes no ambiente e impedir continuidade do ciclo biológico (ALVES et al., 2018).

Apesar de algumas infecções zoonóticas parasitárias não causarem óbitos de forma direta, ocasionam impactos na saúde do infectado, provoca quadros de morbidade, abertura a infecções oportunistas e podem intensificar doenças crônicas existentes (DE OLIVEIRA et al., 2009). Devido à presença e o convívio de cães domésticos em diversos ambientes compartilhados com seres humanos, novos interesses e avanços são observados nos estudos nos ciclos biológicos de helmintos e protozoários patogênicos para produção de fármacos, métodos diagnósticos sensíveis e vacinas (MORIELLO, 2003).

## 2 JUSTIFICATIVA

Esse estudo faz parte de um projeto de pesquisa que está sendo desenvolvido no Município de Porteirinha, Norte de Minas Gerais, com cães domésticos da região urbana. Devido a ocorrência de casos humanos de leishmaniose visceral e ao elevado índice de cães soropositivos para LVC, pesquisadores do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG iniciaram um projeto de saúde única. Esse projeto, propôs um novo inquérito sobre LVC na cidade e no município, visando ações para o controle e prevenção da leishmaniose visceral e outras possíveis parasitoses de relevância veterinária e humana. Na região urbana de Porteirinha, estima-se que existam cerca de 3.793 cães, de acordo com o inquérito feito pelo Programa Nacional de Controle da Dengue do município (2020). Embora a ocorrência de parasitos intestinais de importância médico-veterinária seja descrita em diversas regiões do país, a dinâmica entre enteroparasitoses e a leishmaniose visceral canina é escassa, principalmente de estudos em áreas endêmicas para LV. Os estudos parasitológicos realizados na cidade de Porteirinha, localizado na região Norte do estado Minas Gerais, até o momento, tinham como abordagem principal a transmissão de *L. infantum* entre flebotomíneos, seres humanos e cães devido aos índices de endemicidade da LV e as recorrentes infecções no perímetro urbano (BARATA et al., 2004; FRANÇA-SILVA et al., 2005; ROMERO et al., 2009; BARATA et al., 2011; GUSMÃO et al., 2014). Portanto, esse estudo constitui-se como o primeiro levantamento de parasitoses intestinais em cães domésticos na região urbana do município.

Com isso, o presente estudo tem como objetivo avaliar a hipótese se a presença de helmintos intestinais agravam as manifestações clínicas e a carga parasitária de *Leishmania* em cães soropositivos para LVC. Devido ao caráter crônico e imunossupressor da LVC, o estudo entre coinfeções é de relevância científica para preencher lacunas sobre alterações sistêmicas no hospedeiro, agravos e exacerbação de sinais clínicos associados à presença e ausência de helmintos. E além disso, contribuir no conhecimento científico e de extensão universitária, para avaliar a ocorrência de enteroparasitos com potencial zoonótico em cães domésticos soropositivos e soronegativos para leishmaniose visceral em um município endêmico para LV.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Geral:**

Verificar a ocorrência de parasitos intestinais em cães sorologicamente positivos e negativos para leishmaniose visceral canina na cidade de Porteirinha, Região Norte de Minas, Minas Gerais.

#### **3.2 Específicos:**

Determinar as frequências de ovos e larvas de helmintos, cistos e oocistos de protozoários nas fezes por métodos coproparasitológicos (método de Ritchie e método de Hoffman, Pons e Janer) em cães soronegativos e soropositivos de tutores, residentes na região urbana de Porteirinha.

Quantificar a carga parasitária dos helmintos intestinais (ovos por grama de fezes) pelo método de McMaster em cães soronegativos e soropositivos.

Correlacionar a presença e carga parasitária de parasitos intestinais com os sinais clínicos dos cães soropositivos para leishmaniose visceral canina.

Correlacionar marcadores hematológicos com sinais clínicos para LVC e com a carga parasitária de *L. infantum* na medula óssea dos cães soropositivos.

Correlacionar a carga parasitária de *L. infantum* na medula óssea dos cães soropositivos para LVC com a presença e com as cargas parasitárias dos parasitos intestinais.

Mapear a localização das infecções parasitárias com potencial zoonótico na região urbana de Porteirinha, de acordo com a localização dos cães.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Considerações éticas

Os procedimentos realizados com os cães neste estudo foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFMG) sob o protocolo 8/2022.

### 4.2 Área de estudo

Este estudo foi realizado no Município de Porteirinha, localizado na região Norte do estado, a 598 km da capital Belo Horizonte (MG). Segundo dados do IBGE (2021), a população é estimada em 37.823 pessoas, IDH médio de 0,651 e a área constitui-se pelos distritos de Gorutuba, Mocambinho, Paciência, Mulungu de Minas, Serra Branca de Minas e Tocandira. O município possui a pecuária e agricultura como principais atividades econômicas.



Figura 10 – Mapas com imagens de satélite com a localização do município de Porteirinha no Estado de Minas Gerais (em vermelho, mapa menor) e mapa com maior aumento, indicando bordas do município (linha branca) e área urbana de Porteirinha (linha vermelha).

### 4.3 Amostra canina

Para o estudo imunopatológico e epidemiológico da LVC, foi feito um cálculo amostral baseado em dados publicados em estudos anteriores da média e da variação de parâmetros hematológicos (REIS et al., 2006), que chegou em um número representativo de 47 animais por grupo. Desta forma, um total de 94 animais foram incluídos no estudo (Tabela A-2; SAMPAIO, 2002; página 226).

Para o estudo menor de associação entre sinais clínicos e carga parasitária da LVC e presença e carga de parasitos intestinais, foram incluídos 47 animais soropositivos para LVC e 24 animais soronegativos como controle. Todos os cães participantes do presente trabalho eram de origem domiciliar da região urbana de Porteirinha, provenientes de áreas com histórico de infecções por leishmaniose visceral. Os cães desse estudo, de raça, sexo e idade variável, passaram por testagem sorológica e imunológica para LVC e foram separados em grupos soropositivos e soronegativos. A coleta dos animais soropositivos para eutanásia ocorreu entre Maio de 2022 a Dezembro de 2022. Para os animais soronegativos, a coleta de material fecal ocorreu em fevereiro de 2023.

### 4.4 Exame sorológico e hematológico de cães

A confirmação da infecção por *L. infantum* nos cães foi realizada por métodos sorológicos e as coletas de sangue dos cães para o diagnóstico sorológico foram realizadas na presença dos tutores. Inicialmente, a testagem sorológica ocorreu pelo método imunocromatográfico DPP® realizada por agentes do Centro de Controle de Endemias do município de Porteirinha na residência dos cães (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). O DPP® é um teste rápido de triagem para detecção de anticorpos e oferece o resultado em cerca de 15-20 minutos. Para esse teste pode ser utilizado sangue, plasma ou soro, de fácil execução e leitura de resultados. Os grupos soropositivos foram encaminhados para confirmação sorológica e imunológica da infecção pelos métodos ELISA *in house* sanduíche e RIFI e analisados pelo Laboratório de Biologia das Interações Celulares, Departamento de Morfologia (ICB, UFMG). Os cães soropositivos foram eutanasiados como medida de controle preconizada pelo Ministério da Saúde (2014).

Para realização das análises hematológicas foram coletadas amostras de sangue dos cães pela punção preferencial da veia braquiorradial ou da veia jugular para avaliar as alterações celulares sanguíneas dos cães estudados. Para avaliação do hemograma, foram coletados 5 mL de sangue e armazenados em tubos contendo anticoagulante EDTA (K3 EDTA, Biocon). O sangue coletado foi encaminhado e analisado no Laboratório de Patologia Clínica da Escola de

Veterinária da UFMG, de modo que foi realizado o hemograma da série vermelha e branca. As amostras sanguíneas foram avaliadas e processadas pelo equipamento Diagno I-Counter Vet pelo método de impedância, que fornece a contagem automática de leucócitos totais, hemácias, concentração de hemoglobina e valores de VCM, MCHC, HCM. A contagem diferencial de leucócitos, foi realizada a partir da contagem de 100 células, e a análise citomorfológica foi realizada em microscopia óptica, em objetivas de 20x, 40x e 100x, utilizando esfregaços sanguíneos corados com panóptico. Os parâmetros hematológicos foram analisados conforme predisposto por Weiss et al. (2010). A classificação das anemias dos cães soropositivos para LVC foi de acordo com McGavin e Zachary (2009).

#### **4.5 Exame clínico e eutanásia**

Após a confirmação da infecção por *L. infantum*, os cães soropositivos foram transferidos para o canil municipal de Porteirinha, onde permaneceram até o momento do exame clínico e eutanásia. Os animais foram examinados clinicamente com a sintomatologia compatível para LVC. Entre os sinais clínicos utilizados como caráter diagnóstico, têm-se a alopecia, onicogribose, caquexia, alterações sistêmicas, oculares, musculares, cutâneas, ulcerações, secreções e coloração de mucosas (BRASIL, 2014). Os 47 cães soropositivos para LVC foram separados em grupos de acordo com a sintomatologia apresentada. A partir do exame, os cães foram separados em estadiamentos da leishmaniose canina baseado em uma avaliação cuidadosa dos sinais clínicos apresentados. Posterior ao exame e a partir dos sinais clínicos apresentados, os cães foram separados em grupos de estadiamento baixo, médio e grave conforme proposto por Solano-Gallego et al. (2011). Para o procedimento da eutanásia, os cães foram sedados e submetidos a doses de acepromazina 0,2% 0,025 via intramuscular – 0,1 mL/kg (se o cão não possuir histórico de convulsão) e cloridrato de tramadol 2-4 mg por kg de peso corporal. Seguido de tiopental (dose 2x a anestésica anterior) e depois aplicada uma ampola de cloreto de potássio (KCl) para cada 5kg, todos os procedimentos sob a responsabilidade dos médicos veterinários.

#### **4.6 Necropsia e coleta de amostras**

Após a eutanásia dos cães, o intestino delgado e grosso de cada animal foi retirado para análise macroscópica do conteúdo intestinal, mucosas e presença de helmintos adultos. O trato intestinal foi aberto com auxílio de tesoura, pinça e bisturi. Os parasitos foram retirados com o auxílio de um pincel, separados em placas de Petri para lavagem em solução de cloreto de sódio 0,85% em temperatura ambiente, seguido de fixação em formalina 4% e armazenamento em

álcool 70%. Os platelmintos coletados foram lavados e armazenados em solução de cloreto de sódio 0,85% no qual permaneceram refrigerados até o processamento de coloração em laboratório. Após a eutanásia dos cães soropositivos para leishmaniose visceral, as fezes foram coletadas diretamente da ampola retal. A amostra fecal permaneceu armazenada em geladeira, até o momento do processamento pelas técnicas coproparasitológicas. Para os cães soronegativos, a coleta de fezes foi realizada pelos tutores após a entrega de coletores específicos para cada cão cadastrado. Posteriormente a coleta de fezes, todas as amostras foram organizadas de acordo com os dados pessoais e emergidas em solução conservante MIF (520 mL de água destilada, 52 mL de formaldeído a 10%, 0,416 mg de mertiolato e 10 mL de glicerina) e levadas para processamento no Laboratório de Helmintoses Intestinais, Departamento de Parasitologia (ICB, UFMG).

#### **4.7 Esfregaço sanguíneo e carga parasitária de *Leishmania infantum***

Os cães soropositivos foram submetidos a coleta de sangue dos capilares da orelha para realização do esfregaço sanguíneo durante a necropsia. O esfregaço sanguíneo é uma técnica utilizada para o diagnóstico parasitológico de hemoparasitoses que consiste na visualização morfológica do parasito no interior ou exterior das células sanguíneas. Para esse procedimento uma gota de sangue foi colocada na extremidade da lâmina microscópica e com o auxílio de outra lâmina o sangue é espalhado e deslizando rapidamente por toda lâmina de vidro. Após a realização do esfregaço, a lâmina microscópica passou pela fixação do material, em processo rápido de coloração panótica e lavagem do corante excedente para análise em microscópio óptico de luz com objetiva de maior aumento (100x) em óleo de imersão. A leitura da lâmina ocorreu na região final denominada de cauda, local onde há maior separação das células do sangue.

Amostras da medula óssea foram utilizadas para a quantificação da carga parasitária de *L. infantum* em todos os cães soropositivos. Para isso, foi utilizada a técnica de *qPCR*. A extração do DNA foi realizada utilizando o kit PureLink® Genomic DNA Kit (Invitrogen, TermoFisher Scientific, Waltham, MA, EUA), de acordo com as recomendações do fabricante. Logo após, o DNA foi dosado utilizando espectrofotômetro DeNovix DS-11 (DeNovix, Wilmington, DE, EUA). Para reação de *qPCR*, o gene do kDNA foi o DNA alvo, e as sequências dos primers utilizados para a amplificação foram: 5'-CCA CCC GGC CCT ATT TTA CAC CAA-3' e 5'-CTT TTC TGG TCC TCC GGG TAG G-3', e da sonda 5'-/56-FAM/ TTT TCG CAG /ZEN/ AAC GCC CCT ACC CGC /3IABkFQ/-3'. O volume final da reação foi de 10µL, contendo 5µL do tampão iTaq Universal Probes Supermix (Bio-Rad, EUA),

0,25µL de cada primer, 0,4µL da sonda (Integrated DNA Technologies, EUA), 1,1µL de água e 3µL de amostra de DNA. A amplificação das amostras foi feita em duplicata, utilizando o CFX96 Touch Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, EUA). Foi utilizado como controle negativo da reação, o mix de reação e água, e não foi colocado DNA. Para obter a curva padrão, foi realizada diluição seriada (1:10) de DNA de *L. Infantum*. A carga parasitária foi determinada da seguinte forma: (equivalentes de DNA do parasito por reação) / (quantidade de DNA do tecido por reação) x 10<sup>3</sup>, tendo como resultado o número de parasitos por µg de DNA do tecido (SEVILHA-SANTOS et al., 2019). Esse procedimento foi realizado pelo Laboratório de Biologia das Interações Celulares, Departamento de Morfologia (ICB, UFMG).

#### 4.8 Diagnóstico coproparasitológico

Para a detecção qualitativa de formas parasitárias presentes nas fezes dos cães foram utilizados os métodos parasitológicos de Ritchie modificado (RITCHIE, 1948) e de sedimentação espontânea (HOFFMAN et al., 1934). O método quantitativo, usado para determinar a carga parasitária de algumas espécies de helmintos, foi o método de McMaster (GORDON; WHITLOCK, 1939). Os métodos parasitológicos têm como base a observação macroscópica das fezes, onde se observa a consistência, presença de muco, sangue e a presença de helmintos adultos ou fragmentos e a microscópica para o encontro de formas parasitárias infectantes. Para os métodos de sedimentação espontânea e método de Ritchie foram lidas duas lâminas coradas com lugol. O método de McMaster dispensa produtos de coloração química para observação e quantificação dos ovos dos helmintos. Todos os métodos coproparasitológicos foram usados para o diagnóstico dos cães soropositivos e soronegativos para LVC.

A sedimentação espontânea conhecida também por método de Lutz ou HPJ (HOFFMAN, PONS e JANER, 1934), é um método eficaz na detecção de ovos e larvas de helmintos, cistos e oocistos de protozoários. É um método de rotina laboratorial e que possui resultados satisfatórios (LIMA et al., 2020). O método é de fácil execução, de início a diluição das fezes em água, filtragem do líquido com auxílio de gaze no cálice e completado o volume com água filtrada e deixado em repouso por 2 horas. Uma gota do sedimento, presente no fundo do cálice, foi utilizado para montagem em lâmina, adicionando uma gota de Lugol, e leitura em microscópio óptico de luz com objetivas de aumento 10x e 40x. De cada amostra fecal, foram montadas e examinadas duas lâminas.

O método de Ritchie consiste na sedimentação por centrifugação em formalina-éter, entretanto neste trabalho substituiu-se por acetato de etila por ser menos inflamável, menos

tóxico e mais adequado para experimento laboratorial (AZEVEDO, 2016). O método é indicado para a observação de oocistos, cistos, larvas e ovos de parasitos (NEVES et al., 2016). As fezes foram homogeneizadas em água, filtradas e tamisadas com gaze duplamente dobradas em copo descartável. Do líquido de fezes filtradas, 7 ml foram transferidas e colocadas junto a 5 ml de acetato de etila em tubo de fundo cônico tipo Falcon de 15 ml. Após a inserção do filtrado de fezes e o solvente, o tubo foi homogeneizado e centrifugado a 1.740 rpm por 4 minutos, à temperatura ambiente. Em seguida, foram desprezados os tipos fásicos formados no tubo cônico durante a centrifugação. Pela ação da centrifugação, artefatos, gordura e detritos vegetais foram separados pelo solvente e o sedimento com as formas infectantes ficaram retidos no fundo do tubo. O sedimento no fundo do tubo foi utilizado para montagem de duas lâminas (com Lugol) e leitura em microscópio óptico com objetivas de aumento 10x e 40x.

O método de McMaster modificado, descrito por GORDON & WHITLOCK (1939), é uma técnica quantitativa e qualitativa amplamente utilizada na medicina veterinária originalmente para contagem de ovos por grama em fezes de ovinos. Entretanto, é empregada também para o diagnóstico de helmintoses de outros hospedeiros pelo princípio de flutuação em uma solução açucarada ou saturada de cloreto de sódio. Para o procedimento, 4g de fezes foram homogeneizadas em 58 mL de solução saturada de NaCl, filtradas em gaze dobrado para retenção de resíduos maiores e posteriormente pipetado para duas câmaras de McMaster por amostra. Essa câmara é composta por duas lâminas separadas por 1,5 mm de distância e em cada lâmina há um espaço para preenchimento do líquido. A amostra em cada uma das duas câmaras apresenta um volume de 0,3 mL. A leitura e contagem de ovos em microscópio óptico foi sob objetiva de 10x após 3 minutos, tempo suficiente para que os ovos flutuassem. Para a determinação do número de ovos por grama de fezes (OPG), foi somado o número presente nas duas câmaras e multiplicado pelo fator 50 (UENO & GONÇALVES, 1988). A partir do cálculo de OPG, os cães foram classificados como de baixa (50-100 OPG), média (150-500 OPG) ou alta (>500 OPG) carga parasitária para as espécies de ancilostomídeos e *Toxocara canis* (RODRÍGUEZ-VIVAS et al., 2011).

