RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 15/02/2023.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Giardia duodenalis* EM COELHOS

Carolina Beatriz Baptista

Médica veterinária

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA - UNESP

CÂMPUS DE JABOTICABAL

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Giardia duodenalis* EM COELHOS

Carolina Beatriz Baptista

Orientador: Prof. Dr. Alvimar José da Costa

Co-orientadora: Profa. Dra. Katia Denise Saraiva Bresciani

Dissertação de mestrado apresentada a Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias – UNESP, Campus de Jaboticabal, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Medicina Veterinária (Patologia Animal)

2022

B222c

Baptista, Carolina Beatriz
Caracterização Molecular de Giardia Duodenalis em Coelhos / Carolina Beatriz Baptista. -- Jaboticabal, 2022
42 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal
Orientador: Prof. Dr. Alvimar José da Costa
Coorientadora: Profa. Dra. Katia Denise Saraiva Bresciani

1. nPCR. 2. Lagomorfo. 3. Giadiose. 4. Gene SSU rRNA. 5. Protozoologia. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal. Dados fornecidos pelo autor(a).

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

Câmpus de Jaboticabal

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Giardia duodenalis* EM COELHOS

AUTORA: CAROLINA BEATRIZ BAPTISTA
ORIENTADOR: ALVIMAR JOSÉ DA COSTA
COORIENTADORA: KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI

Aprovada como parte das exigências para obtenção do Título de Mestra em MEDICINA VETERINÁRIA, área: Patologia Animal pela Comissão Examinadora:

Profa. Dra. KATIA DENISE SARAIVA BRESCIANI (Participaçao Virtual)
Departamento de Producao e Saude Animal / Faculdade de Medicina Veterinaria Campus de AracatubaUNESP

Dr. WALTER BERTEQUINI NAGATA (Participaçao Virtual)
Doutor em Ciência Animal pela Faculdade de Medicina Veterinária - Câmpus de Araçatuba/Unesp

Profa. Dra. ADOLORATA APARECIDA BIANCO CARVALHO (Participaçao Virtual)
Departamento de Patologia, Reprodução e Saúde Única / FCAV / UNESP - Jaboticabal

Jaboticabal, 15 de fevereiro de 2022

Carolina Beatriz Baptista – nasceu em 16 de agosto de 1994, na cidade de Araçatuba, estado de São Paulo. Graduou-se no curso de Medicina Veterinária em dezembro de 2016 pelo Centro Universitário Católico Salesiano Auxilium – Câmpus Araçatuba. Em agosto de 2019, ingressou no curso de Mestrado do programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Estadual Paulista, Câmpus de Jaboticabal. Foi bolsista pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Dedico aos meus pais Izis e Luiz
Obrigada!

AGRADECIMENTOS

Agredeço aos meus pais, por sempre oferecerem todo apoio, ajuda e paciência.

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Alvimar José da Costa, pela oportunidade e confiança. Agradeço à minha querida co-orientadora Profa. Dra. Katia Denise Saraiva Bresciani, por ter acreditado em mim, sempre ajudando em meu crescimento.

Aos meus parceiros do laboratório de enfermidades parasitárias e parasitologia da FMVA, por toda ajuda que me deram durante todo o meu projeto.

Agradeço meu amigo e parceiro científico Matheus, que contribuiu grandemente em todas as partes desta pesquisa.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa.

Agradeço em especial a todos os professores e amigos que me apoiaram, para que eu conseguisse chegar até aqui.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 7
2. REVISÃO DE LITERATURA 8
2.1. Taxonomia e grupos genéticos 8
2.2. Morfologia e ciclo biológico 9
2.3. Patogênese e sinais clínicos 10
2.4. Métodos de diagnóstico 11
2.5. Epidemiologia 12
2.5.1 Giardiose em coelhos 13
3. OBJETIVOS 15
3.1. Objetivo Geral 15
3.2. Objetivos específicos 15
4. MATERIAL E MÉTODOS 15
4.1. Aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) 15
4.2. Local e população do estudo 16
4.3. Colheita e processamento das amostras fecais 17
4.4. Extração de DNA e amplificação por PCR 17
4.5. Purificação de DNA e sequenciamento 19
4.6. Análise estatística 19
5. RESULTADOS 20
6. DISCUSSÃO 24
7. CONCLUSÕES 27
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 27

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Jaboticabal

CEUA – COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto de pesquisa intitulado **"Caracterização Molecular de Giardia spp. em Coelhos"**, protocolo nº 015460/19, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Alvimar José da Costa, 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 08 de outubro de 2008, no decreto 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA), da FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIAS, UNESP - CÂMPUS DE JABOTICABAL-SP, em reunião ordinária de 18 de dezembro de 2019.