#### **4.9 Identificação de enteroparasitos e quantificação de helmintos adultos**

A análise morfológica e taxonômica dos parasitos adultos e formas infectantes foi realizada em microscópio óptico de luz. A identificação dos protozoários encontrados pelos métodos coproparasitológicos dos cães soropositivos e soronegativos, foram a nível de gênero baseado na morfologia e medida morfométrica do cisto e oocisto disponível na literatura (ZAJAC et al., 2012). Em relação aos cistos de *Giardia* sp., a morfologia elipsóide com parede

cística, a presença do axonema, corpos basais e núcleos foram características taxonômicas relevantes. Para os oocistos de *Sarcocystis* sp., foi analisado o formato elipsoidal com parede fina, esporulado com dois esporocistos e grânulos polares. Para os oocistos de *Cystoisospora* sp., a presença de 2 esporocistos ou 4 esporozoítos e o formato elipsóide com parede fina sem grânulos no interior (TAYLOR; COOP; WALL, 2015).

Para os helmintos adultos, a identificação foi feita com os espécimes adultos coletados durante a necropsia, e analisados por dados morfométricos e morfológicos disponíveis na literatura (TAYLOR; COOP; WALL, 2015). Os nematóides foram quantificados e separados em grupos de machos e fêmeas para cálculo de carga parasitária. A identificação a nível de espécie, ocorreu pela montagem de lâminas semi-permanentes com lactofenol de Amann entre lâmina e lamínula para clarificação corporal. Os ancilostomídeos foram identificados pela observação da região anterior do aparato bucal. Adultos que possuíam um par de três dentes foram classificados como *A. caninum* e os adultos que possuíam um par de placas dentárias dorsais e desiguais como *A. braziliense*. Para os ascarídeos, a identificação morfológica do gênero *Toxocara* ocorreu pela análise morfológica do esfôago, espículos subiguais e asas cefálicas retas e lisas na região anterior. Nos machos, a presença de asas caudais e morfometria dos espículos de medidas entre 0,75 e 0,95mm foi confirmada. Em relação a tricurídeos, a identificação morfológica do espécime fêmea coletado foi comparado segundo descrições morfométricas e morfológicas disponíveis no estudo de Yevstafieva e colaboradores, 2010. Para os ovos encontrados de *Spirometra* sp., a presença de opérculo, extremidades desiguais pontiagudas, coloração castanha e tamanho entre 45 e 75 µm foram características morfológicas determinantes (TAYLOR; COOP; WALL, 2015).

Os platelmintos foram corados pela técnica de carmim clorídrico alcoólico, com desidratação em série alcoólica (50°, 60°, 70°, 80°, 90° e 100° GL), clarificados em creosoto de faia e montados em lâminas permanentes com bálsamo do Canadá e Entellan (AMATO, 1985). A identificação para a espécie *D. caninum*, sucedeu-se pela análise morfológica do escólex e proglotes. O escólex retrátil com a presença de rostelo com quatro fileiras de ganchos e quatro ventosas. A proglote madura, com dois poros genitais em cada lado, e posição dos dois conjuntos de órgãos sexuais. E a proglote grávida, contendo cápsulas ovíferas que podem abrigar de 10-30 ovos.

Os helmintos intestinais coletados durante a necropsia dos cães soropositivos para LVC tiveram seus índices ecológicos calculados. Para essa avaliação foi calculado, a prevalência, carga parasitária média, intensidade média e amplitude de variação. A prevalência foi calculada pelo número de cães infectados por helminto sobre o número de cães examinados, e

multiplicado por 100. A carga parasitária para cada espécie foi calculada pelo número total de helmintos sobre o número total de indivíduos (ANDERSON; MAY, 1992). Esse valor forneceu uma medida da média de parasitos por indivíduo na população estudada. Para a intensidade média, foi calculado o número total de helmintos coletados sobre o número total de hospedeiros infectados. E para a amplitude de variação, foi calculado a diferença entre a menor intensidade parasitária pela maior intensidade (BUSH et al., 1997).

#### **4.10 Mapeamento da distribuição de infecções zoonóticas**

Com o uso do GPS (Sistema de Posicionamento Global) foi possível obter com precisão as coordenadas geográficas das residências dos cães participantes deste estudo. A partir dessas informações geográficas, foi confeccionado um mapa da cidade com a distribuição espacial dos locais de ocorrência das parasitoses intestinais. Por meio do mapeamento é possível identificar as localidades mais afetadas por LVC e parasitos intestinais e mensurar a distância entre as residências dos cães infectados. A produção do mapa com a população canina participante e distribuição de parasitoses (LVC e coinfeções) foi realizada pelos programas de modelagem espacial GeoDA e QGIS.

#### **4.11 Análise estatística**

Para esse estudo foi utilizado o Microsoft Office Excel® (Microsoft Corp., Redmond, WA, EUA) para armazenar os dados individuais de cada cão em planilhas. A partir dos dados, foram calculadas as frequências de raça, porte, sinais clínicos, OPG, carga parasitária, formas infectantes dos parasitos intestinais, monoinfecção para *L. infantum* e coinfeções com helmintos intestinais. Os dados foram analisados tanto pelo software RStudio quanto pelo site OpenEpi (Divisão de Prevenção e Controle de Doenças da Geórgia, EUA), que é uma plataforma gratuita online para cálculos epidemiológicos e estatísticos. Para verificar a normalidade dos dados, foi utilizado o teste Shapiro-Wilk no RStudio. Para a comparação entre os diferentes grupos foram utilizados os testes qui-quadrado, Kruskal-Wallis e Mann-Whitney. No estudo também foi utilizado o modelo de Poisson e o cálculo da razão de chances (odds ratio) para analisar os dados e investigar a associação entre as variáveis estudadas. Os resultados foram considerados significativos quando  $p \leq 0,05$  para os testes estatísticos realizados.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 População canina

#### 5.1.1 Cães soropositivos para LVC

Nesse estudo foram incluídos 47 cães, sendo 24 (51,06%) machos e 23 (48,9%) fêmeas. Desses cães, 38 (80,8%) eram sem raça definida e 9 (19,1%) com raça definida (Fig. 11). A idade dos cães variou entre 2 e 11 anos, com média de idade total de 7 anos. Em relação a pelagem, 44 (93,6%) apresentavam pelo do tipo curto e 3 (6,3%) do tipo longo. O porte dos cães foi classificado como pequeno, médio e grande por medição da altura corporal (Fig. 11). Quanto à aptidão dos cães, 39 (82,9%) tinham acesso a áreas externas da casa (quintal e rua) e 8 (17%) possuíam hábito domiciliar.

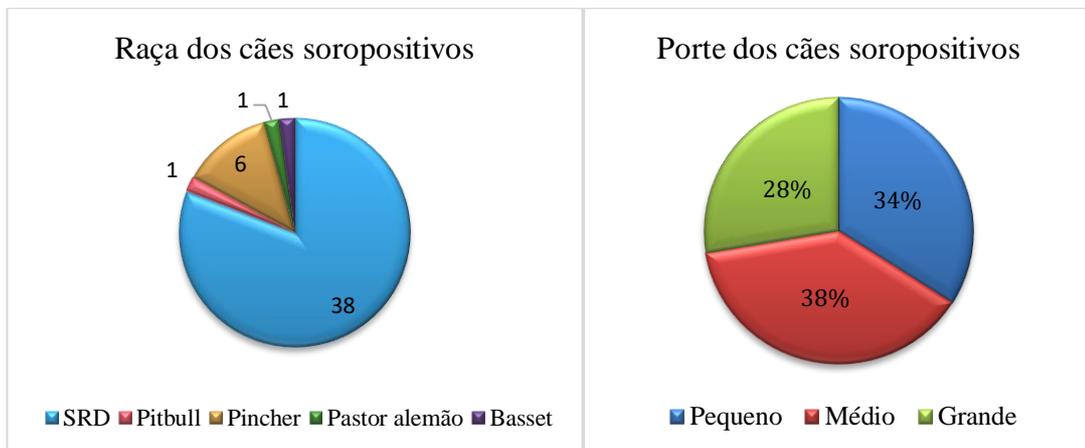


Figura 11 – Distribuição das raças e portes dos cães soropositivos para LVC do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

#### 5.1.2 Cães soronegativos para LVC

Para os cães soronegativos, foram incluídos 24 cães, sendo 14 (58,3%) fêmeas e 10 (41,6%) machos. Desses cães, 13 (54,1%) eram sem raça definida (SRD) e 11 (45,8%) com raça definida (Fig. 12). Em relação a pelagem, 19 (79,1%) apresentavam pelo do tipo curto e 5 (20,8%) do tipo longo. O porte dos cães foi classificado como pequeno, médio e grande por medição da altura corporal (Fig. 12). Quanto à aptidão dos cães, 21 (87,5%) tinham acesso a áreas externas da casa (quintal e rua) e apenas 3 (12,5%) possuíam hábito domiciliar. Para os cães soronegativos, a idade não foi verificada.

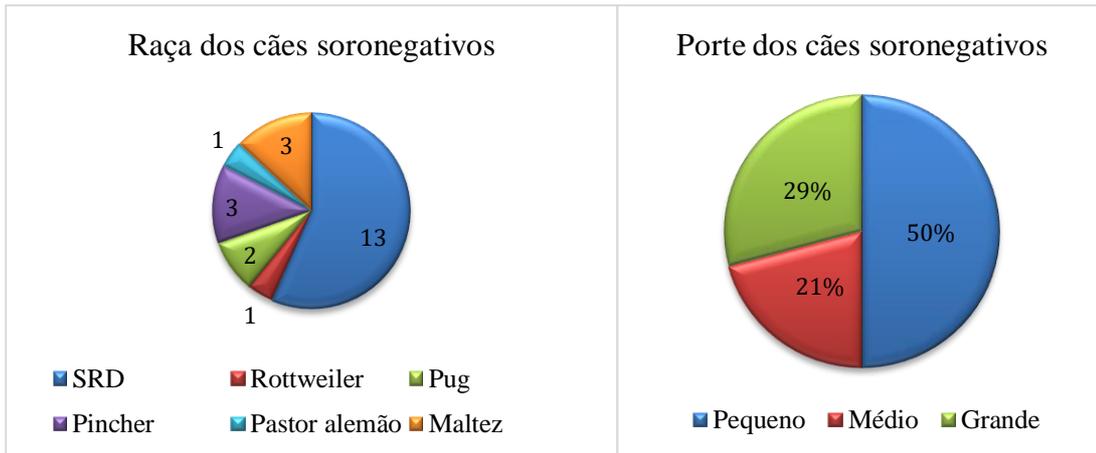


Figura 12 – Distribuição das raças e portes dos cães soronegativos para LVC do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

## 5.2 Sinais clínicos da LVC

Dos 47 cães soropositivos para LVC, 19 (40,4%) cães foram agrupados no estadiamento baixo, 16 (34,04%) agrupados como médio e 12 (25,5%) como grave. Destes, 36 (76,6%) estavam coinfectados por ao menos uma espécie de helminto coletados durante a necropsia e 11 (23,4%) monoinfectados por *L. (L.) infantum*. Na tabela 1, é possível observar a diferença entre as frequências de sinais clínicos nos grupos monoinfectados e coinfectados, além do valor de  $p$  para cada sinal clínico. Os cães soropositivos ( $n=47$ ) foram divididos em dois grupos: Cães monoinfectados apenas com *Leishmania infantum* ( $N=11$ ) e cães coinfectados com helmintos intestinais ( $N=36$ ), resultados obtidos após a necropsia. O cão infectado apenas com protozoários intestinais foi incluído no grupo dos monoinfectados por *L. infantum*. A partir da análise das frequências dos sinais clínicos não apresentou diferença para os grupos monoinfectados ou coinfectados por helmintos intestinais. Dados referentes aos sinais clínicos hepatoesplenomegalia, esplenomegalia e hepatomegalia dos cães não foram contabilizados.

**Tabela 1:** Sinais clínicos dos cães soropositivos para leishmaniose visceral do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

<b>Sinais clínicos</b>	<b>Monoinfectados por <i>L. infantum</i> N= 11</b>	<b>Coinfectados por helmintos e <i>L. infantum</i> N= 36</b>	<b>Valor de <i>p</i>*</b>
Alopecia local	10 (90,9%)	28 (77,7%)	0.0035
Onicogribose	8 (72,7%)	18 (50,0%)	0.04986
Caquexia	7 (63,6%)	27 (75,0%)	0.0006036
Alterações oculares (ceratoconjuntivite, conjuntivite, blefarite, uveíte)	5 (45,4%)	17 (47,2%)	0.01052
Lesões/ulcerações cutâneas e mucosas	4 (36,3%)	12 (33,3%)	0.0455
Mucosa normal	5 (45,4%)	22 (61,1%)	0.001069
Mucosa pálida/amarelada	6 (54,5%)	13 (36,1%)	0.1083
Linfadenopatia generalizada	9 (81,8%)	29 (80,5%)	0.001177
Descamação furfurácea	6 (54,5%)	8 (22,2%)	0.593
Epistaxe	0	1 (2,7%)	0.3173

N, número total de cães. \*Teste qui-quadrado de Pearson.

### 5.3 Esfregaço sanguíneo

Entre os 47 cães submetidos ao esfregaço sanguíneo, em 2 (4,2%) cães foram observadas infecções por *Babesia* sp., sendo 1 cão do grupo mono infectado por *L. infantum* e 1 cão do grupo co infectado por helmintos intestinais. No entanto, o número de cães infectados pode ser maior para cães em infecções crônicas e ocultas. Os métodos sorológicos, imunológicos e moleculares são mais sensíveis para detecção da doença em comparação ao esfregaço sanguíneo.

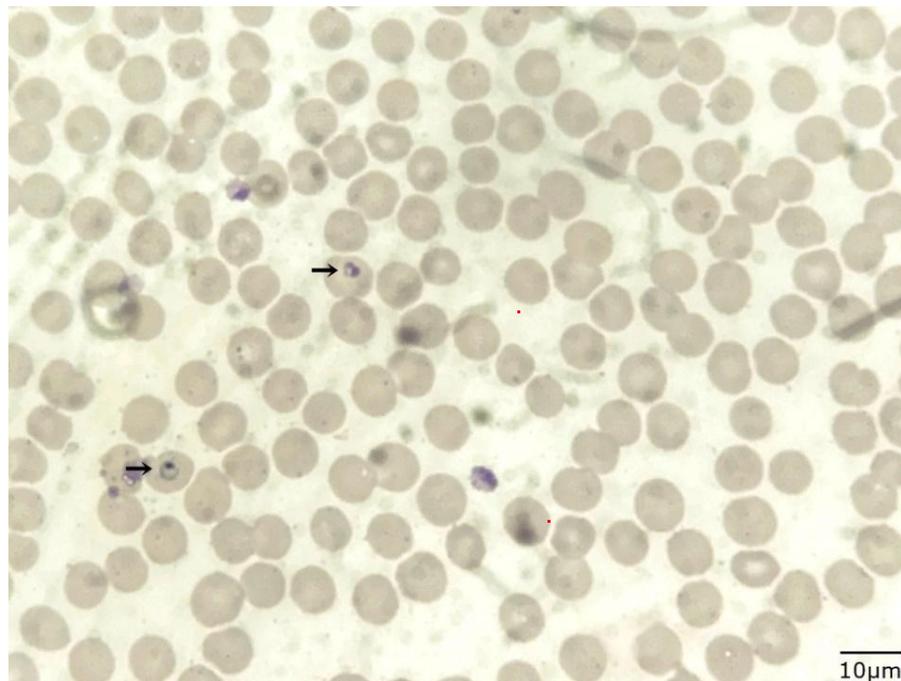


Figura 13 – Hemácias infectadas com trofozoítos de *Babesia* sp. (➤) observada em microscópio óptico (x100).  
Fonte: Allan de J. M. Severino.

### 5.4 Diagnóstico coproparasitológico

#### 5.4.1 Cães soropositivos

Dos 47 cães com LVC, apenas 43 possuíam fezes na ampola retal para o diagnóstico coproparasitológico. Destes, 38 (88,3%) estavam infectados por parasitos intestinais. Dos 38 cães soropositivos, 31 (65,9%) cães foram positivos nos exames parasitológicos de fezes e estavam mono infectados por helmintos intestinais, 6 (12,7%) estavam co infectados por helmintos e protozoários intestinais, e apenas 1 (2,1%) parasitado por protozoário intestinal. O número e frequência de amostras positivas por parasito intestinal pode ser observado na Fig. 14. A tabela 2, destaca as formas encontradas nas fezes e diagnosticadas por microscopia óptica posteriormente a realização dos métodos coproparasitológicos. A

frequência da carga parasitária nos cães soronegativos por grama de fezes (OPG) pelo método quantitativo de McMaster, encontra-se na Tabela 3. A tabela 4, demonstra o resultado da análise pelo modelo de Poisson, com objetivo de investigar a correlação entre a variável quantidade de fêmeas de *Ancylostoma* e a contagem de ovos pelo método de McMaster. A partir desses dados, é possível observar a associação positiva (OR= 1,3258) entre as fêmeas coletadas e ovos eliminados nas fezes e calculados como OPG.

**Tabela 2:** Frequência de enteroparasitos em cães soropositivos para LVC (N=43) do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

Enteroparasitos	Frequência (N)
<i>Ancylostoma</i> sp.	41,8% (N= 18)
<i>Giardia</i> sp.	27,9% (N=12)
<i>Dipylidium caninum</i>	9,3% (N=4)
<i>Toxocara canis</i>	4,6% (N=2)
<i>Sarcocystis</i> sp.	4,6% (N=2)

N: número total de cães soropositivos.



Figura 14 – Formas parasitárias diagnosticadas em amostras fecais de cães soropositivos do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil. (A) ovos de *Ancylostoma* sp.; (B) ovos de *Toxocara canis*; (C) cápsula ovígera de *Dipylidium caninum*; (D) cistos de *Giardia* sp.; (E) oocistos de *Sarcocystis* sp.. Fonte: A. J. M. Severino.

**Tabela 3:** Classificação por carga parasitária (OPG), pelo método de McMaster, dos cães parasitologicamente positivos para ancilostomídeos (N= 16) ou *Toxocara canis* (N= 2) de cães soropositivos para LVC do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

<b>Helmintos intestinais</b>	Baixa N/ (%)	Média N/ (%)	Alta N/ (%)
<i>Ancylostoma</i> sp.	0	2 (2,12%)	14 (23,4%)
<i>T. canis</i>	0	0	2 (2,12%)

N, número total de cães positivos. Classificação da carga parasitária: Baixa: 50-100 OPG; média: 150-500 OPG; alta >500 OPG (RODRÍGUEZ-VIVAS et al., 2011).

**Tabela 4:** Análise estatística pelo modelo de Poisson para associação entre fêmeas e adultos de *Ancylostoma* e OPG dos cães soropositivos para LVC.

	OR	Erro padrão	IC: 95%
Fêmeas de <i>Ancylostoma</i> x OPG	1.3258	0.0024	1.1722 - 1.4962
Total de ancilostomídeos adultos x OPG	1.0165	0.0002	1.0162 - 1.0169

OR: Odds-Ratio; OPG: ovos por grama de fezes; IC: intervalo de confiança.

#### 5.4.2 Cães soronegativos

Entre os 24 cães soronegativos, 11 (45,8%) cães estavam infectados por parasitos intestinais. Destes, 7 (29,2%) estavam coinfectados por helmintos e protozoários intestinais, enquanto apenas 4 (16,6%) monoinfectados por helmintos. O número e frequência de amostras positivas por parasito intestinal pode ser observado na tabela 5. A figura 18 destaca as formas parasitárias diagnosticadas por microscopia óptica posteriormente a realização dos métodos coproparasitológicos. Em relação ao método de McMaster, para os cães soronegativos para LVC, foi detectado apenas ovos de *Spirometra* sp. em um cão e de parâmetro alto com >500 ovos por grama de fezes.

**Tabela 5:** Frequência de enteroparasitos em cães soronegativos para LVC (N=24) do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

<b>Enteroparasitos</b>	<b>Frequência (N)</b>
<i>Ancylostoma</i> sp.	29,1% (N= 7)
<i>Giardia</i> sp.	16,6% (N= 4)
<i>Cystoisospora</i> sp.	12,5% (N= 3)
<i>Spirometra</i> sp.	4,16% (N= 1)
<i>Sarcocystis</i> sp.	4,16 (N= 1)

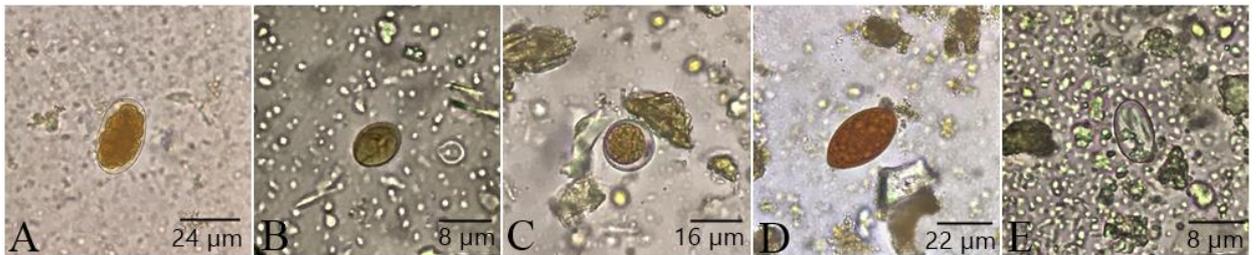


Figura 15 – Formas parasitárias encontradas em amostras fecais de cães soronegativos para LVC no município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil. (A) ovo de *Ancylostoma* sp.; (B) cisto de *Giardia* sp.; (C) oocisto de *Cystoisospora* sp.; (D) ovo de *Spirometra* sp.; (E) oocisto de *Sarcocystis* sp.. Fonte: Allan de J. M. Severino.

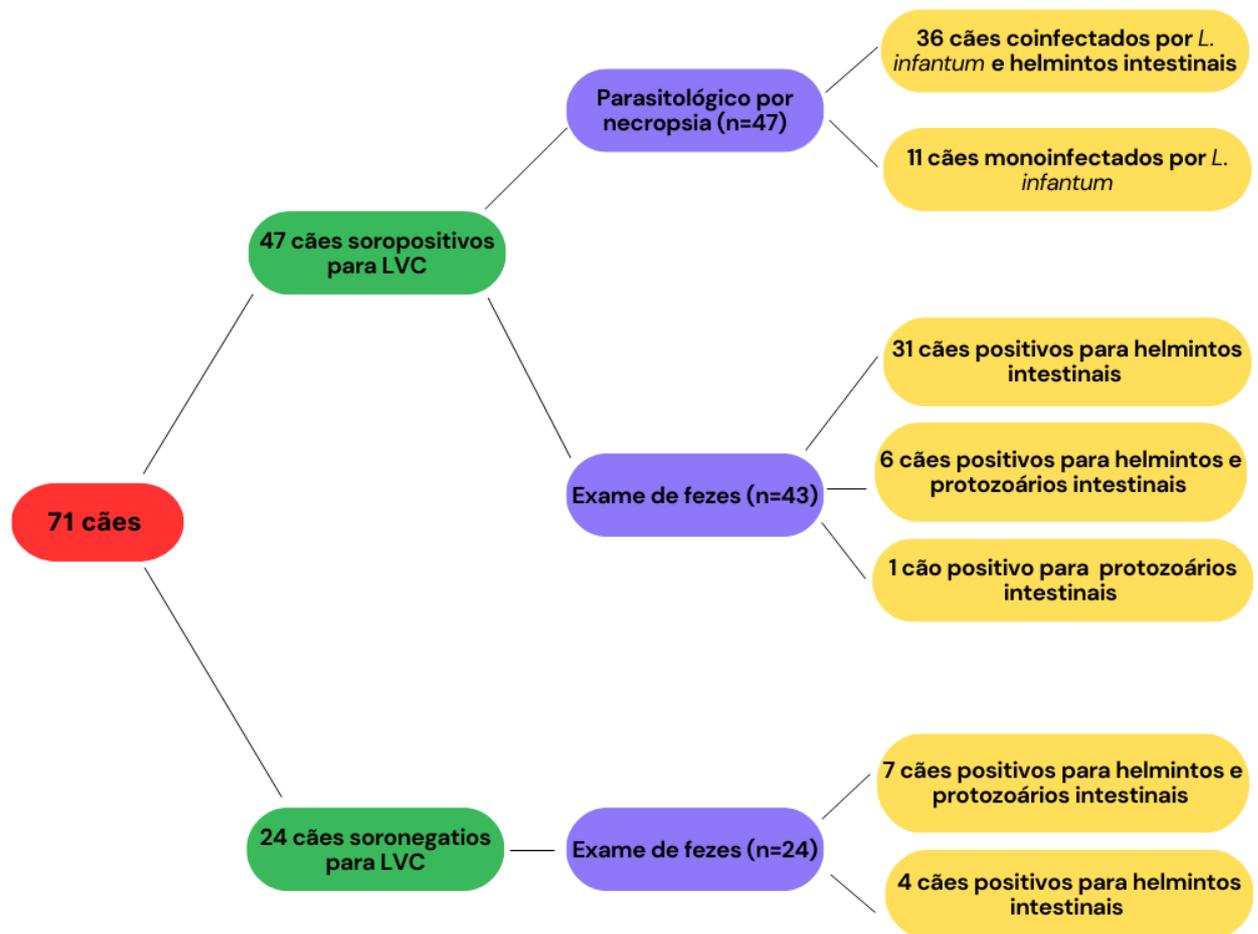


Figura 16 – Fluxograma de trabalho para o diagnóstico de parasitoses intestinais.

### 5.5 Análise hematológica dos cães soropositivos para LVC

Para os resultados hematológicos, as tabelas 6 e 7 apresentam informações sobre 11 cães mono infectados por *L. infantum* e 36 coinfectados por helmintos intestinais. Dos 11 cães mono infectados, apenas 10 possuíam hemograma completo, enquanto dos 36 coinfectados, somente 32 possuíam o exame completo. Na tabela 6, pode-se observar a média hematológica das células sanguíneas em cães soropositivos para LVC, tanto mono infectados quanto coinfectados. Na tabela 7, observa-se a relação hematológica na presença e ausência de infecção por *Ancylostoma* sp.. A tabela 8 apresenta a análise dos tipos de anemia nos cães soropositivos para LVC. Já na tabela 9 é possível observar a análise do leucograma dos cães soropositivos para LVC.

**Tabela 6:** Média da análise hematológica de cães soropositivos para LVC monoinfectados por *L. infantum* e coinfectados com helmintos intestinais do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

	<b>Monoinfectados por <i>L. infantum</i> N= 10</b>	<b>Coinfectados por helmintos intestinais N= 32</b>	<b>Valor de referência</b>	<b>Valor de <i>p</i></b>
Hemácias	5,15 $\mu$ l (IC95%: 1,03)	5,29 $\mu$ l (IC95%: 0,40)	5,5-8,5 (x 10 <sup>6</sup> / $\mu$ l)	0.9884109
Hematócrito	37,48%	36,19%	37 a 55 (%)	0.7381705

N: número total de cães, IC95%: intervalo de confiança de 95%.

**Tabela 7:** Média da análise hematológica para presença e ausência de infecção por *Ancylostoma* sp. em cães soropositivos para LVC do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

	<b>Infecção por <i>Ancylostoma</i> sp. N=</b> <b>21</b>	<b>Ausência de infecção por <i>Ancylostoma</i> sp. N= 26</b>	<b>Valor de referência</b>	<b>Valor de <i>p</i></b>
Hemácias	5,35 $\mu$ l (IC95%: 0,55)	5,19 $\mu$ l (IC95%: 0,61)	5,5-8,5 (x 10 <sup>6</sup> / $\mu$ l)	0.6707126
Hematócrito	35,57%	37,25%	37 a 55 (%)	0.7262891

N: número total de cães, IC95%: intervalo de confiança de 95%.

**Tabela 8:** Análise do tipo de anemias nos cães soropositivos para LVC monoinfectados por *L. infantum* e coinfectados com helmintos intestinais do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

<b>Anemias</b>	<b>Monoinfectados por <i>L. infantum</i> N= 10</b>	<b>Coinfectados por helmintos intestinais N= 32</b>	<b>Valor de <i>p</i></b>
Macrocítica hipocrômica	4 (40%)	12 (37,5%)	0.0455
Macrocítica normocrômica	1 (10%)	3 (9,37%)	0.3173
Microcítica hipocrômica	1 (10%)	8 (25%)	0.01963
Microcítica normocrômica	0	5 (15,6%)	0.02535
Normocítica normocrômica	4 (40%)	2 (6,25%)	0.4142
Normocítica hipocrômica	0	1 (3,12%)	0.3173
Não anêmico	0	1 (3,12%)	0.3173

**Tabela 9:** Análise do leucograma dos cães soropositivos para LVC monoinfectados por *L. infantum* e coinfectados com helmintos intestinais do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

	<b>Monoinfectados por <i>L.</i> <i>infantum</i> N= 10</b>	<b>Coinfectados por helmintos intestinais N= 32</b>	<b>Valor de <i>p</i></b>
Eosinofilia	1 (10,0%)	4 (12,5%)	0.1797
Monocitose	1 (10,0%)	2 (6,25%)	0.3173
Linfocitose	0	2 (6,25%)	0.1573
Linfopenia	3 (33,3%)	7 (21,8%)	0.2059
Sem alteração	5 (50,0%)	17 (53,1%)	0.01638

### 5.6 Quantificação de helmintos e análise multivariada

Os helmintos intestinais encontrados durante a necropsia dos cães soropositivos para LVC foram identificados a nível de espécie. Dos 36 cães soropositivos parasitados por helmintos intestinais, um total de 26 (72,2%) cães estavam monoparasitados e 10 (27,7%) apresentaram coinfeções helmínticas. Os cães estavam monoparasitados em maior frequência pelos parasitos *Ancylostoma* sp. e *D. caninum* (Tabela 10). A tabela 11 apresenta informações sobre a prevalência, carga parasitária média, intensidade e amplitude de variação das espécies de helmintos identificadas nos cães soropositivos. Em relação à identificação dos ancilostomídeos, a frequência de infecção pela espécie *A. braziliense* foi de 27,6% e de 17,02% para *A. caninum*. Na tabela 12, é possível analisar a correlação entre a idade dos animais infectados e a frequência de infecção parasitária e os valores de *p*. Os cães que não tiveram as idades confirmadas não entraram no cálculo de frequência parasitária. A tabela 13 é possível observar a prevalência de helmintos intestinais e o sexo dos cães e não houve diferença significativa entre os grupos (*p*= 0.3065). A tabela 14 apresenta a comparação a partir da média de carga parasitária de *L. infantum* na medula óssea e do OPG dos cães monoinfectados e coinfectados. Por fim, a tabela 15, destaca a associação entre a carga parasitária de *L. infantum* na medula óssea e *Ancylostoma* com diferentes variáveis dos cães soropositivos para LVC.

**Tabela 10:** Frequência de helmintos intestinais em cães soropositivos necropsiados do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

<b>Helmintos intestinais</b>	<b>N= 36</b>	<b>Frequência (%)</b>
<i>Ancylostoma</i> sp.	12	33,3%
<i>Dipylidium caninum</i>	12	33,3%
<i>Ancylostoma</i> sp. + <i>D. caninum</i>	7	19,4%
<i>Ancylostoma</i> sp. + <i>D. caninum</i> + <i>T. canis</i>	2	5,5%
<i>Dipylidium caninum</i> + <i>Toxocara canis</i>	1	2,7%
<i>Toxocara canis</i>	1	2,7%
<i>Trichuris vulpis</i>	1	2,7%

N: número de cães parasitados; %: porcentagem de cães parasitados.

**Tabela 11:** Frequência, carga parasitária média, intensidade média e amplitude de variação de helmintos intestinais em 47 cães necropsiados e soropositivos para LVC do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

<b>Helmintos</b>	<b>Frequência (%)</b>	<b>Carga parasitária média de adultos encontrados</b>	<b>Intensidade média de adultos encontrados</b>	<b>Amplitude de variação</b>
<i>A. braziliense</i>	27,6%	9,13	33,0	1-213 (212)
<i>A. caninum</i>	17,02%	1,57	12,33	5-31 (26)
<i>D. caninum</i>	46,8%	-	-	-
<i>T. canis</i>	8,5%	0,38	4,5	1-15 (14)
<i>T. vulpis</i>	2,1%	0,02	1,0	1

**Tabela 12:** Relação da frequência de parasitoses intestinais com a idade dos cães soropositivos para LVC do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

<b>Enteroparasitos</b>	<b>1 - 3 anos (%)</b>	<b>4 - 6 anos (%)</b>	<b>+7 anos (%)</b>	<b>Valor de p</b>
<i>Ancylostoma</i> sp.	2,12%	6,38%	12,7%	0.7799
<i>D. caninum</i>	6,38%	4,25%	12,7%	0.1824
<i>T. canis</i>	8,51%	0	0	0.3679
<i>Giardia</i> sp.	4,25%	8,5%	2,12%	0.8286
<i>Sarcocystis</i> sp.	4,25%	0	0	0.3679
Coinfecções helmínticas	2,12%	4,25%	10,6%	0.6547

**Tabela 13:** Prevalência de helmintos intestinais e o sexo dos cães soropositivos para LVC necropsiados do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

<b>Helminto intestinal</b>	<b>Macho (N= 24)</b>	<b>Fêmea (N= 23)</b>	<b>Total (N=47)</b>
<i>Ancylostoma</i> sp.	13 (54,1%)	8 (34,7%)	21 (44,6%)
<i>D. caninum</i>	15 (62,5%)	8 (34,7%)	23 (48,9%)
<i>T. canis</i>	4 (100%)	0	0
<i>T. vulpis</i>	1 (100%)	0	0

N: número total de cães.

**Tabela 14:** Tabela comparativa entre a carga parasitária de *L. infantum* na medula óssea, helmintos intestinais adultos e carga parasitária encontrada nas fezes (OPG) de cães soropositivos para LVC do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

<b>Carga <i>Leishmania</i> vs. Carga Helmintos</b>				<b>Estadiamentos LVC vs. OPG</b>			
	Monoinfectados por <i>L. infantum</i> N= 11	Coinfectados por Helmintos Intestinais N= 36 (n=16)	Valor de <i>p</i>	Estad. baixo N= 19 (n=8)	Estad. médio N=16 (n=4)	Estad. grave N= 12 (n=4)	Valor de <i>p</i>
Mediana c.p. medula (Min-Max)	6,96 cp/μl (0,00-285.834,13)	0,81 cp/μl (0,00-1.957.978,43)	0.6597905	0,68 cp/μl (0,00-267.957,93)	3,20 cp/μl (0,00-28.160,98)	12,92 cp/μl (0,00-1.957.978,43)	0.4216
Média OPG	0	1.204	X	444	2508	814	0.6929

N: número total de cães, n: número total de cães da média do OPG, c.p.: carga parasitária, Estad.: estadiamento, HI: helmintos intestinais, OPG: ovos por grama, cp/μl: cópias por microlitro; Min: mínimo; Max: máximo. Baixa OPG: 50-100 OPG; média OPG: 150-500 OPG; alta OPG: >500 OPG (RODRÍGUEZ-VIVAS et al., 2011).