Vigência do Projeto	01/01/2020 a 01/01/2021
Espécie / Linhagem	*Oryctolagus cuniculus domesticus*
Nº de animais	100 animais
Peso / Idade	Diversos
Sexo	Machos e fêmeas
Origem	Coelhos domiciliados

Jaboticabal, 18 de dezembro de 2019.

Fabiana Pilarski

Profª Drª Fabiana Pilarski
Coordenadora – CEUA

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias
Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n CEP 14884-900 - Jaboticabal - SP - Brasil
Tel. 16 3209-7100 - www.fcavunesp.br

CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Giardia duodenalis* EM COELHOS

RESUMO - A *Giardia duodenalis* é um protozoário que pode acometer uma grande variedade de espécies animais e o humano, com distribuição mundial. Porém, está incluído pela Orgaganização Mundial da Saúde (OMS) como uma doença negligenciada. Sua transmissão é fecal-oral, ocorrendo principalmente pela ingestão de água e alimentos contaminados por cistos, sua forma infectante, altamente resistente ao meio ambiente. Os coelhos estão mais próximos dos humanos, como animais de companhia, especialmente das crianças. Já existem relatos sobre a ocorrência de *G. duodenalis* em coelhos em outros países, porém ainda não foram realizados estudos no Brasil. Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar a ocorrência e caracterizar molecularmente *G. duodenalis* que acometem coelhos domiciliados, por meio da reação em cadeia pela polimerase, na região noroeste do estado de São Paulo. Amostras fecais de 100 coelhos foram coletadas, que posteriormente passaram por processo de extração de DNA e amplificação por *nested*-PCR, utilizando o gene SSU rRNA. Um questionário foi realizado para os tutores, com as informações sobre gênero, idade, desverminação, diarreia, fonte de água, alimentação, local de moradia e contato com outros animais. Dessas amostras, 40 foram positivas para *G. duodenalis*. A fonte de água e a moradia representaram um fator de risco para a positividade deste protozoário. Pela primeira vez, nós relatamos a ocorrência de G. duodenalis em coelhos *pets* no Brasil.

Palavras-chave: nPCR, lagomorfo, giadiose, gene SSU rRNA, protozoologia

MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *Giardia duodenalis* IN RABBITS

ABSTRACT - *Giardia duodenalis* is a protozoan that can affect a wide variety of animal and human species, with worldwide distribution. However, it is included by the World Health Organization (WHO) as a neglected disease. Its transmission is fecal-oral, occurring mainly through the ingestion of water and food contaminated by cysts, its infective form, highly resistant to the environment. Rabbits are closer to humans as companion animals, especially children. There are already reports on the occurrence of G. duodenalis in rabbits in other countries, but studies have not yet been carried out in Brazil. Thus, the objective of this work was to verify the occurrence and molecularly characterize G. duodenalis that affect domiciled rabbits, through the polymerase chain reaction, in the northwest region of the state of São Paulo. Fecal samples from 100 rabbits were collected, which later underwent a process of DNA extraction and amplification by nested-PCR, using the SSU rRNA gene. A questionnaire was carried out for the tutors, with information on gender, age, devermination, diarrhea, water source, food, place of residence and contact with other animals. Of these samples, 40 were positive for *G. duodenalis*. The source of water and housing represented a risk factor for the positivity of this protozoan. For the first time, we report the occurrence of G. duodenalis in pet rabbits in Brazil.

Keywords: nPCR, lagomorph, giadiosis, SSU rRNA gene, protozoology

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Grupos das variáveis de fatores de risco da infecção por *G. duodenalis* em coelhos.....16

Tabela 2. Oligonucleotídeos iniciadores (primers) utilizados para amplificação do gene SSU rRNA de *G. duodenalis* em coelhos.....18

Tabela 3. Estatística descritiva sobre a ocorrência de *G. duodenalis* em coelhos e as variáveis analisadas.....21

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Visualização dos produtos amplificados em gel agarose 1,5% corado com GelRed® e visualizado sob luz ultravioleta, de cada uma das amostras, e o controle positivo (CP) após a realização de nPCR.....20

Figura 2. Gráfico de correlação entre as variáveis: fonte de água, ambiente, local e limpeza de coelhos positivos para *G. duodenalis*.....23

1. INTRODUÇÃO

Giardia duodenalis, também conhecida como *Giardia lamblia* ou *Giardia intestinalis*, é um protozoário que pode infectar tanto seres humanos, como uma extensa variedade de animais domésticos e selvagens (Yaoyu e Xiao, 2011; Li et al., 2017). Apesar deste parasito apresentar distribuição mundial, ainda é categorizado como uma doença negligenciada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (Santana et al., 2014; Li et al., 2017; Moraes et al., 2019).

A giardiose é uma doença de grande importância para a Saúde Pública, levando a quadros de diarreia aguda ou crônica em humanos, principalmente portadores de doenças imunossupressoras e crianças (Li et al., 2015; Paranjpe et al., 2016; Pérez-Chacón et al., 2017; Reda, 2017; Kasaei et al., 2018; Naguib et al., 2018). As manifestações clínicas são variáveis, e vão desde portadores assintomáticos, até a apresentação de sinais como diarreia aguda ou crônica, desidratação, dor abdominal, náuseas, êmese e perda de peso (Ryan e Cacciò, 2013).

A transmissão ocorre pela via fecal-oral, principalmente por meio de ingestão de água e alimentos contaminados por cistos, que é o estágio infeccioso da *Giardia* (Halliez e Buret, 2013; Santana et al., 2014; Ulloa-Stanojlović et al., 2016; Moraes et al., 2019). Este por sua vez, é eliminado nas fezes do hospedeiro e possui uma alta resistência à degradação ambiental (Li et al., 2017; Cacciò et al., 2018).

G. duodenalis é classificada em oito grupos genéticos, ou assemblages, de A a H, dos quais apenas A e B podem infectar seres humanos e outros mamíferos com grande relevância para Saúde Pública (Ryan e Cacciò, 2013; Li et al., 2017), C e D são específicos para canídeos, E é detectado em ruminantes, F em felinos, G em roedores e H em pinípedes (Coelho et al., 2017; Cacciò et al., 2018). No entanto, já existem relatos descrevendo a ocorrência do assemblage E em humanos no Egito (Foronda et al., 2008; Abdel-Moein e Saeed, 2016), na Autrália (Zahedi et al., 2017) e no Brasil (Fantinatti et al., 2016). Em coelhos foi detectado o assemblage B, e menos comumente o A e o E (Pantchev et al., 2014; Qi et al., 2015; Zhang et al., 2018; Akinkuotu et al., 2018; Jiang et al., 2018; Li et al., 2020).

Os coelhos estão ganhando cada vez mais espaço como animais de estimação, dessa forma, devido ao contato mais próximo com os humanos, especialmente com crianças, torna-se importante a investigação de possíveis infecções parasitárias zoonóticas nesses animais (Pantchev et al., 2014).

Em estudos recentes foi demonstrada a prevalência de *G. duodenalis* em coelhos domésticos, principalmente em regiões da China, sendo de 1,9% a 11,2% (Qi et al., 2015; Zhang et al., 2018; Jiang et al., 2018); na Alemanha e outras cidades da Europa de 7,6% (Pantchev et al., 2014) e 72,3% no estado de Ogun, na Nigéria (Akinkuotu et al., 2018). Até o presente momento, não foram realizados estudos sobre a ocorrência deste protozoário em coelhos no Brasil, tornando-se necessária esta investigação para avaliar a ocorrência de *G. duodenalis* nesses animais.