**Tabela 15:** Tabela de associação entre a carga parasitária de *L. infantum* na medula óssea e *Ancylostoma* com variáveis dos cães soropositivos para LVC do município de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

	OR	Erro padrão	IC: 95%
CPM x Sinais clínicos	1.0296	0.002	1.0256 - 1.0336
CPM x Estadiamento grave	1.5899	0.0087	1.5630 - 1.6172
CPM x Estadiamento médio	1.3553	0.0081	1.3339 - 1.3771
CPM x Hemácias	0.6623	0.0023	0.6594 - 0.6652
<i>Ancylostoma</i> x Estadiamento grave	2.7969	0.1354	2.1449 - 3.6473
<i>Ancylostoma</i> x Estadiamento médio	3.3621	0.1231	2.6413 - 4.2796
<i>Ancylostoma</i> x Sinais clínicos	1.1737	0.0283	1.1105 - 1.2405
<i>Ancylostoma</i> x Hemácias	0.9278	0.0327	0.8702 - 0.9893

CPM: carga parasitária de *Leishmania* na medula óssea; OR: Odds-Ratio; IC: intervalo de confiança.

### 5.7 Mapeamento de cães para Leishmaniose Visceral Canina e parasitoses intestinais na zona urbana de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

Figura 18 apresenta os dados dos exames sorológicos de 98 cães examinados para LVC na zona urbana de Porteirinha. Uma análise espacial mais detalhada da distribuição dos casos positivos para LVC não foi feita, mas é possível identificar bairros com uma concentração maior de cães positivos (bairros São Judas e União, Cidade Alta). Em relação aos parasitos intestinais, a plotagem da distribuição dos parasitos (Figura 19) também demonstrou uma concentração semelhante de animais mono- ou poliparasitados nos mesmos bairros mencionados anteriormente para a distribuição da LVC.

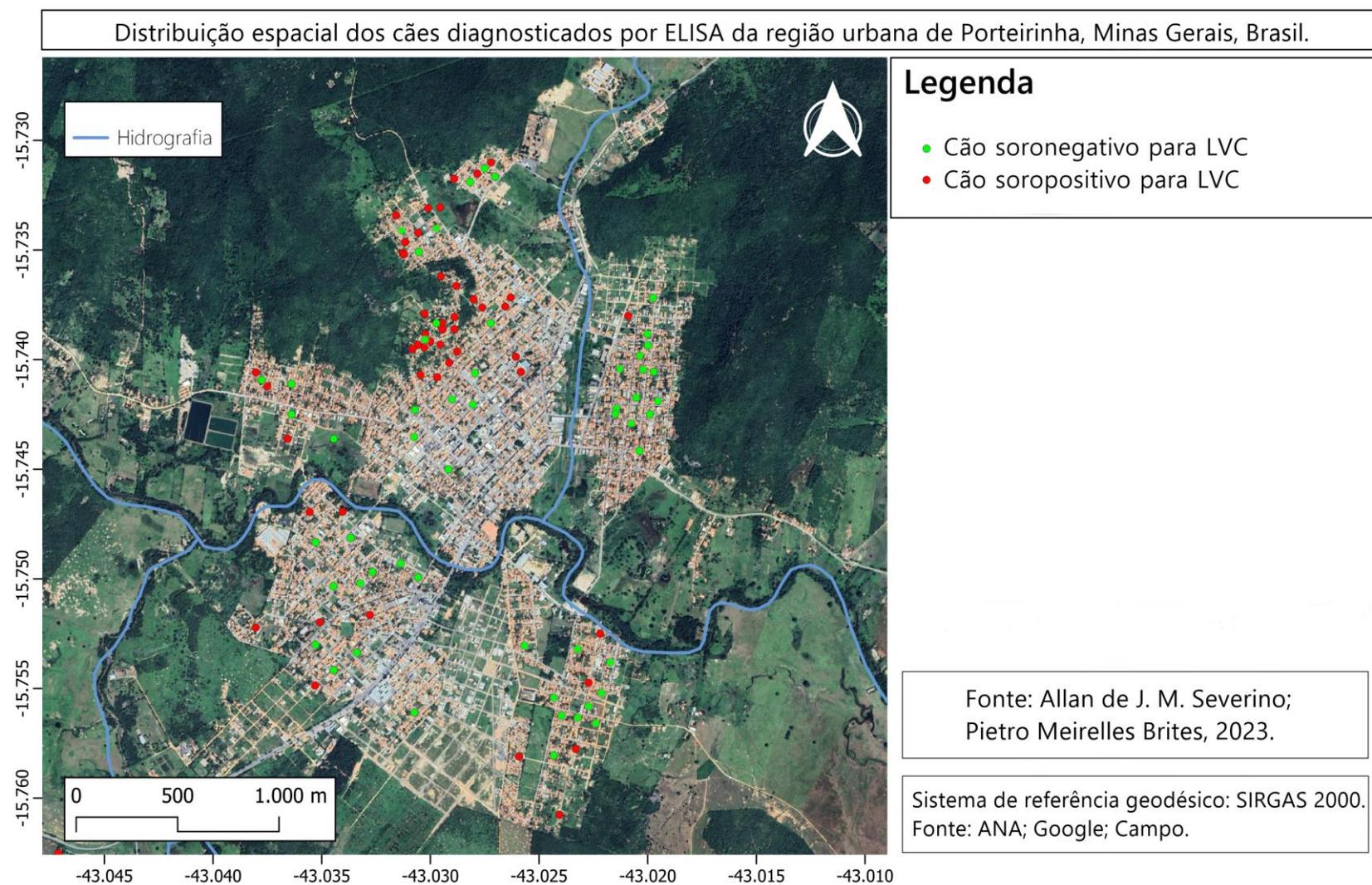


Figura 17 – Distribuição espacial dos cães examinados (n=98) por ELISA *in house* sanduíche na região urbana de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil. Pontos verdes representam cães soronegativos e pontos vermelhos cães soropositivos para Leishmaniose Visceral Canina.

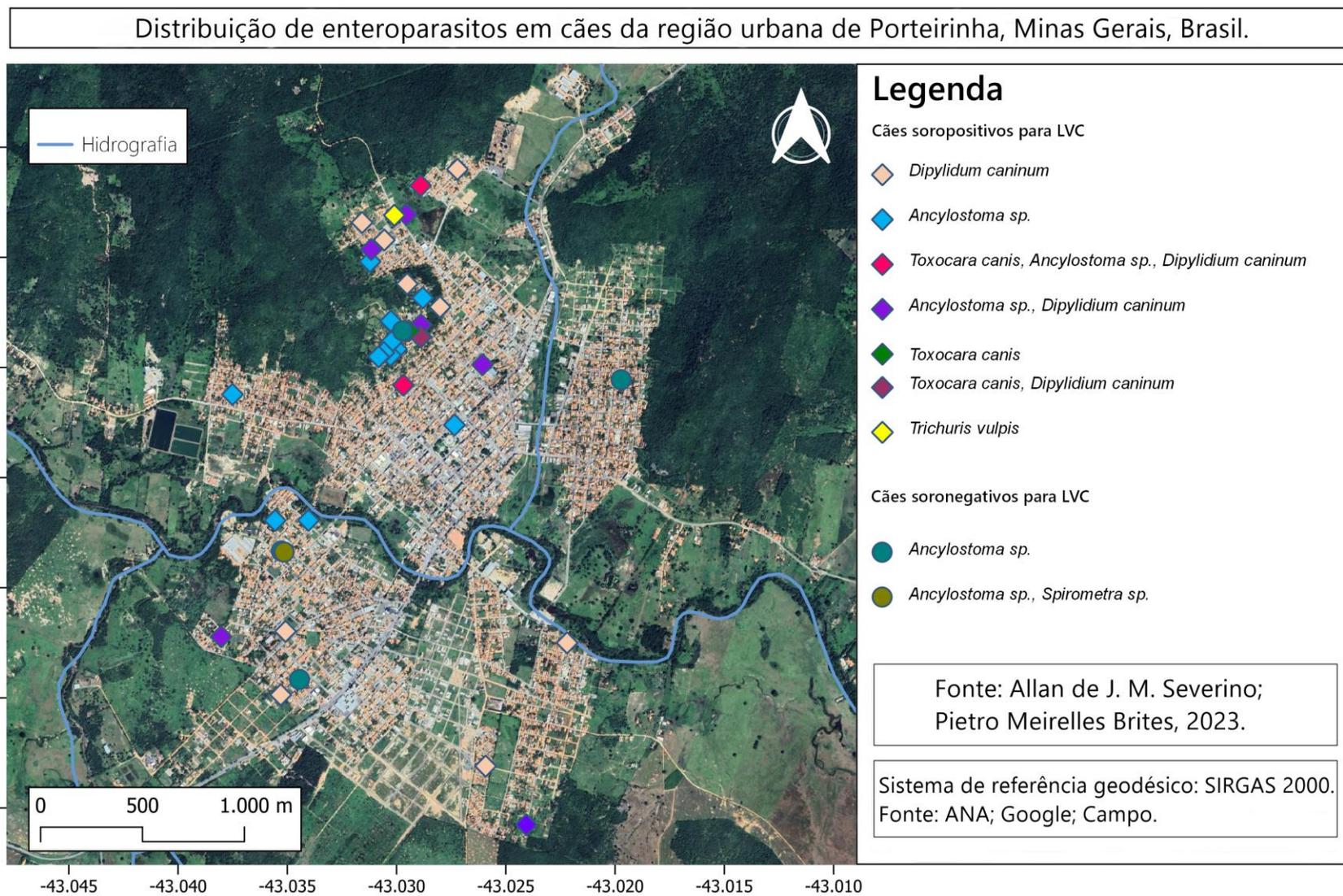


Figura 18 – Distribuição espacial de enteroparasitos em cães da região urbana de Porteirinha, Minas Gerais, Brasil.

## 6 DISCUSSÃO

Considerando que todos os cães analisados nesse estudo eram de origem doméstica, era esperado que a frequência de infecções parasitárias intestinais fosse reduzida. A alta frequência de parasitos intestinais, presume que não eram tratados com antiparasitários regularmente pelos tutores. Em um estudo realizado por Ferraz et al. (2022), os autores evidenciaram que 71,7% das amostras fecais de cães apresentaram positividade para pelo menos um gênero de parasito intestinal. Castro (2019) e Azevedo (2020), em estudos com cães soropositivos para LVC, relataram positividade de 65% e 50%, respectivamente. Conforme os resultados coproparasitológicos obtidos no presente estudo, foi verificada uma frequência de 86,04% para os cães soropositivos para LVC, e em contraste uma frequência de 45,8% observada nos animais soronegativos para LVC. Essa alta taxa de infecções parasitárias intestinais pode ser explicada devido a 82,9% dos cães soropositivos possuírem acesso ao ambiente externo da residência. Em comparação, 87,5% dos cães soronegativos possuíam acesso ao exterior, no entanto tiveram uma menor taxa de infecção parasitária. Essa menor taxa de infecção nos cães soronegativos, pode estar associada à utilização periódica de antiparasitários por parte dos tutores e pelo número amostral de cães. A alta frequência dos parasitos intestinais também coincidiu com um número maior de cães soropositivos para LVC e também com condições de moradias mais precárias em certos bairros da zona urbana, conforme já descrito por França-Silva et al. (2005) e Barata et al. (2011).

Em relação aos helmintos e protozoários intestinais diagnosticados do presente estudo, Dado et al. (2012) e Trasviña-Muñoz et al. (2017), demonstraram que o acesso ao ambiente externo é um fator de alto risco para infecção por enteroparasitos. No estudo realizado em parques públicos na Espanha, foi detectado uma variedade de enteroparasitos em amostras de solo. Os resultados desse trabalho mostram que as áreas públicas podem representar um risco significativo para a saúde pública, especialmente para grupos vulneráveis, como crianças, idosos e pessoas em situação de rua. No segundo estudo, realizado no México, uma alta prevalência de parasitos intestinais zoonóticos como *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum*, *Ancylostoma braziliense* e *Giardia* sp. foram diagnosticados. A partir desses estudos, os autores concluíram que os cães errantes podem ser uma importante fonte de infecção para os seres humanos e outros animais, bem como um indicador da qualidade do ambiente. Em ambos os estudos, foi evidente a necessidade de medidas preventivas para reduzir a transmissão de parasitos intestinais, como a melhoria das condições sanitárias e utilização de antiparasitários (DADO et al., 2012; TRASVIÑA-MUÑOZ et al., 2017).

Outro fator para a alta prevalência de enteroparasitoses nos cães soropositivos para LVC

desse estudo, pode estar associada a origem desses cães, de abrigos ou canis e o contato com animais errantes. Outros estudos realizados no Brasil (LOPES et al., 2012; FERREIRA et al., 2013; VATTA et al., 2015; CARNEIRO et al., 2016) também relataram *Ancylostoma* sp., *Toxocara* sp., *Giardia* sp. e *Trichuris vulpis* com alta frequência em cães de canis e errantes. Nestes trabalhos anteriores, a infecção por *Ancylostoma* sp. foi a mais prevalente com variação de taxas entre 41,2% e 53,3%, enquanto *Toxocara* sp. foi o segundo parasito mais prevalente com variação de taxas entre 9,6% e 35,2%. Para *Giardia* sp. as frequências de infecções variaram entre 13,3% e 27,1%. Acerca das infecções por *Giardia* sp. nesses cães domésticos, é crucial adotar medidas sanitárias eficazes com o objetivo de reduzir a contaminação ambiental e diminuir o risco de infecção humana. Em relação aos enteroparasitos diagnosticados no presente estudo, para os cães soropositivos para LVC a infecção por *Ancylostoma* sp. foi encontrada em mais de um terço dos cães (41,8%), seguido por *Giardia* sp. (27,9%). Para os cães soronegativos para LVC, a infecção por ancilostomídeos foi ainda a mais frequente, mas a frequência foi significativamente menor (29,1%) e o mesmo ocorreu para a infecção por *Giardia* sp. (16,6%).

De forma geral, no presente estudo foram identificados um total de sete gêneros de parasitos intestinais, semelhante a resultados de estudos anteriores realizados em relação aos gêneros e espécies diagnosticados em cães mundialmente (PALMER et al., 2008; ORTUÑO et al., 2011; BECKER et al., 2012; SOMMER et al., 2017). Assim como observado em diferentes trabalhos no Brasil, o gênero mais prevalente neste estudo foi *Ancylostoma* sp., causador da ancilostomíase em cães e, acidentalmente, da larva *migrans* cutânea em seres humanos. Gennari et al. (1999); Blazius et al. (2005); Araújo (2006) e Bernardes et al. (2015) também encontraram maior prevalência da contaminação ambiental por *Ancylostoma* sp. em análise de solo e amostras fecais de cães. As prevalências elevadas da parasitose em todos os grupos etários de cães podem ser explicadas pelo fato que não há imunidade protetora durante a infecção e, conseqüentemente, o cão permanece suscetível a reinfeções ao longo da vida dele, como confirmado por Boag et al. (2003).

No que diz respeito à idade, a infecção por ancilostomídeos foi mais frequente nos cães com mais de 7 anos. Em estudos em diferentes países, em que a idade dos cães era conhecida, as infecções por *Ancylostoma* sp. ocorreram também em todas as idades, com destaque para os animais mais jovens (PALMER et al., 2008; ORTUÑO et al., 2011; BECKER et al., 2012; SOMMER et al., 2017). Esse achado pode indicar que para esses cães, não eram utilizados antiparasitários como forma de tratamento e prevenção. Para *Toxocara canis*, causador da toxocaríase, foram observados ovos do parasito apenas no grupo dos soropositivos para LVC,

de idade 1-3 anos e com frequência de 4,6%. Este resultado foi menos expressivo do que o relatado por Fisher et al. (2003); Táparo et al. (2006); Ferraz et al. (2022) que obtiveram frequências de 19,3%, 20,7% e 9,0%, respectivamente. Visto que a maioria dos cães deste estudo eram animais com idade superior a 5 anos, era esperado uma menor frequência de infecção por *T. canis*, já que a maioria das infecções acometem cães filhotes e jovens (SCHWARTZ et al., 2022). Nos cães adultos, a infecção é menos recorrente já que os animais conseguem obter uma certa imunidade contra reinfecções e contra o helminto adulto (SCHNIEDER et al., 2011; OVERGAAUW et al., 2013). Devido a esses fatores, pode ser explicado a baixa prevalência de *T. canis* nos cães eutanasiados e necropsiados. Apesar do baixo resultado, *T. canis* é um parasito zoonótico presente em todas as regiões do Brasil. Ferraz et al. (2022) destaca que em estudos realizados em crianças de escolas de vários estados brasileiros constataram a presença de anticorpos anti-*Toxocara*, que variou de 15,0% a 51,6%. Esse valor expressivo demonstra uma importância epidemiológica no país, em razão das possíveis manifestações clínicas por LMV e LMO em seres humanos.

A baixa prevalência de helmintos adultos de *T. vulpis* no presente estudo pode ter vários fatores, como o período pré-patente da infecção ou ausência local da forma infectante para o cão. Esse parasito é comumente diagnosticado em cães de diversos estados do Brasil, contrapondo os resultados do presente trabalho, em um estudo em Maringá, Capuano & Rocha (2006) verificaram prevalência de 15,7% para *T. vulpis* em 303 amostras fecais. Em Santa Catarina, Blazius et al. (2005) verificou 13,9% de positividade em 158 amostras de fezes, os tricurídeos estão entre os helmintos de maior frequência em animais de companhia, junto a *Ancylostoma* sp. e *Toxocara* sp.. A positividade de cistos de *Giardia* sp. detectados em ambos grupos de cães não foi semelhante, com frequência de 27,9% em cães soropositivos para LVC e 16,6% em animais soronegativos para LVC. Marques & Borges (2014) e Quadros et al. (2013), em estudos com amostras fecais de cães, detectaram frequência de 27,33% e 9,26% de cistos em amostras fecais, respectivamente, e com frequência semelhante a este estudo. Devido a eliminação dos cistos nas fezes não seja contínua, isso pode ter afetado o número de cães diagnosticados como positivos; quando o número de cães pode ser superior ao encontrado. Quanto aos resultados coproparasitológicos de *D. caninum*, *Cystoisospora* sp. e *Sarcocystis* sp., representaram um menor número na frequência de positividade. A frequência encontrada para *D. caninum*, foi de 9,3% semelhante ao diagnosticado por Azevedo (2020) em cães soropositivos para *L. infantum*. Em cães não testados para *L. infantum*, Gennari et al. (1999) e Tesserolli, Fayzano, Agottani (2005) detectaram frequência de 0,28% e 1,85% em 353 e 280 amostras, respectivamente. Para diagnosticar a infecção por *D. caninum*, que é transmitida pela

ingestão de pulgas e piolhos, o método recomendado é a observação de proglótides próximos às fezes, sendo a microscopia utilizada em poucas ocasiões (ROUSSEAU et al., 2022). O diagnóstico por microscopia da dipilidiose pode ser subestimado, quando baseado apenas em exames coproparasitológicos. Geralmente é recomendado o uso de múltiplas amostras para compensar possíveis resultados falso-negativos (ROUSSEAU et al., 2022).

O grupo dos cães soronegativos foi o único a ser detectado infecções pelo coccídeo *Cystoisospora* sp., com frequência de 12,5%. Segundo Tesserolli, Fayzano e Agottani (2005) e Ferreira et al. (2013), encontram frequência maior deste protozoário intestinal de 38,90% e 23,74%, respectivamente quando comparado a *Giardia* sp.. A alta frequência também está associada aos oocistos, que são altamente resistentes e podem permanecer viáveis no ambiente por longos períodos com transmissão por alimentos ou água contaminados (BATCHELOR et al., 2008; RIGGIO et al., 2013). Ambos os grupos de cães apresentaram infecções para *Sarcocystis* sp., com frequência de 4,6% para os soropositivos e 4,16% para os soronegativos. Na literatura, os registros de *Sarcocystis* sp. em cães são variáveis conforme a localização geográfica, os hábitos alimentares e de aptidão, no geral, a frequência do parasitismo é baixa. Labruna et al. (2006); Leal et al. (2015); Alves, Gomes, Silva (2023) relataram frequências de positividade de 18,9%, 1,08% e 0,26%, respectivamente. No presente estudo, todos os cães infectados por este coccídeo possuíam acesso ao exterior do domicílio, o que facilita a predação de hospedeiros intermediários infectados.

Além dos parasitos intestinais usuais de cães, no presente estudo também foi relatado infecção pelo cestódeo *Spirometra* sp. no grupo dos cães soronegativos para LVC. As infecções caninas são relativamente raras, e podem ocorrer em áreas que os cães são expostos a animais selvagens ou a carne crua infectada. Em estudos coproparasitológicos no Brasil com amostras caninas e felinas, a prevalência também foi baixa comparado ao presente estudo, com frequências de 0,5%, 0,92%, 1,7%, 2,4% e 2,6% (DALL et al., 2010; PIVOTO et al., 2013; MARQUES et al., 2017; FERRAZ et al., 2021; FERRAZ et al., 2022). Com base nesses estudos, pode-se observar que a prevalência relatada de infecções por *Spirometra* sp. em cães no Brasil é geralmente baixa. Em outro estudo realizado por Mudim et al. (2004) foi constatado, a prevalência de *Spirometra* sp. em gatos de 4% de positividade no município de Uberlândia, com animais necropsiados. Esse cestódeo pseudofilídeo, possui potencial zoonótico, causador da esparganose, infecção causada pelo encistamento da larva plerocercóide no tecido subcutâneo de humanos (QIU et al., 2009). Contudo, a ocorrência de infecções humanas não é relatada com frequência no país e os casos diagnosticados são considerados isolados. As infecções são relatadas em formas de casos esporádicos como publicado por Mentz et al. (2011)

com o registro de esparganose ocular no sul do Brasil. Como não há informações suficientes na literatura sobre a prevalência e incidência da infecção, ainda não é possível estabelecer a epidemiologia da infecção e da doença no país.

Na comparação dos resultados obtidos por meio de métodos coproparasitológicos com resultados das necropsias, verificou-se que os helmintos *Ancylostoma* spp. e *D. caninum* foram os mais frequentes nos cães soropositivos para LVC. A necropsia dos cães soropositivos revelou um número superior ao encontrado pelos métodos utilizando amostras fecais. Essa divergência foi relatada também por Presotto (2009); Coelho et al. (2011) e De Lima et al. (2011). Existem algumas razões pelas quais a necropsia pode identificar mais parasitos do que os métodos coproparasitológicos. Uma delas é que a detecção de formas parasitárias nas fezes pode ser afetada por vários fatores, como a fase do ciclo de vida do parasito, o método de diagnóstico e a carga parasitária presente no trato gastrointestinal. Na literatura, diferentes autores destacam duas espécies como as de maior frequência em cães (DA SILVA et al., 1994; BRESCIANI et al., 2008; PRESOTTO, 2009; DE LIMA et al., 2011; SALDANHA-ELIAS et al., 2019; AZEVEDO, 2020). Da Silva et al. (1994), descreveu uma frequência de 90,9% para *Ancylostoma* spp. e 86,4% para *D. caninum* na cidade de Belo Horizonte, Bresciani et al. (2008) relatou para *Ancylostoma* sp., 75,38% e para *D. caninum*, 60% de positividade em estudo realizado em Araçatuba. Presotto (2009) em um estudo também com cães adultos de Hortolândia, descreveu para *Ancylostoma* sp., 72% e *D. caninum*, 64% de positividade. De Lima et al. (2011) em um estudo feito em Recife, verificou 96,8% de positividade para *A. caninum* e 83,3% para *D. caninum*. Em outro estudo realizado em Belo Horizonte com cães errantes, Saldanha-Elias et al. (2019) verificou 63,4% de positividade para *Ancylostoma caninum*, 24,7% para *Ancylostoma braziliense* e 61,3% para *Dipylidium caninum*. Azevedo (2020) em um estudo com cães soropositivos para LV no estado do Rio de Janeiro, também observou alta positividade de ancilostomídeos e *D. caninum* em comparação a outros enteroparasitos.

Os estudos citados acima demonstraram que os helmintos *Ancylostoma* spp. e *D. caninum* são frequentes em cães em diferentes regiões do Brasil. As taxas de positividade variaram um pouco de um estudo para outro, mas em geral, os resultados indicaram que esses parasitos são comuns entre os cães adultos e representam um importante problema de saúde pública. Esses helmintos possuem potencial zoonótico, para *Ancylostoma* sp., as larvas filarióides são causadoras da LMC (larva *migrans* cutânea) durante a penetração e migração das larvas na epiderme humana. Para *D. caninum*, a ingestão de pulgas infectadas com a larva cisticercóide provocam a dipilidiose, embora seja rara, os relatos de infecção intestinal humana

merecem notoriedade devido a alta prevalência em cães (ROUSSEAU et al., 2022). Portanto, esses estudos destacam a importância de medidas preventivas, como a desparasitação regular dos animais de estimação, a fim de reduzir a prevalência desses parasitos intestinais e possíveis infecções humanas. Em relação às espécies de ancilostomídeos do presente estudo, a maior frequência foi de *A. braziliense* com 27,6% e de 17,02% para *A. caninum*. Essa ocorrência difere dos estudos anteriormente citados, no entanto, Coelho et al. (2011) descreveu frequência semelhante para infecções em gatos domésticos.

Em comparação ao sexo dos cães, a maior taxa de infecção por enteroparasitos nos cães soropositivos ocorreu nos cães machos. Para o grupo dos cães soronegativos, a maior taxa de infecção por enteroparasitos ocorreu nas fêmeas, porém, com diferença pequena entre os sexos. Os resultados em relação ao sexo obtidos neste trabalho são semelhantes ao encontrado por Eguia-Aguilar; Cruz-Reyes; Martinez-Maya (2005); Papazahariadou et al. (2007) e Bwalya et al. (2011) em estudos com cães no México, Grécia e Zâmbia, respectivamente. No presente estudo, a partir da necropsia e dos métodos coproparasitológicos dos cães soropositivos, ocorreu maior frequência dos helmintos *Ancylostoma* sp., *D. caninum*, *T. canis* e *T. vulpis* em cães machos. Os resultados obtidos são semelhantes aos achados de Oliveira-Sequeira et al. (2002), em que os machos adultos apresentaram uma prevalência maior de *Ancylostoma* sp., *T. canis*, *T. vulpis* em comparação com fêmeas da mesma faixa etária. Embora não tenha especificado possíveis influências do maior parasitismo nos machos.

Quanto à idade dos cães, no presente trabalho, foi verificada uma diferença entre as idades para *Giardia* sendo a maior frequência nos cães menores de 6 anos e semelhança com a prevalência de parasitoses nos machos como verificado por Oliveira-Sequeira et al. (2002). Devido aos cães soropositivos terem a idade média de sete anos e pertencerem ao ambiente domiciliar, previa-se que a prevalência de infecção por helmintos e protozoários intestinais seria baixa, uma vez que essas infecções são mais comuns em cães jovens e errantes. Isso porque os cães jovens, são mais suscetíveis às helmintoses intestinais, pois ainda não desenvolveram imunidade. Enquanto os adultos são menos predispostos devido à imunidade adquirida por infecções anteriores (BALASSIANO, et al., 2009). Em relação aos cães errantes, o parasitismo possui maior ocorrência devido a falta de cuidados de higiene e saúde, má nutrição, contato com animais infectados e condição de vida insalubre (CASSENOTE et al., 2011).

Em relação aos resultados da utilização de técnicas para o diagnóstico coproparasitológico, foi observado que a técnica de sedimentação espontânea apresentou maior sensibilidade na detecção de ovos de helmintos e oocistos de protozoários em amostras fecais de cães, conforme também observado em estudos por Táparo et al. (2006). Ferraz et al. (2018),

também com um estudo comparativo de métodos, concluíram que a técnica de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco e sedimentação espontânea apresentaram maior sensibilidade na detecção de cistos de *Giardia* spp. em amostras fecais de cães. Esses resultados, corroboram com o do presente estudo, que demonstrou maior sensibilidade na detecção das formas infectantes de todos os protozoários intestinais a partir da sedimentação espontânea. Táparo et al. (2016), afirmam que a técnica de Willis foi pouco eficiente na detecção de ovos de helmintos e não foi indicada para esse tipo de análise. A partir das diferentes comparações de métodos coproparasitológicos na literatura, o método de Willis não foi incluído no presente estudo sendo substituído pelo método de Ritchie, que abrange maior possibilidade no encontro de ovos leves e pesados de helmintos. O método de Ritchie foi o único a detectar a presença de cápsulas ovíferas de *D. caninum*, semelhante ao resultado de Alves et al. (2016). No geral, a escolha da técnica mais adequada para cada caso deve levar em consideração a sensibilidade e a praticidade, além do tipo de estágio parasitário que se pretende identificar e além da composição do material fecal a ser examinado. É recomendável utilizar mais de uma técnica para o diagnóstico coproparasitológico, pois um único método pode não ser capaz de detectar completamente todos os enteroparasitos presentes (TÁPARO et al., 2006). A utilização de diferentes métodos foi importante no presente estudo, considerando que muitos dos animais apresentaram coinfeções intestinais por diferentes gêneros de enteroparasitos.

O teste quantitativo e qualitativo de McMaster apresentou um bom desempenho na detecção de ovos de helmintos intestinais, em indivíduos com média e alta carga parasitária. Com isso, o método não se adequa como única técnica utilizada para diagnóstico de helmintoses intestinais em cães. Embora sua sensibilidade possa variar, esse método é considerado útil na determinação da carga parasitária na área de medicina veterinária. Embora haja modificações na metodologia para aumentar a sensibilidade no diagnóstico de diferentes cargas parasitárias, Cardoso et al. (2023) concluíram que a técnica padrão Gordon e Whitlock (1939) continua a ser a mais eficiente em comparação com as modificações existentes. Quando comparado a outras técnicas e métodos de diagnóstico de carga parasitária por OPG na medicina veterinária, o método de McMaster apresenta menor sensibilidade na detecção de formas parasitárias de enteroparasitos. Em um estudo comparativo entre o método de McMaster com método de FLOTAC com ruminantes, Johnson et al. (2022) concluíram que o método de FLOTAC obteve uma maior sensibilidade na detecção de parasitos intestinais. Cringoli et al. (2011) em um estudo com amostras fecais de cães, utilizaram diferentes métodos para avaliar a eficácia de diferentes métodos para detecção de ancilostomídeos. Os resultados mostraram que o método FLOTAC também apresentou uma maior sensibilidade em relação ao método de McMaster,

detectando um número maior de ovos por grama de fezes. Apesar desses resultados, no presente estudo, houve associação significativa entre a carga parasitária de fêmeas de *Ancylostoma* com o método de OPG. Esse resultado demonstra que o método de McMaster foi satisfatório devido aos hospedeiros apresentarem carga parasitária média e alta. Pelo método de McMaster, apenas ovos de *Ancylostoma* sp. e *T. canis* foram identificados para os cães soropositivos para LVC. Para os cães soronegativos, apenas ovos de *Spirometra* sp., foram identificados, isso sugere que os cães positivos para ancilostomídeos tiveram apenas uma carga parasitária baixa.

No que se refere ao OPG para cada estadiamento, observou-se que os cães do estadiamento médio apresentaram maior média de OPG. Nesses cães, a maioria estava infectada por ancilostomídeos, o que corrobora com o valor da média do OPG, visto que esses helmintos produzem grande quantidade de ovos diariamente (SOWEMIMO & ASAOLU, 2008). Os cães do estadiamento grave, obtiveram a segunda maior média de OPG. É importante destacar que a grande parte desses cães estavam infectados por *D. caninum*, o que pode ter dificultado a detecção de ovos de ancilostomídeos pelo método McMaster. Esses cães infectados por *D. caninum* estavam com alta carga parasitária e com tecido intestinal obstruído, o que também poderia ter criado uma concorrência entre as espécies de helmintos intestinais (POULIN, 2001). Como apenas ovos de *Ancylostoma* sp. e *T. canis* foram detectados pelo método de McMaster, a avaliação da prevalência de outros parasitos intestinais foi limitada nos cães estudados. O estadiamento baixo obteve a menor média de OPG mesmo sendo o grupo com maior número de helmintos analisados pelo método. Essa baixa frequência também está associada a infecções por *D. caninum* e a impossibilidade de diagnóstico por essa metodologia. A partir da detecção de *L. infantum* por biologia molecular, os cães de estadiamento grave apresentaram a maior mediana de cópia de *L. infantum* por microlitro e a segunda maior média de OPG. Esse resultado era esperado visto que podem haver diferentes fatores associados como um desvio na resposta imune do hospedeiro (FUJIWARA et al., 2006) e, como consequência, a evolução da leishmaniose canina. Elevadas cargas parasitárias de helmintos intestinais, por exemplo, poderiam ter suprimido a resposta imune dos cães e desviado para um perfil mais do tipo Th2. Como consequência, esta resposta imune inadequada pode ter facilitado uma acelerada multiplicação de *Leishmania* no animal e resultou na detecção de altas cargas parasitárias na medula óssea.

Além do diagnóstico de enteroparasitos, para avaliar a presença de hemoparasitos em cães com sorologia positiva para LVC, foram realizados esfregaços sanguíneos. A presença de hemoparasitoses é conhecida por agravar a infecção por *Leishmania* (TOEPP et al., 2019). Embora não tenha sido possível identificar a nível de espécie os hemoparasitos presentes neste

estudo, Maia et al. (2007) encontraram uma soroprevalência de 18,8% para a espécie *B. vogeli* em cães da zona urbana de Porteirinha. Os autores afirmam ainda que essa prevalência sorológica é menor em comparação com outros estudos no país, e pode estar associada a variações genéticas no carrapato transmissor. Em uma revisão sobre a epidemiologia da babesiose na América Latina e no Caribe, Panti-May e Rodríguez-Vivas (2020) destacaram o Brasil como um país endêmico para a babesiose canina. Em muitas regiões do país, especialmente em Minas Gerais, há registros de cães positivos para a doença. Os autores enfatizam a necessidade de estudos moleculares para entender a dinâmica de transmissão da babesiose na região em decorrência das subnotificações. Com isso, a detecção de hemoparasitos em cães é uma preocupação importante devido ao potencial zoonótico de algumas espécies de *Babesia* (*B. microti*, *B. divergens* e *B. bovis*) e as infecções caninas e humanas permanecerem subdiagnosticadas no país.

Em relação ao hemograma, os cães soropositivos e mono infectados com *L. infantum*, apresentaram maior frequência do tipo de anemia normocítica normocrômica e macrocítica hipocrômica. De acordo com Da Silva et al. (2011), a anemia normocítica normocrômica é comum na LVC devido aos processos inflamatórios decorrentes da infecção, que resultam na redução da eritropoiese. Azevedo (2020) destaca que a infecção medular por *L. infantum*, acarreta no infiltrado de linfócitos, plasmócitos e macrófagos no tecido inviabilizando a produção de hemácias. Esse achado hematológico no presente estudo, também sugere que esse tipo anêmico esteja relacionado a LVC no grupo dos cães mono infectados por *L. infantum*. A anemia macrocítica hipocrômica, também relatada nesse grupo de cães, tem como possível causa o parasitismo na medula óssea. Além do parasitismo, deficiência de vitamina B12 e ácido fólico são fatores de agravo para esse tipo de anemia (WEISS et al., 2010). A presença de *L. infantum* na medula óssea, interfere na eritropoiese, resultando em mudanças nos tamanhos e quantidades de hemoglobina produzida para as hemácias circulantes. Além disso, a destruição excessiva das hemácias pelo sistema imunológico e possível deficiência na absorção dos nutrientes essenciais podem agravar o quadro de anemia.