7. CONCLUSÕES

A partir dos resultados obtidos neste estudo, podemos concluir que *G. duodenalis* foi detectada pela primeira vez em coelhos *pets* no Brasil, e que possivelmente a fonte de água e o ambiente representam fatores de risco para a disseminação desta protozoose.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABE, N; MAKINO, I; KOJIMA, A. Molecular characterization of *Giardia psittaci* by multilocus sequence analysis. **Infection, Genetics and Evolution**, v 12, p. 1710–1716, 2012

ABDEL-MOEIN, Khaled A.; SAEED, Hossam. The zoonotic potential of *Giardia intestinalis* assemblage E in rural settings. **Parasitology research**, v. 115, n. 8, p. 3197-3202, 2016.

ABINPET. Disponível em:<http://abinpet.org.br/mercado/>. Acesso em: 01 jun. 2021.

ALLAIN, T.; AMAT, C. B.; MOTTA, J. P.; MANKO, A.; BURET, A. G. Interactions of *Giardia* sp. with the intestinal barrier: Epithelium, mucus, and microbiota. **Tissue Barriers**, v. 5, n. 1, p. e1274354, 2017.

APPELBEE, A. J.; FREDERICK, L. M.; HEITMAN, T. L.; OLSON, M. E. Prevalence and genotyping of *Giardia duodenalis* from beef calves in Alberta, Canada. **Veterinary parasitology**, v. 112, n. 4, p. 289-294, 2003.

AKINKUOTU, O. A.; GREENWOOD, S. J.; MCCLURE, J. T.; TAKEET, M. I.; OTESILE, E. B.; OLUFEMI, F. Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* infecting rabbits in Ogun State, Nigeria. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 13, n. June, p. 171–176, 2018.

BARASH, N. R.; NOSALA, C.; PHAM, J. K.; MCINALLY, S. G.; GOURGUECHON, S.; MCCARTHY-SINCLAIR, B.; & DAWSON, S. C. *Giardia* colonizes and encysts in high-density foci in the murine small intestine. **Msphere**, v. 2, n. 3, p. e00343-16, 2017.

BENCHIMOL, M.; SOUZA, W. The Ultrastructure of *Giardia* During Growth and Differentiation. In: LUJÁN, H.D.; SVÄRD, S. ***Giardia* a model organism**. NewYork: Springer Wien, p.142-160, 2011.

BOUZID, M.; HALAI, K.; JEFFREYS, D.; HUNTER, P. R. The prevalence of *Giardia* infection in dogs and cats, a systematic review and meta-analysis of prevalence studies from stool samples. **Veterinary Parasitology**, v. 207, n. 3-4, p. 181-202, 2015.

CACCIÒ, S. M.; LALLE, M.; SVÄRD, S. G. Host specificity in the *Giardia duodenalis* species complex. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 66, n. October 2017, p. 335–345, 2018.

CARVALHO, J.B. SANTOS, B.M.; GOMES J.F.; SUZUKI C.T.; HOSHINO SHIMIZU S.; FALCÃO A.X.; PIERUCCI J.C.; MATOS L.V.; BRESCIANI K.D. TF-Test modified: new diagnostic tool for human enteroparasitosis. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v. 30, p. 293-300, 2016.

CERTAD, G.; VISCOGLIOSI, E.; CHABÉ, M.; CACCIÒ, S. M. Pathogenic mechanisms of *Cryptosporidium* and *Giardia*. **Trends in Parasitology**, v. 33, n. 7, p. 561-576, 2017.

COELHO, C. H.; DURIGAN, M.; LEAL, D. A. G.; SCHNEIDER, A. B.; FRANCO, R. M. B.; SINGER, S. M. Giardiasis as a neglected disease in Brazil: Systematic review of 20 years of publications. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 10, p. 1–22, 2017.

COTTON, J. A.; BEATTY, J. K.; BURET, A. G. Host parasite interactions and pathophysiology in *Giardia* infections. **International journal for parasitology**, v. 41, n. 9, p. 925-933, 2011.

ERLANDSEN, S, L; BEMRICK, W, J; WELLS, C, L; FEELY, D, L; KNUDSON, L; CAMPBELL, S, R; VAN KEULEN, H; JARROLL, E, L. Axenic culture and characterization of *Giardia ardeae* from the great blue heron (Ardea herodias). **The Journal of Parasitology**, v 76, p. 717–724, 1990

FAKHRI, Y.; DARAEI, H.; GHAFFARI, H. R.; REZAPOUR-NASRABAD, R.; SOLEIMANI-AHMADI, M.; KHEDHER, K. M.; ROSTAMI, A. The risk factors for intestinal *Giardia* spp infection: Global systematic review and meta-analysis and meta-regression. **Acta tropica**, p. 105968, 2021.

FANTINATTI, M.; BELLO, A. R.; FERNANDES, O.; DA-CRUZ, A. M. Identification of *Giardia lamblia* assemblage E in humans points to a new anthropozoonotic cycle. **The Journal of infectious diseases**, v. 214, n. 8, p. 1256-1259, 2016.

FAUST, E. C; D'ANTONI, J. S; ODOM, V; MILLER, M. J; PERES, C; SAWITZ, W; THOMEN, L. F; TOBIE, J; WALKE, J. H. A critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces I. Preliminary communication**. American Journal of Tropical Medicine**, v.18, p.169-183, 1938.

FERREIRA, W. M. ; MACHADO, L. C. Perspectivas da Cunicultura Brasileira. **Revista Veterinária e Zootecnia em Minas**, Belo Horizonte, p. 41 - 44, 01 mar. 2007.

FIECHTER, R.; DEPLAZES, P.; SCHNYDER, M. Control of *Giardia* infections with ronidazole and intensive hygiene management in a dog kennel. **Veterinary Parasitology**, v 187, p. 93– 98, 2012

FRANSSEN, F, F, J; HOOIMEIJER, J; BLANKENSTEIN, B; HOUWERS, D, J. Giardiasis in a white stork in The Netherlands. **Journal of Wildlife Diseases**, v 36, p. 764–766, 2000

FORONDA, P.; BARGUES, M. D.; ABREU-ACOSTA, N.; PERIAGO, M. V.; VALERO, M. A.; VALLADARES, B.; MAS-COMA, S. Identification of genotypes of *Giardia intestinalis* of human isolates in Egypt. **Parasitology research**, v. 103, n. 5, p. 1177-1181, 2008.

GELANEW, T.; LALLE, M.; HAILU, A.; POZIO, E.; CACCIÒ, S. M. Molecular characterization of human isolates of *Giardia duodenalis* from Ethiopia. **Acta tropica**, v. 102, n. 2, p. 92-99, 2007.

GEURDEN, T.; CLAEREBOUT, E.; VERCRUYSSE, J.; BERKVENS, D. Estimation of diagnostic test characteristics and prevalence of *Giardia duodenalis* in dairy calves in Belgium using a Bayesian approach. **International Journal for Parasitology**, v. 34, p. 1121–1127, 2004.

HALLIEZ, M. C. M.; BURET, A. G. Extra-intestinal and long term consequences of *Giardia duodenalis* infections. **World Journal of Gastroenterology**, v. 19, n. 47, p. 8974–8985, 2013.

HELMY, Y, A; SPIERLING, N, G; SCHMIDT, S; ROSENFELD, U, M; REIL, D; IMHOLT, C; JACOB, J; ULRICH, R, G; AEBISCHER, T; KLOTZ, C. Occurrence and distribution of *Giardia* species in wild rodents in Germany. **Parasites & Vectors**, v 11:213, 2018

HEYWORTH, M, F. Diagnostic testing for *Giardia* Infections. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 108, n. 3, p. 123-125, 2014

HILLMAN, A; ASH, A; ELLIOT, A; LYMBERY, A; PEREZ, C; THOMPSON, R, C, A. Confirmation of a unique species of *Giardia*, parasitic in the quenda (Isoodon obesulus). **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v 5, p. 110-115, 2016

HOOSHYAR, H.; ROSTAMKHANI, P.; ARBABI, M.; DELAVARI, M. *Giardia lamblia* infection: review of current diagnostic strategies. **Gastroenterology and hepatology from bed to bench**, v. 12, n. 1, p. 3, 2019.