Nos cães coinfetados por helmintos intestinais, os tipos de anemias frequentes foram a macrocítica hipocrômica, seguido da microcítica hipocrômica. De acordo com Da Silva et al. (2011), cães infectados por protozoários do gênero *Leishmania* e *Babesia* também desenvolveram em maior frequência o tipo anemia macrocítica hipocrômica, resultado semelhante ao presente estudo. A anemia macrocítica hipocrômica é um sinal clínico importante no diagnóstico de infecções em cães e frequentemente está associada a condições de doenças parasitárias (SILVA et al., 2011). Por outro lado, a anemia do tipo microcítica

hipocrômica, está frequentemente associada à presença de enteroparasitos que provocam hemorragias e deficiência na absorção de nutrientes em função da carga parasitária. Esse tipo de anemia pode ser resultado de infestações por ectoparasitos quanto de infecções por endoparasitos intestinais (DE MATTOS LENÇE et al., 2021). Além disso, esse tipo de anemia pode afetar diretamente a qualidade de vida do cão, já que as hemácias permanecem com tamanho reduzido e quantidade de hemoglobina abaixo do ideal. A coinfeção nos cães com LV e com ancilostomídeos pode agravar ainda mais a anemia, já que esses parasitos se alimentam de sangue e nutrientes do hospedeiro. A presença de *D. caninum*, também pode ter influenciado o quadro clínico dos animais, visto que a alta carga parasitária do helminto impede uma absorção eficaz dos nutrientes pelo tecido intestinal.

Acerca dos resultados do leucograma dos cães soropositivos para LVC, a linfopenia foi o achado hematológico comum no leucograma dos dois grupos de cães. Diferentes estudos corroboram com o achado do presente estudo. Em um estudo hematológico proposto por Braz et al. (2015), os autores destacaram a linfopenia como a alteração leucocitária mais frequente nos cães soropositivos para LVC. Toscano et al. (2013) e Pinto et al. (2021), também destacaram a linfopenia como alteração hematológica frequente em cães junto a anemia normocítica normocrômica. Segundo Greene et al. (2006), a linfopenia tem como uma das causas a presença do protozoário na medula óssea e destruição de linfócitos pelo próprio sistema imunológico. Durante a infecção por *L. infantum*, a ocorrência da linfopenia também é atribuída pela retenção temporária de linfócitos no baço e linfonodos ou destruição dessas células pelo próprio parasito (BUSH, 2004). Azevedo (2020) em um estudo histológico de enterócitos de cães, verificou alta frequência de infiltrados de linfoplasmocitários o que pode ter contribuído para a taxa da linfopenia. Além disso, destacaram que a substituição por tecido inflamatório no tecido medular devido a multiplicação parasitária pode também estar associada à alteração leucocitária.

A eosinofilia foi observada em baixa frequência no grupo dos cães coinfectados por helmintos intestinais. Essa condição de frequência reduzida pode estar associada à carga parasitária dos helmintos em alguns cães. Em uma investigação sobre a migração de eosinófilos para células da parede intestinal de cães, Silva et al. (2018) sugerem que essas células podem atuar como um mecanismo leishmanicida adicional contra o parasito. Cowell et al. (2009) afirmam que os eosinófilos são escassos em infecções por *L. infantum*, e quando presentes, são observados em processos inflamatórios induzidos pelo protozoário. De acordo com Azevedo (2020), a substituição do tecido hematopoiético por macrófagos infectados também é um fator provável para baixa frequência de eosinófilos devido ao comprometimento da medula óssea.

Para o grupo de cães soropositivos, a infecção por *L. infantum* pode ter sido também um fator importante na frequência e carga parasitária de parasitos intestinais devido ao caráter imunossupressor da doença (TOEPP et al., 2019). No entanto, é importante evidenciar que outros fatores também podem influenciar os sinais clínicos da leishmaniose visceral canina, como a idade do cão, a presença de outras doenças, a virulência da cepa e a carga parasitária de *Leishmania*. A partir da LV, os cães podem ter se tornado suscetíveis a infecções enteroparasitárias conforme relatado por O'Neal et al. (2007); Saridomichelakis et al. (2009); Lana et al. (2018) e Toepp et al. (2019). Nesses estudos, os autores observaram que as coinfeções levaram a um aumento da carga parasitária de helmintos intestinais e conseqüentemente maior comprometimento do sistema imunológico. Em um estudo de associação de LVC com parasitoses intestinais realizado por Castro (2019), a autora concluiu que a infecção por helmintos intestinais favoreceu a manifestação clínica da LV comparado aos que não estavam coinfectados. Azevedo (2020), em um estudo de LV em cães, o autor também sugeriu essa correlação entre as manifestações clínicas e a presença de helmintos intestinais em comparação com cães não infectados por helmintos. Em relação aos sinais clínicos da LVC e independente do parasitismo intestinal ou não, os cães soropositivos apresentaram em maior frequência alopecia, caquexia, onicogribose e linfadenopatia generalizada. A partir dos sinais clínicos classificados pelo estadiamento nos cães com LVC, indica-se também um aumento da gravidade da LVC quando há a presença de helmintos intestinais, em especial ancilostomídeos, o que está de acordo com estudos anteriores de Castro (2019); Toepp et al. (2019) e Azevedo (2020).

Por meio de uma análise estatística pelo mesmo modelo e por valores de odds-ratio, resultou também uma associação positiva entre o aumento da carga parasitária de *Leishmania* na medula óssea (CPM) e os sinais clínicos dos cães em geral. Os resultados demonstraram que a quantidade por microlitro de *L. infantum*, aumenta a chance em cerca de 1,03 vezes no nível dos sinais clínicos nos cães. Essa associação já era esperada, visto que a presença do protozoário na medula óssea interfere diretamente em diversas outras funções fisiológicas do cão (ALMEIDA, 2017). Com isso, pode-se afirmar que quanto maior a carga parasitária na medula óssea maior serão os sinais apresentados pelos cães. Foi observado também que os cães em estágio médio à grave para LVC, tinham uma carga parasitária na medula maior do que aqueles em estágio inicial ou baixo. Em relação à CPM, os cães possuíam 1,59 maior de chance de enquadrar no estadiamento grave. O mesmo ocorreu para cães com estadiamento médio, que apresentaram uma CPM aproximadamente 1,36 vezes maior. Onde o aumento de parasitos na medula óssea aumentou o risco para o desenvolvimento da LVC média e grave. Com a

observação dos valores de odds-ratio, é possível afirmar que a carga parasitária na medula óssea está diretamente relacionada à progressão da doença, confirmando ser mais alta nos estágios avançados da LVC. Em relação ao desenvolvimento de anemia, houve uma associação inversa entre CPM de *Leishmania* ou carga parasitária de adultos de *Ancylostoma* e contagem de hemácias no sangue periférico dos cães. Esta inversão era mais acentuada para a carga parasitária de *Leishmania* (AGUIAR et al., 2007; NICOLATO et al., 2013; SILVA et al., 2018).

Quanto ao impacto e influência da infecção por ancilostomídeos, houve associação positiva quando associado aos estadiamentos dos cães. A presença de helmintos nos cães, apresentou aproximadamente 2,80 vezes mais chances do cão se enquadrar no estadiamento grave comparado aos cães do estadiamento baixo. E para os cães de estadiamento médio, a presença de helmintos intestinais apresentou 3,36 mais chances dos animais se enquadrarem nesse grupo, visto que esse foi o de maior amostragem no estudo e o que apresentou maior frequência do parasito. Sendo assim, a presença e quantidade de ancilostomídeos no presente estudo estiveram diretamente ligadas aos cães dos estadiamentos mais avançados da LVC. Esses resultados contribuem para uma melhor compreensão da interação entre *Leishmania* e helmintos intestinais e a progressão do estágio da doença em cães. Contudo, são necessários estudos adicionais para pesquisar a base da resposta imune canina para avaliar os mecanismos envolvidos na manifestação dos sinais clínicos e no processo de agravamento da doença nos cães.

Existem poucos estudos relacionados a infecções naturais entre leishmaniose visceral canina e helmintos intestinais. Os estudos disponíveis na literatura possuem enfoque em infecções experimentais em camundongos e análises de coinfeções humanas. Os resultados das pesquisas que visaram analisar a associação entre espécies de *Leishmania* com helmintoses intestinais foram semelhantes ao encontrados nesse estudo, reafirmando que há uma associação entre agravamento e a manifestação de sinais clínicos na presença de helmintos intestinais. Em um estudo experimental realizado por Rodríguez-Sosa et al. (2006) com camundongos infectados por *Taenia crassiceps*, os autores concluíram que a presença aguda de cisticercose favoreceu a formação de lesões rápidas e graves em decorrência da infecção por *Leishmania major* e *Leishmania mexicana*. Estudos relacionados à coinfeção entre helmintos intestinais e leishmaniose em humanos revelaram que a presença de helmintos tem um efeito negativo sobre a melhoria clínica após tratamento, a cicatrização e a resposta imunológica contra a leishmaniose tegumentar (AZEREDO-COUTINHO et al., 2016). De acordo com Azeredo-Coutinho et al. (2016), a coinfeção por helmintos intestinais está associada à gravidade de lesões na mucosas e uma resposta terapêutica insatisfatória em pacientes com leishmaniose

tegumentar americana. Esses achados destacaram também a importância da avaliação da presença de helmintos em pacientes com essa doença, bem como a necessidade de um tratamento eficaz para ambas as infecções. Em pacientes com leishmaniose tegumentar, a influência dos helmintos para um tempo maior de cicatrização completa e para lesões mais persistentes foi comprovada (O'NEAL et al., 2007; AZEREDO-COUTINHO et al., 2016).

Além disso, em base da resposta imune desses pacientes foi observado um desvio para um perfil do tipo Th2, em comparação com pacientes sem coinfeções intestinais. Relacionado a resposta imunológica do hospedeiro, Faleiro et al. (2014) destaca que a resposta do tipo Th2 pode ter influenciado a manifestação clínica da leishmaniose. A resposta imune Th2 está associada a um aumento na replicação parasitária, e a uma incapacidade de cura em animais infectados com *L. infantum* devido a interferência na resposta tipo Th1, que é a resposta imune específica do hospedeiro que visa combater a infecção por *Leishmania* spp. (FALEIRO et al., 2014). Isso sugere que a resposta imune Th2 pode ter um papel importante na patogênese da leishmaniose visceral e ser um fator contribuinte para a gravidade da doença. Maurya et al. (2012) destacam que há um risco aumentado de desenvolver leishmaniose visceral em casos de coinfeção com helmintos em regiões endêmicas para LV. Esse risco também é referente a resposta imunológica do hospedeiro, o que pode levar a uma resposta inadequada ao parasito *Leishmania* e, portanto, aumentar a suscetibilidade à infecção (MAURYA et al., 2012). Esses estudos sustentam a hipótese do presente trabalho e fornecem evidências de que o aumento na frequência de sinais clínicos pode estar associado à coinfeção por helmintos intestinais. A manifestação clínica da doença nos cães soropositivos para LVC desse estudo, por exemplo, pode ter sido influenciada pela frequente presença dos ancilostomídeos e o efeito da infecção para a resposta imune do cão, conforme já observado por outros estudos (FUJIWARA et al., 2006). Foi observado também, que os cães no presente estudo com maior carga parasitária de helmintos adultos de *Ancylostoma* sp., estavam com mais sinais clínicos aparentes da LVC.

Em relação à distribuição dos cães soropositivos e soronegativos na região urbana de Porteirinha, no presente estudo, a região norte do perímetro urbano registrou a maior frequência de cães soropositivos para LVC. A região de maior ocorrência de cães com *L. infantum* é semelhante ao encontrado por França-Silva et al. (2005) quando analisada a distribuição de flebotomíneos na área urbana. A alta taxa da população de vetores da LV nesta região pode explicar a grande parte da frequência de infecções dos cães no presente estudo. Essa localidade é rodeada de vegetação que pode abrigar animais silvestres infectados, presença de flebotomíneos, cães e, além disso, conta com um aglomerado de população de baixo nível socioeconômico (BARATA et al., 2011). A partir desses dados obtidos, é possível observar que

esse local ainda permanece registrando as maiores taxas de infecção na região urbana e carece de medidas preventivas. Barata et al. (2011) concluíram também, que nesse local foi o que mais registrou casos de LV na região urbana. Quando analisada a frequência de enteroparasitoses nos cães, a região ao norte da área urbana também registrou as maiores taxas de cães infectados. Essa frequência pode ser explicada devido ao nível socioeconômico dos tutores, o que pode ter inviabilizado a realização de desparasitação dos cães e cuidados veterinários. A falta de estrutura, acesso à educação, saneamento básico e água potável são fatores importantes na manutenção de parasitoses. Todos esses fatores podem ter levado ao aumento de infecções parasitárias nos cães dessa região.

Com isso, a partir de todos os resultados obtidos, esse estudo sugere que as helmintíases intestinais causadas principalmente pelos ancilostomídeos, favoreceram e estão associadas na manifestação dos sinais clínicos da LV nos cães. Castro (2019) e Azevedo (2020) em estudos com cães soropositivos para LVC também registraram essa associação a partir de resultados de exames clínicos, hematológicos e necropsia semelhante ao presente estudo. Ao final, é importante ressaltar que, nos diferentes estudos realizados no Brasil, assim como este, há uma alta prevalência de enteroparasitoses em animais de companhia, o que resulta em altos índices de contaminação ambiental por parasitos de cães em ambientes compartilhados com seres humanos. A frequência elevada de infecções helmínticas, especialmente por *Ancylostoma* spp. e *Toxocara* sp., e de protozoários como *Leishmania infantum* e *Giardia* sp., enfatizam o risco de disseminação dessas zoonoses. No mais, é sugerida a necessidade de ações educativas para conscientização da população em relação ao uso de antiparasitários regularmente, utilização de coleiras contra ectoparasitos e vetores e higienização periódica do local onde os cães permanecem.

## 7 CONCLUSÃO

Os cães domésticos examinados na região urbana do Município de Porteirinha se apresentaram com altas frequências de diversos gêneros de parasitos intestinais, dos quais várias espécies possuem potencial zoonótico e necessitam de tratamento antiparasitário frequentes. Para os cães sorologicamente positivos para LVC, os sinais clínicos mais frequentes eram alopecia, onicogribose, caquexia e linfadenopatia generalizada. Nos cães necropsiados com LVC, os helmintos intestinais mais encontrados foram *Ancylostoma* sp. e *Dipylidium caninum*. Em relação às coinfeções e à interferência entre parasitismo intestinal e quadro clínico e carga parasitária para LVC, os nossos resultados indicaram uma associação entre a presença de helmintos intestinais, especialmente ancilostomídeos, e a gravidade da sintomatologia para LVC, sugerindo uma possível influência dos helmintos intestinais na carga parasitária de *Leishmania*, nas alterações hematológicas e na manifestação clínica da doença. É importante salientar, que esta associação é recíproca e não foi possível de determinar, em uma linha de tempo, qual processo infeccioso aconteceu primeiro (*Leishmania* ou parasito intestinal), já que foi um estudo cross-seccional, e os cães examinados eram em grande maioria adultos.

## REFERÊNCIAS

- ABE, Niichiro et al. *Cryptosporidium* infection in dogs in Osaka, Japan. **Veterinary Parasitology**, v. 108, n. 3, p. 185-193, 2002.
- AGUIAR, P. H. P. et al. Quadro clínico de cães infectados naturalmente por *Leishmania chagasi* em uma área endêmica do estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. 2007.
- ALMEIDA, V. A. Alterações na medula óssea e distúrbios hematológicos na leishmaniose visceral canina. 2017. **Tese de Doutorado**. Instituto Gonçalo Moniz.
- ALVES, A. P. S. M. et al. Contaminação em logradouros do município de Pindamonhangaba-SP, por parasitos potencialmente zoonóticos em fezes caninas. **Revista Ciência e Saúde Online**, v. 1, n. 1, 2016.
- ALVES, M. E. M. et al. Molecular detection of *Cryptosporidium* spp. and the occurrence of intestinal parasites in fecal samples of naturally infected dogs and cats. **Veterinary Parasitology**, v. 223, p. 166-168, 2016.
- AMATO, J. F. Manual de técnicas para a preparação de coleções zoológicas: Platelminhos (temnocefálicos, trematódeos, cestóides, cestodários) e acantocéfalos. **São Paulo: Sociedade Brasileira de Zoologia**, 1985.
- ANDERSON, R. M.; MAY, R. M. Infectious diseases of humans: dynamics and control. **Oxford university press**, 1992.
- ARAÚJO, J. V. Helminthoses intestinais em cães da microrregião de Viçosa, Minas Gerais. 2006. **Monografia** (Graduação em Medicina Veterinária) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2006.
- AREEKUL, P. et al. *Trichuris vulpis* and *T. trichiura* infections among schoolchildren of a rural community in northwestern Thailand: the possible role of dogs in disease transmission. **Asian Biomedicine**, v. 4, n. 1, p. 49-60, 2010.
- AZEREDO-COUTINHO, R. B. G. et al. Intestinal helminth coinfection is associated with mucosal lesions and poor response to therapy in American tegumentary leishmaniasis. **Acta tropica**, v. 154, p. 42-49, 2016.
- AZEVEDO, E. P.. Diagnóstico coproparasitológico em laboratório de análises clínicas: comparação de técnicas e custo de implantação. 2016. **Dissertação de Mestrado**.
- AZEVEDO, L. V. S. Ocorrência de helmintos intestinais em cães soropositivos para *Leishmania (Leishmania) infantum*: associação com sinais clínicos, alterações hematológicas e histológicas. 2020. **Dissertação de Mestrado**.
- BALASSIANO, B. C. C. Fatores associados à infecção natural de cães por parasitos gastrintestinais. 2007. **Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias)** - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2007.

- BARATA, R. A. et al. Controle da leishmaniose visceral no município de Porteirinha, estado de Minas Gerais, no período de 1998 a 2003. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, p. 386-388, 2011.
- BARATA, R. A. et al. Phlebotomine sand flies in Porteirinha, an area of American visceral leishmaniasis transmission in the State of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 99, n. 5, p. 481-487, 2004.
- BATCHELOR, D. J. et al. Detection of endoparasites with zoonotic potential in dogs with gastrointestinal disease in the UK. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 55, n. 2, p. 99-104, 2008.
- BERNARDES, V. H. F. et al. Ocorrência de parasitas de importância zoonótica: *Ancylostoma* spp. e *Toxocara* spp., em cães da região metropolitana de Belém, Pará. **Acta Veterinaria Brasilica**, São Paulo, v. 9, n. 3, p. 239-242, 2015.
- BLAZIUS, R. D. et al. Ocorrência de protozoários e helmintos em amostras de fezes de cães errantes da cidade de Itapema, Santa Catarina. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 38, p. 73-74, 2005.
- BOAG, P. R. et al. Characterisation of humoral immune responses in dogs vaccinated with irradiated *Ancylostoma caninum*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, v. 92, n. 1-2, p. 87-94, 2003.
- BOREHAM, R. E. et al. *Dipylidium caninum*: life cycle, epizootiology, and control. **Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian**, Davis, v. 12, n. 5, p. 667-675, 1990.
- BOWMAN, D. D. G.. Parasitologia Veterinária. 9. ed. Rio de Janeiro: **Elsevier**, 2010, 432 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. 1. ed., 5. reimpr. Brasília, 2014.
- BRESCIANI, K. D. S. et al. Frequência e intensidade parasitária de helmintos gastrintestinais em cães na área urbana do município de Araçatuba, SP. **Ars Veterinária**, Jaboticabal, v. 24, n. 3, p. 181-185, 2008.
- BUSH, A. O. et al. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. **The Journal of parasitology**, v. 83, n. 4, p. 575-583, 1997.
- BWALYA, E. C. et al. Prevalence of canine gastrointestinal helminths in urban Lusaka and rural Katete Districts of Zambia. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 100, n. 3-4, p. 252-255, 2011.
- CABELLO, R. R. et al. *Dipylidium caninum* infection. Case Reports, v. 2011, p. bcr0720114510, 2011.
- CABRAL, F. G. S.; SAVALLI, C. Sobre a relação humano-cão. **Revista HCPA**, v. 29, n. 2,

p. 191-196, 2009.

CABRERA, H.; E SILVA, L.P. Trindade. Gastroenterite eosinofílica: um caso raro de dispepsia. **Acta Médica Portuguesa**, v. 21, n. 5, p. 511-4, 2008.

CAPUANO, D. M.; ROCHA, G. M. Ocorrência de *Ancylostoma* spp. com potencial zoonótico em fezes de cães coletadas em áreas públicas do município de Ribeirão Preto, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 9, p. 81-86, 2006.

CARDOSO, T. S. et al. COMPARAÇÃO ENTRE A TÉCNICA DE OPG PADRÃO E SUAS MODIFICAÇÕES. **Veterinária e Zootecnia**, v. 30, p. 1-6, 2023.

CARNEIRO, C. A. C. et al. Prevalência de parasitas intestinais em cães de rua e de canis públicos da cidade de Araçatuba, São Paulo, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 53, n. 3, p. 1-8, 2016. DOI: 10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2016.108450.

CASSENOTE, A. J. F. et al. Contaminação do solo por ovos de geo-helminthos com potencial zoonótico na municipalidade de Fernandópolis, Estado de São Paulo, entre 2007 e 2008. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, p. 371-374, 2011.

CASTRO-FORERO, S. P. et al. *Sarcocystis* spp., A PARASITE WITH ZOONOTIC POTENTIAL. **Bulgarian Journal of Veterinary Medicine**, v. 25, n. 2, p. 171-180, 2022.

CHOMEL, B. B. Control and prevention of emerging zoonoses. **Journal of veterinary medical education**, v. 30, n. 2, p. 145-147, 2003.

CLASSON, C. et al. Intestinal nematode infection exacerbates experimental visceral leishmaniasis. **Parasite Immunology**, v. 41, n. 4, p. e12618, 2019.

COELHO, W. M. D. et al. Occurrence of *Ancylostoma* in dogs, cats and public places from Andradina city, São Paulo state, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 53, p. 181-184, 2011.

CRINGOLI, G. et al. *Ancylostoma caninum*: calibration and comparison of diagnostic accuracy of flotation in tube, McMaster and FLOTAC in faecal samples of dogs. **Experimental Parasitology**, v. 128, n. 1, p. 32-37, 2011.

CRISTINA BALDINI PERUCA, L.; LANGONI, H.; BALDINI LUCHEIS, S. Larva *migrans* visceral e cutânea como zoonoses: revisão de literatura. **Veterinária e Zootecnia**, v. 16, n. 4, p. 601-616, 2012.

DA SILVA, A.D.F.; DE SOUZA LIMA, M.C.J.; SOTO-BLANCO, B. Perfil hematológico e eletroforético de proteínas séricas em cães soropositivos para leishmaniose visceral no estado do Rio Grande do Norte. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 5, n. 3, p. 300-305, 2011.

DA SILVA, A.C. et al. Ocorrência de helmintos gastrintestinais e avaliação de métodos de diagnóstico, em cães de Belo Horizonte, Minas Gerais. **Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology**, v. 23, n. 1, 1994.

DADO, D. et al. Detection of zoonotic intestinal parasites in public parks of Spain. Potential epidemiological role of microsporidia. **Zoonoses and public health**, v. 59, n. 1, p. 23-28, 2012.

DALL, L.P. et al. Parasitos gastrintestinais em gatos naturalmente infectados no município de Santa Maria no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 4, n. 3, p. 181-184, 2010.

D'ANDREA, L.A.Z.; GUIMARÃES, R.B. A importância da análise de distribuição espacial da leishmaniose visceral humana e canina para as ações de vigilância em saúde. **Hygeia: Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v. 14, n. 28, p. 121, 2018.

DANTAS-TORRES, F. Canine leishmaniosis in South America. **Parasites & Vectors**, v. 2, n. 1, p. 1-8, 2009.

DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, D. Dogs, cats, parasites, and humans in Brazil: opening the black box. **Parasites & vectors**, v. 7, n. 1, p. 1-25, 2014.

DAVIES, Clive R. et al. Leishmaniasis: new approaches to disease control. **Bmj**, v. 326, n. 7385, p. 377-382, 2003.

DE CASTRO, C. G.. ASPECTOS HEMATOLÓGICOS, CITOLÓGICOS E HISTOLÓGICOS DA MUCOSA INTESTINAL DE CÃES SOROPOSITIVOS PARA *Leishmania infantum* COINFECTADOS COM HELMINTOS INTESTINAIS. **Dissertação de Mestrado**. 2019.

DE LIMA ROSALES, T. F.; MALHEIROS, A. F. Contaminação Ambiental por enteroparasitas presentes em fezes de cães em uma região do Pantanal. **O mundo da saúde**, v. 41, n. 03, p. 368-377, 2017.

DE LIMA, M. M. et al. Comparação entre exames coproparasitológicos e necroscópicos para diagnóstico da infecção por helmintos gastrintestinais em cães (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) errantes provenientes da Região Metropolitana do Recife. **Biotemas**, v. 24, n. 2, p. 47-56, 2011.

DE MATTOS LENCE, I. W. et al. A importância do hemograma pré-cirúrgico em cães de abrigos. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 15, n. 4, p. 1-11, 2021.

DE SOUSA, R. L. T. et al. Padrões de fonte alimentar dos Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) vetores das Leishmanioses: uma revisão bibliográfica. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, v. 13, n. 8, p. e8567-e8567, 2021.

DESPOMMIER, D. Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. **Clinical microbiology reviews**, v. 16, n. 2, p. 265-272, 2003.

DOS SANTOS ZANETTI, A. et al. Parasitas intestinais em cães provenientes dos biomas do nordeste brasileiro: aspecto zoonótico e ambiental. **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais**, v. 10, n. 3, p. 42-51, 2019.

DUBEY, J. P.; ALMERIA, S. *Cystoisospora belli* infections in humans: the past 100

years. **Parasitology**, v. 146, n. 12, p. 1490-1527, 2019.

EGUIA-AGUILAR, P.; CRUZ-REYES, A.; MARTINEZ-MAYA, J. J. Ecological analysis and description of the intestinal helminths present in dogs in Mexico City. **Veterinary parasitology**, v. 127, n. 2, p. 139-146, 2005.

ESCH, K. J.; PETERSEN, C. A. Transmission and epidemiology of zoonotic protozoal diseases of companion animals. **Clinical microbiology reviews**, v. 26, n. 1, p. 58-85, 2013.

FALEIRO, Rebecca J. et al. Immune regulation during chronic visceral leishmaniasis. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 8, n. 7, p. e2914, 2014.

FARIA, A. R.; DE ANDRADE, H. M. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina: grandes avanços tecnológicos e baixa aplicação prática. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 3, n. 2, p. 11-11, 2012.

FAYER, R.; ESPOSITO, D. H.; DUBEY, J. P. Human infections with *Sarcocystis* species. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 2, p. 295-311, 2015.

FENG, Y.; XIAO, L. Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. **Clinical microbiology reviews**, v. 24, n. 1, p. 110-140, 2011.

FERNANDES, M. C. Indicadores de contaminação microbiológica e pesquisa de marcadores de virulência de enteropatógenos de animais domésticos, identificadores no solo/areia de parques e praças de recreação. 2010.

FERRAZ, A. et al. ESTUDO DA CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL POR PARASITOS ZOONÓTICOS NO ENTORNO E INTERIOR DE ESCOLAS MUNICIPAIS NO EXTREMO SUL DO BRASIL. **Archives of Veterinary Science**, v. 27, n. 2, 2022.

FERRAZ, A. et al. Parasitos gastrintestinais em fezes de gatos domiciliados no município de Pelotas, RS, Brasil. **Veterinária Notícias**, v. 27, n. 1, 2021.

FERRAZ, A. et al. Contaminação da areia da praia do município de São Lourenço do Sul, RS, Brasil, por parasitos com potencial zoonótico, presentes em fezes de cães. **Revista Veterinária Em Foco**, v. 16, n. 2, 2019.

FERRAZ, A. et al. Ocorrência de *Giardia* spp. em fezes de cães na praia do Laranjal, Pelotas-RS e estudo comparativo entre técnicas. **Pubvet**, v. 12, n. 03, 2018.

FERREIRA, F. S. et al. Prevalência de parasitas intestinais em cães em um canil municipal no Sul do Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 65, n. 6, p. 1651-1656, 2013.

FISCHER, Christine Dossin Bastos. Prevalência de helmintos em *Canis familiaris* (Linnaeus, 1758) no Hospital de Clínicas Vetrinárias do Rio Grande do Sul através de diagnóstico post-mortem. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 31, n. 1, p. 63-64, 2003.

FONSECA, A. M. **Diagnóstico da Leishmaniose Visceral utilizando proteínas de *Leishmania infantum* com função desconhecida.** 2013.

FRANÇA-SILVA, J. C. et al. Importance of *Lutzomyia longipalpis* in the dynamics of transmission of canine visceral leishmaniasis in the endemic area of Porteirinha Municipality, Minas Gerais, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 131, n. 3-4, p. 213-220, 2005.

FREGONESI, B. M. **Prevalência de parasitas emergentes e reemergentes de veiculação hídrica em crianças que vivem com HIV/aids: ênfase para *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.** 2013. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

FREITAS, M.G. *Helmintologia Veterinária*. 3ª ed. **Copiadora e Editora Rabelo & Brasil Ltda.**, Belo Horizonte. 1977.

FUJIWARA, R. T. et al. Comparative immunology of human and animal models of hookworm infection. **Parasite immunology**, v. 28, n. 7, p. 285-293, 2006.

FUNADA, M. R. et al. Frequência de parasitos gastrintestinais em cães e gatos atendidos em hospital-escola veterinário da cidade de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, p. 1338-1340, 2007.

GENNARI, S. M. et al. Ocorrência de protozoários e helmintos em amostras de fezes de cães e gatos da cidade de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, p. 87-91, 1999.

GENNARI, S. M. Principais helmintos intestinais em cães no Brasil. **Boletim BayerVet**, 2015.

GILLESPIE, S. H. The epidemiology of *Toxocara canis*. **Parasitology Today**, v. 4, n. 6, p. 180-182, 1988.

GLICKMAN, L. T.; SHOFER, F. S. Zoonotic visceral and ocular larva *migrans*. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 17, n. 1, p. 39-53, 1987.

GONÇALVES, M. B. et al. **Prevalência, distribuição e identificação de prováveis fatores de risco para Leishmaniose Visceral canina em Camaçari-BA.** 2014. Tese de Doutorado. Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, Maria Norma. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 338- 349, 2004.

GORDON, H. McL et al. A new technique for counting nematode eggs in sheep faeces. **J Counc Sci Ind Res**, v. 12, n. 1, p. 50-52, 1939.

GUEX, G. R.; MATTOS, M. J. T. Helmintoses intestinais em caninos no Brasil: revisão de artigos publicados no período de 2013 a 2019. **Revista Agrária Acadêmica. Imperatriz, MA. Vol. 3, n. 1 (jan./fev. 2020), p. 144-161, 2020.**

GUSMÃO, J. D.; DE BRITO, P. A.; DE SOUZA LEITE, M. T.. PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DA LEISHMANIOSE VISCERAL NO NORTE DE MINAS GERAIS, BRASIL, NO PERÍODO DE 2007 A 2011. **Revista Baiana de saúde pública**, v. 38, n. 3, p. 615-624, 2014.

- HENDRIX, C. M.; BLAGBURN, B. L.; LINDSAY, D. S. Whipworms and intestinal threadworms. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 17, n. 6, p. 1355-1375, 1987.
- HOFFMANN, W. A.; PONS, J. A.; JANER, J. L. The sedimentation-concentration method in schistosomiasis mansoni. Puerto Rico. **Journal of Publications in Health Tropical and Medicine**, Puerto Rico, v. 9, p. 283-298, 1934.
- HOLSBACK, L.; DE SOUZA MARQUEZ, E.; MENEGHEL, P. P.. Resistência parasitária de helmintos gastrointestinais e avaliação dos parâmetros hematológicos de ovinos no norte do Paraná. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 35, n. 1, p. 76-84, 2013.
- HUGHES, J.; MACDONALD, D. W. A review of the interactions between free-roaming domestic dogs and wildlife. **Biological Conservation**, v. 157, p. 341-351, 2013.
- INÁCIO, S. V. et al. Automated Diagnostics: Advances in the Diagnosis of Intestinal Parasitic Infections in Humans and Animals. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, 2021.
- ITOH, N. et al. Fenbendazole treatment of dogs with naturally acquired *Strongyloides stercoralis* infection. **The Veterinary Record**, v. 164, n. 18, p. 559, 2009.
- JIANG, P. et al. A human case of zoonotic dog tapeworm, *Dipylidium caninum* (Eucestoda: Dipylidiidae), in China. **The Korean journal of parasitology**, v. 55, n. 1, p. 61, 2017.
- JOHNSON, W. L. et al. A comparison of Mini-FLOTAC and McMaster techniques, overdispersion and prevalence of parasites in naturally infected North American bison (*Bison bison*) in the USA. **Current Research in Parasitology & Vector-borne Diseases**, v. 2, p. 100103, 2022.
- KARESH, W. B. et al. Ecology of zoonoses: natural and unnatural histories. **The Lancet**, v. 380, n. 9857, p. 1936-1945, 2012.
- KATAGIRI, S.; OLIVEIRA-SEQUEIRA, T. C. G. Zoonoses causadas por parasitas intestinais de cães e o problema do diagnóstico. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 74, n. 2, p. 175-184, 2007.
- 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, 2010.
- LABRUNA, M. B. et al. Prevalence of endoparasites in dogs from the urban area of Monte Negro municipality, Rondônia, Brazil. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, p. 183-193, 2022.
- LANA, R. S. et al. Ecoepidemiological aspects of visceral leishmaniasis in an endemic area in the Steel Valley in Brazil: an ecological approach with spatial analysis. **PLoS One**, v. 13, n. 10, p. e0206452, 2018.
- LEAL, P. D. S.; COELHO, C. D.; FLAUSINO, G. Diagnóstico de infecções concomitantes

por *Cystoisospora canis* (Nemeséri, 1959) e *Cyniclomyces guttulatus* (Robin, 1853): Relato de caso. **Coccidia**, v. 1, n. 2, p. 44-48, 2013.

LEFKADITIS, M. A.; KOUKERI, E. S.; COZMA, V. Symptoms associated with intestinal ascaridida and strongylida infections in dogs. **Revue de médecine vétérinaire**, v. 157, n. 5, p. 270, 2006.

LESCANO, A. G.; ZUNT, J. Other cestodes: sparganosis, coenurosis and *Taenia crassiceps* cysticercosis. **Handbook of clinical neurology**, v. 114, p. 335-345, 2013.

LEUNG, A. K. C. et al. Giardiasis: an overview. **Recent patents on inflammation & allergy drug discovery**, v. 13, n. 2, p. 134-143, 2019.

LIMA, W. D. S.; CAMARGO, Maria Cristina Viana de; GUIMARÃES, Marcos Pezzi. Surto de larva *migrans* cutânea em uma creche de Belo Horizonte, Minas Gerais (Brasil). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 26, p. 122-124, 1984.

LIMA, F. L. O. et al. Um século do exame parasitológico de Lutz e sua relevância atual. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 52, p. 32-34, 2020.

LOPES, R. S. et al. Parasitoses intestinais em cães de canis públicos do município de Itumbiara, Goiás, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 49, n. 6, p. 457-461, 2012.

MACPHERSON, C. N. L. et al. Dogs and cestode zoonoses. **Dogs, zoonoses and public health**, p. 177-255, 2000.

MACPHERSON, C. N. Human behaviour and the epidemiology of parasitic zoonoses. **International journal for parasitology**, 35 (11-12), 1319-1331, 2005.

MAIA, M. G. et al. Epidemiological aspects of canine babesiosis in the semiarid area of the state of Minas Gerais, Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 79, n. 2-4, p. 155-162, 2007.

MARCONDES, M.; ROSSI, C. N. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 50, n. 5, p. 341-352, 2013.

MARQUES, S. M. T.; OLIVEIRA, M. R. F.; GOMES, M. J. T. M. Parasitos gastrintestinais em gatos da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **PUBVET**, v. 11, n. 11, p. 1132-1137, 2017.

MÁRQUEZ-NAVARRO, A. et al. *Trichuris vulpis* (Froelich, 1789) infection in a child: a case report. **The Korean journal of parasitology**, v. 50, n. 1, p. 69, 2012.

MAURYA, R.; ALTI, D.; CHANDRASEKARAN, S. A risk of visceral leishmaniasis in case of heminths co-infection in endemic regions. **Innovative Journal of Medical and Health Science**, p. 47 – 50, 2012.