HOPKINS, R. M.; MELONI, B. P.; GROTH, D. M.; WETHERALL, J. D.; REYNOLDSON, J. A.; THOMPSON, R. A. Ribosomal RNA sequencing reveals differences between the genotypes of *Giardia* isolates recovered from humans and dogs living in the same locality. **The Journal of parasitology**, p. 44-51, 1997.

ICHIKAWA, R, S; SANTANA, B, N; FERRARI, E, D; NASCIMENTO, I, G; NAKAMURA, A, A; NARDI, A, R, M; MEIRELES, M, V. Detection and molecular characterization of *Giardia* spp. in captive Psittaciformes in Brazil. **Preventive Veterinary Medicine**, v 164, p. 10–12, 2019

JIANG, J.; MA, J.; ZHANG, N.; XU, P.; HOU, G.; ZHAO, Q.; ZHANG, X. Prevalence and risk factors of *Giardia duodenalis* in domestic rabbbits (*Oryctolagus cuniculus*) in Jilin and Liaoning province, northeastern China. **Journal of Infection and Public Health**, v. 11, n. 5, p. 723–726, 2018.

KASAEI, R.; CARMENA, D.; JELOWDAR, A.; BEIROMVAND, M. Molecular genotyping of *Giardia duodenalis* in children from Behbahan, southwestern Iran. **Parasitology Research**, v. 117, n. 5, p. 1425–1431, 2018.

KOEHLER, A. V; JEX, A. R.; HAYDON, S. R.; STEVENS, M. A.; GASSER, R. B. *Giardial*giardiasis — A perspective on diagnostic and analytical tools. **Biotechnology Advances**, v. 32, n.2, p. 280-289, 2014.

KUZI, S.; ARGENTARO, S. E.; BANETH, G. Prevalence of *Giardia duodenalis* infection, co-morbidities and associated risk factors in dogs admitted to a veterinary teaching hospital in Israel. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 68, p. 101401, 2020.

LAGUNAS-RANGEL, F. A.; YEE, J.; BERMÚDEZ-CRUZ, R. M. An update on cell division of *Giardia duodenalis* trophozoites. **Microbiological Research**, p. 126807, 2021.

LAGUNAS-RANGEL, F. A.; & BERMÚDEZ-CRUZ, R. M. Epigenetics in the early divergent eukaryotic *Giardia duodenalis*: an update. **Biochimie**, v. 156, p. 123-128, 2019.

LI, T.; ZOU, Y.; PENG, J.; WANG, L.; ZHANG, H.; CONG, W.; ZHU, X.; SUN, X. Prevalence and Genotype Distribution of *Giardia duodenalis* in Rabbits in Shandong Province, Eastern China. **BioMed research international**, v. 2020, 2020.

LI, J.; WANG, H.; WANG, R.; ZHANG, L. *Giardia duodenalis* infections in humans and other animals in China. **Frontiers in Microbiology**, v. 8, n. OCT, 2017.

LI, J.; QI, M.; CHANG, Y.; WANG, R.; LI, T.; DONG, H.; ZHANG, L. Molecular Characterization of *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis*, and *Enterocytozoon bieneusi* in Captive Wildlife at Zhengzhou Zoo, China. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 62, n. 6, p. 833–839, 2015.

LIGDA, P.; CLAEREBOUT, E.; KOSTOPOULOU, D.; ZDRAGAS, A.; CASAERT, S.; ROBERTSON, L. J.; & SOTIRAKI, S. *Cryptosporidium* and *Giardia* in surface water and drinking water: animal sources and towards the use of a machine-learning approach as a tool for predicting contamination. Environmental Pollution, v. 264, p. 114766, 2020.

MIDLEJ, V.; BENCHIMOL, M. *Giardia lamblia* behavior during encystment: how morphological changes in shape occur. **Parasitology international**, v. 58, n. 1, p. 72-80, 2009.

MOHEBALI, m; ZAREI, Z; KHANALIHA, K; KIA, E, B; MOTAVALLI-HAGHI, A; DAVOODI, J; REZAEIAN, T; TARIGHI, F; REZAEIAN, M. Natural Intestinal Protozoa in Rodents (Rodentia: Gerbillinae, Murinae, Cricetinae) in Northwestern Iran. **Iranian Journal of Parasitology**, v 12(3), p. 382–388, 2017

MOHAMED, A. S.; GLICKMAN, L. T.; CAMP JR, J. W.; LUND, E.; MOORE, G. E. Prevalence and risk factors for *Giardia* spp. infection in a large national sample of pet dogs visiting veterinary hospitals in the United States (2003–2009). **Veterinary parasitology**, v. 195, n. 1-2, p. 35-41, 2013.