MAVROIDI, N. et al. Transmission of zoonoses through immigration and tourism. **Vet Ital**, v. 44, n. 4, p. 651-6, 2008.

MCCARTHY, J.; MOORE, T. A. Emerging helminth zoonoses. **International journal for parasitology**, v. 30, n. 12-13, p. 1351-1359, 2000.

McGAVIN, M.D.; ZACHARY, J.F. **Bases da Patologia em Veterinária**. 4ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2009. 1476p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim epidemiológico das Doenças Tropicais Negligenciadas**. Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação. Rio de Janeiro, 2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Pesquisa Nacional de Saúde 2019**. Informações sobre domicílios, acesso e utilização dos serviços de saúde. Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação. Rio de Janeiro, 2020.

MIRANDA, G. M. D. et al. **Leishmaniose visceral em Pernambuco: a influência da urbanização e da desigualdade social**. 2008. Tese de Doutorado.

MIRANDA, G. S. et al. Previous history of American Tegumentary Leishmaniasis alters susceptibility and immune response against *Schistosoma mansoni* infection in humans. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 630934, 2021.

MORAES, F. R. et al. Eficácia de dois sistemas de tratamento anti-helmíntico em filhotes de cães com infecção natural. **Archives of Veterinary Science**, v. 9, n. 1, 2004.

MORIELLO, K. A. Zoonotic skin diseases of dogs and cats. **Animal health research reviews**, v. 4, n. 2, p. 157-168, 2003.

MUNDIM, M. J. S.; CABRA, D. D.; FARIA, E. S. M. Endoparasitos de importância como zoonoses em fezes de cães domiciliados de Uberlândia, Minas Gerais. **Veterinária Notícias**, v. 7, n. 2, p. 73-77, 2001.

MUNDIM, T. C. D. et al. Frequência de helmintos em gatos de Uberlândia, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, p. 562-563, 2004.

MUNDIM, T. C. D. et al. Frequência de helmintos em gatos de Uberlândia, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, p. 562-563, 2004.

MURRAY, H. W. et al. Advances in leishmaniasis. **The Lancet**, v. 366, n. 9496, p. 1561-1577, 2005.

NEVES, D. P. et al. Parasitologia Humana. 13ª edição. **Rio de Janeiro: Livraria Atheneu**, 2016.

NICOLATO, R. C. et al. Clinical forms of canine visceral leishmaniasis in naturally *Leishmania infantum*-infected dogs and related myelogram and hemogram changes. **PloS one**, v. 8, n. 12, p. e82947, 2013.

O'NEAL, S. E. et al. Influence of helminth infections on the clinical course of and immune response to *Leishmania braziliensis* cutaneous leishmaniasis. **The Journal of infectious diseases**, v. 195, n. 1, p. 142-148, 2007.

OLIVEIRA, V. S. F. de et al. Ocorrência de helmintos gastrintestinais em cães errantes na cidade de Goiânia–Goiás. 2009.

OLIVEIRA-SEQUEIRA, T.C.G.; AMARANTE, A.F.T.; FERRARI, T.B.; NUNES, L.C. Prevalence of intestinal parasites in dogs from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 103, n. 1/2, p. 19-27, 2002.

ORTOLANI, E. L. et al. Standardization of the modified Ziehl-Neelsen technique to stain oocysts of *Cryptosporidium* sp. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 9, n. 1, p. 29-31, 2000.

OVERGAAUW, P. A. M.; VAN KNAPEN, F. Veterinary and public health aspects of *Toxocara* spp. **Veterinary parasitology**, v. 193, n. 4, p. 398-403, 2013.

PALMER, C. S. et al. National study of the gastrointestinal parasites of dogs and cats in Australia. **Veterinary parasitology**, v. 151, n. 2-4, p. 181-190, 2008.

PANTI-MAY, J. A.; RODRÍGUEZ-VIVAS, Roger Iván. Canine babesiosis: A literature review of prevalence, distribution, and diagnosis in Latin America and the Caribbean. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 21, p. 100417, 2020.

PAPAZAHARIADOU, M. et al. Gastrointestinal parasites of shepherd and hunting dogs in the Serres Prefecture, Northern Greece. **Veterinary Parasitology**, v. 148, n. 2, p. 170-173, 2007.

PEREIRA DA SILVA, S. T. et al. Leishmaniose visceral humana: reflexões éticas e jurídicas acerca do controle do reservatório canino no Brasil. **Revista de bioética y derecho**, n. 39, p. 135-151, 2017.

PIRÃO, T. S. Q. et al. **Prevalência de parasitas intestinais em cães na cidade de Amora, concelho do Seixal, distrito de Setúbal**. 2018. Dissertação de Mestrado.

PIVOTO, F. L. et al. Ocorrência de parasitos gastrintestinais e fatores de risco de parasitismo em gatos domésticos urbanos de Santa Maria, RS, Brasil. **Ciência Rural**, v. 43, n. 8, p. 1453-1458, 2013.

PORTOKALIDOU, S. et al. *Dipylidium caninum* infection in children: clinical presentation and therapeutic challenges. **The Pediatric infectious disease journal**, v. 38, n. 7, p. e157-e159, 2019.

POULIN, R. Interactions between species and the structure of helminth communities. **Parasitology**, v. 122, n. S1, p. S3-S11, 2001.

PRESOTTO, D. Estudo da prevalencia de infecção por endoparasitos em cães (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) do municipio de Hortolandia, SP. 2009.

QIU, M. H. et al. Human plerocercoidosis and sparganosis: II. A historical review on pathology, clinics, epidemiology and control. **Chinese Journal of Parasitology and**

**Parasitic Diseases**, v. 27, n. 3, p. 251-260, 2009.

QUADROS, R. M. **Determinação genotípica e antigênica de Giardia duodenalis em fezes de crianças, cães domiciliados e errantes na cidade de Lages, Santa Catarina, Brasil.** 2013.

QUARESMA, P. F. et al. Diagnóstico molecular da Leishmaniose visceral canina e quantificação da carga parasitária através da reação em cadeia da polimerase. 2007. **Tese de Doutorado.**

QUEIROZ, D. K. S. **Ocorrência de Cryptosporidium spp. em cães da área metropolitana de Belém, Pará.** 2012. Tese de Doutorado. UFRA.

RANGEL, E. F.; LAINSON, R. Flebotomíneos do Brasil. In: **Flebotomíneos do Brasil.** 2003. p. 368-368.

RAZA, Ali et al. Gastrointestinal parasites in shelter dogs: occurrence, pathology, treatment and risk to shelter workers. **Animals**, v. 8, n. 7, p. 108, 2018.

RIBEIRO, C. M.; LIMA, D. E.; KATAGIRI, Satie. Infecções por parasitos gastrintestinais em cães domiciliados e suas implicações na transmissão zoonótica. **Veterinária e Zootecnia**, v. 22, n. 2, p. 238-244, 2015.

RIGGIO, F. et al. Intestinal and lung parasites in owned dogs and cats from central Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 193, n. 1-3, p. 78-84, 2013.

RITCHIE, L. S. et al. An ether sedimentation technique for routine stool examinations. **Bulletin of the United States Army medical department**, v. 8, n. 4, 1948.

ROBERTSON, I. D.; THOMPSON, R. C. Enteric parasitic zoonoses of domesticated dogs and cats. **Microbes and Infection**, v. 4, n. 8, p. 867-873, 2002.

ROBINSON, R. A.; N PUGH, R. Dogs, zoonoses and immunosuppression. **The journal of the Royal Society for the Promotion of Health**, v. 122, n. 2, p. 95-98, 2002.

RODRIGUES, A. A. M. et al. Ocorrência de parasitos zoonóticos em fezes de cães em áreas públicas em duas diferentes comunidades na Reserva Desenvolvimento Sustentável do Tupé, Amazonas. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 8, n. 3, p. 138-146, 2014.

RODRÍGUEZ-VIVAS, R. I. et al. An epidemiological study of intestinal parasites of dogs from Yucatan, Mexico, and their risk to public health. **Vector-borne and zoonotic diseases**, v. 11, n. 8, p. 1141-1144, 2011.

ROLDÁN, W. H. et al. Diagnóstico de la toxocarosis humana. **Revista peruana de medicina experimental y salud pública**, v. 27, n. 4, p. 613-620, 2010.

ROMERO, H. D. et al. Comparative study of serologic tests for the diagnosis of asymptomatic visceral leishmaniasis in an endemic area. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 81, n. 1, p. 27-33, 2009.

- ROUSSEAU, J. et al. *Dipylidium caninum* in the twenty-first century: epidemiological studies and reported cases in companion animals and humans. **Parasites & Vectors**, v. 15, n. 1, p. 1-13, 2022.
- SAINI, V. K. et al. Diagnosis and therapeutic management of *Dipylidium caninum* in dogs: a case report. **Journal of parasitic diseases**, v. 40, n. 4, p. 1426-1428, 2016.
- SAKANO, T. et al. Visceral larva migrans caused by *Trichuris vulpis*. **Archives of Disease in Childhood**, v. 55, n. 8, p. 631-633, 1980.
- 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.
- SAMPAIO, I. B. M. Estatística aplicada à experimentação animal. 2. ed. Belo Horizonte: **Fundação de Estudo e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia**, 2002.
- SANTANA, L. A. et al. Atualidades sobre giardíase. **Jornal Brasileiro de Medicina**, v. 102, n. 1, p. 7-10, 2014.
- SANTARÉM, V. A. et al. Toxocaríases canina e humana. **Veterinária e Zootecnia**, v. 16, n. 3, p. 437-447, 2009.
- SANTARÉM, V. A.; GIUFFRIDA, Rogério; ZANIN, Gabriel Arantes. Larva *migrans* cutânea: ocorrência de casos humanos e identificação de larvas de *Ancylostoma* spp em parque público do município de Taciba, São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, p. 179-181, 2004.
- SARIDOMICHELAKIS, M. N.; KOUTINAS, A. F. Cutaneous involvement in canine leishmaniosis due to *Leishmania infantum* (syn. *L. chagasi*). **Vet. Dermatol.**, Oxford, v. 25, n. 2, p. 61-71, 2014.
- SCHNIEDER, T.; LAABS, E. M.; WELZ, C.. Larval development of *Toxocara canis* in dogs. **Veterinary parasitology**, v. 175, n. 3-4, p. 193-206, 2011.
- SCHWARTZ, R. et al. The epidemiology and control of *Toxocara canis* in puppies. **Parasite Epidemiology and Control**, v. 16, p. e00232, 2022.
- SEVILHA-SANTOS, L. et al. Accuracy of qPCR for quantifying *Leishmania* kDNA in different skin layers of patients with American tegumentary leishmaniasis. **Clinical microbiology and infection**, v. 25, n. 2, p. 242-247, 2019.
- SILVA, A. J. et al. Abandono de cães na América Latina: revisão de literatura. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 11, n. 2, p. 34-41, 2013.
- SILVA, A.V. M. et al. Leishmaniose em cães domésticos: aspectos epidemiológicos. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, p. 324-328, 2005.
- SILVA, F. S. Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina. **Rev Trop Cienc Agr**

**Biol**, v. 1, n. 1, p. 20-31, 2007.

SILVA, J. N. et al. Immunohaematological and rheological parameters in canine visceral leishmaniasis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, p. 211-217, 2018.

SNAK, A. et al. Ocorrência de parasitos gastrintestinais em cães e estudo de fatores de risco em propriedades rurais da região Oeste do Paraná, Brasil. **Medicina Veterinária (UFRPE)**, v. 13, n. 3, p. 391-398, 2019.

SOLANO-GALLEGO, L. et al. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. **Parasites & vectors**, v. 4, p. 1-16, 2011.

SOWEMIMO, O. A.; ASAOLU, S. O. The daily egg production of *Ancylostoma caninum* and the distribution of the worm along the digestive tract of the dog. **Journal of Parasitology**, v. 3, n. 3, p. 92-97, 2008.

STALLIVIERE, F. M. et al. Helminthos intestinais em cães domiciliados e aspectos socioeconômicos e culturais das famílias proprietárias dos animais de Lages, SC, Brasil. **Archives of Veterinary Science**, v. 18, n. 3, 2013.

SZWABE, K.; BLASZKOWSKA, J. Stray dogs and cats as potential sources of soil contamination with zoonotic parasites. **Ann Agric Environ Med**, v. 24, n. 1, p. 39-43, 2017.

TÁPARO, C. V. et al. Comparação entre técnicas coproparasitológicas no diagnóstico de ovos de helmintos e oocistos de protozoários em cães. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 15, n. 1, p. 1-5, 2006.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. **Veterinary parasitology**. John Wiley & Sons, 2015.

TESSEROLLI, G. L.; FAYZANO, L.; AGOTTANI, J. V. B. Ocorrência de parasitas gastrintestinais em fezes de cães e gatos, Curitiba-PR. **Revista Acadêmica Ciência Animal**, v. 3, n. 4, p. 31-34, 2005.

THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. Editora Roca, 2007.

TOEPP, A. J. et al. Comorbid infections induce progression of visceral leishmaniasis. **Parasites & vectors**, v. 12, p. 1-12, 2019.

TRASVIÑA-MUÑOZ, E. et al. Prevalence and distribution of intestinal parasites in stray dogs in the northwest area of Mexico. **Austral journal of veterinary sciences**, v. 49, n. 2, p. 105-111, 2017.

TRAVERSA, D. Are we paying too much attention to cardio-pulmonary nematodes and neglecting old-fashioned worms like *Trichuris vulpis*?. **Parasites & Vectors**, v. 4, n. 1, p. 1-11, 2011.

UENO, H.; GONÇALVES, P. C. **Manual para diagnóstico das helmintoses de ruminantes**. Tokyo: Japan International Cooperation Agency, 1988.

- UPJOHN, M. et al. Prevalence, molecular typing and risk factor analysis for *Giardia duodenalis* infections in dogs in a central London rescue shelter. **Veterinary parasitology**, v. 172, n. 3-4, p. 341-346, 2010.
- URQUHART, G. M. et al. *Veterinary Parasitology*. University of Glasgow. **Scotland, Blackwell science, Ltd.**, p. 41-42, 1996.
- URQUHART, G. M. et al. *Parasitología veterinaria*. **Acribia**, 2001.
- VANPARIJS, O.; HERMANS, L.; VAN DER FLAES, L. Helminth and protozoan parasites in dogs and cats in Belgium. **Veterinary parasitology**, v. 38, n. 1, p. 67-73, 1991.
- VATTA, A. F. et al. Prevalência de parasitas intestinais em cães de um canil no Rio Grande do Sul. *Ciência Rural*, v. 45, n. 11, p. 2047-2052, 2015. DOI: 10.1590/0103-8478cr20141304 **Vet Ital**, v. 44, n. 4, p. 651-6, 2008.
- WALKER, N. I. et al. Eosinophilic enteritis in northeastern Australia. Pathology, association with *Ancylostoma caninum*, and implications. **The American journal of surgical pathology**, v. 19, n. 3, p. 328-337, 1995.
- WANI, Z. A. et al. *Dipylidium caninum* infection in dogs infested with fleas. **Journal of parasitic diseases**, v. 39, p. 73-75, 2015.
- WEISS, D.J.; WARDROP, K.J.; SCHALM, O.W. *Schalm's Veterinary Hematology*. 6th ed. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell, 2010.
- WIDMER, Giovanni; KÖSTER, Pamela C.; CARMENA, David. *Cryptosporidium hominis* infections in non-human animal species: revisiting the concept of host specificity. **International journal for parasitology**, v. 50, n. 4, p. 253-262, 2020.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO) 2020: **Zoonoses**. Zoonoses. Geneva: WHO, 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/zoonoses>. Acesso em: 12 fev. 2023.
- WRIGHT, I. et al. Parasites and vector-borne diseases disseminated by rehomed dogs. **Parasites & vectors**, v. 13, n. 1, p. 1-4, 2020.
- XIAO, L.; FENG, Y. Zoonotic cryptosporidiosis. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 52, n. 3, p. 309-323, 2008.
- YAMAZAWA, E. et al. First case of human neurocoenurosis caused by *Taenia serialis*: A case report. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 92, p. 171-174, 2020.
- YEVSTAFIEVA, V. A. et al. Morphobiological analysis of *Trichuris vulpis* (Nematoda, Trichuridae), obtained from domestic dogs. **Regulatory Mechanisms in Biosystems**, v. 10, n. 2, p. 165-176, 2019.
- ZAJAC, A. M. et al. **Veterinary clinical parasitology**. John Wiley & Sons, 2012.

## ANEXOS



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

CEUA  
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS**CERTIFICADO**

Certificamos que o projeto intitulado "Avaliação de biomarcadores preditivos e de monitoramento da leishmaniose visceral em cães naturalmente infectados de municípios da região Norte de Minas Gerais.", protocolo do CEUA: 8/2022 sob a responsabilidade de Rodolfo Cordeiro Giunchetti que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem) para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899 de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS, em reunião de 09/05/2022.

Vigência da Autorização	09/05/2022 a 08/05/2027
Finalidade	Pesquisa
<b>*Espécie/linhagem</b>	Cão / sem raça definida
Nº de animais	6100
Peso/Idade	15kg / 3(anos)
Sexo	indiferente
Origem	animais de tutores de municípios do Norte de Minas Gerais.
<b>*Espécie/linhagem</b>	Cão / sem raça definina
Nº de animais	47
Peso/Idade	15kg / 3(anos)
Sexo	indiferente
Origem	casa de tutores dos municípios do Norte de Minas Gerais.
<b>*Espécie/linhagem</b>	Cão / sem raça definida
Nº de animais	47
Peso/Idade	15kg / 3(anos)
Sexo	masculino
Origem	casa de tutores dos municípios do Norte de Minas Gerais.

Considerações posteriores:

09/05/2022	Aprovado na reunião ordinária on-line do dia 09/05/2022. Validade: 09/05/2022 à 08/05/2027.
------------	---

Belo Horizonte, 27/06/2022.

Atenciosamente,

Sistema Solicite CEUA UFMG  
[https://aplicativos.ufmg.br/solicite\\_ceua/](https://aplicativos.ufmg.br/solicite_ceua/)