MORAES, L. F.; NETO, V. A. K.; OLIVEIRA, R. M.; PROVIDELO, G. A.; BABBONI, S. D.; FERREIRA, J. C. P.; SCHMIDT, E. M. S. Retrospective and Comparative Study of *Giardia* sp. Prevalence in Dogs, Cats, and Small Ruminants in Endemic Areas in Different Brazilian States. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, n. May, 2019.

MORON-SOTO, M.; GUTIERREZ, L.; SUMANO, H.; TAPIA, G.; ALCALA-CANTO, Y. Efficacy of nitazoxanide to treat natural *Giardia* infections in dogs. **Parasites & Vectors**, v 10, n 52, p. 1-9, 2017.

NAGUIB, D.; EL-GOHARY, A. H.; ROELLIG, D.; MOHAMED, A. A.; ARAFAT, N.; WANG, Y.; FENG, Y.; XIAO, L. Molecular characterization of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in children in Egypt. **Parasites and Vectors**, v. 11, n. 1, p. 1–9, 2018.

NAKADA, L. Y. K.; SANTOS, L. U.; GUIMARÃES, J. R. Pre-ozonation of surface water: An effective water treatment process to reduce the risk of infection by *Giardia* in drinking water. **Environmental Pollution**, v. 266, p. 115144, 2020.

NOLAN, M. J.; JEX, A. R.; KOEHLER, A. V.; HAYDON, S. R.; STEVENS, M. A.; GASSER, R. B. Molecular-based investigation of *Cryptosporidium* and *Giardia* from animals in water catchments in southeastern Australia. **Water Research**, v. 47, n. 5, p. 1726-1740, 2013.

OGURA, A. P.; SABOGAL-PAZ, L. P. Detection and alkaline inactivation of *Cryptosporidium* spp. oocysts and *Giardia* spp. cysts in drinking-water treatment sludge. **Journal of Water Process Engineering**, v. 40, p. 101939, 2021.

PANTCHEV, N.; BROGLIA, A.; PAOLETTI, B.; VRHOVEC, M. G.; BERTRAM, A., NÖCKLER, K.; CACCIÒ, S. M. Occurrence and molecular typing of *Giardia* isolates in pet rabbits, chinchillas, guinea pigs and ferrets collected in Europe during 2006-2012. **Veterinary Record**, v. 175, n. 1, p. 18, 2014.

PARANJPE, S.; KOTICHA, A.; MEHTA, P. R. Chronic giardiasis in a case of common variable immunodeficiency (CVID): A case report. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**, v. 10, n. 7, p. DD03–DD04, 2016.

PÉREZ-CHACÓN, G.; POCATERRA, L. A.; ROJAS, E.; HERNÁN, A.; JIMÉNEZ, J. C.; NÚÑEZ, L. Case report: Coinfection with *Hymenolepis nana*, *Hymenolepis diminuta*, *Giardia intestinalis*, and human immunodeficiency virus: A case report with complex immunologic interactions. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 96, n. 5, p. 1094–1096, 2017.

PLUTZER, J.; ONGERTH, J.; KARANIS, P. Panagiotis. Giardia taxonomy, phylogeny and epidemiology: Facts and open questions. **International journal of hygiene and environmental health**, v. 213, n. 5, p. 321-333, 2010.

QI, M.; XI, J.; LI, J.; WANG, H.; NING, C.; ZHANG, L. Prevalence of Zoonotic *Giardia duodenalis* Assemblage B and First Identification of Assemblage E in Rabbit Fecal Samples Isolates from Central China. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 62, n. 6, p. 810–814, 2015.

REDA, S. Gastrointestinal manifestations in children with primary immunodeficiency diseases. **The Egyptian Journal of Pediatric Allergy and Immunology**, v. 15, n. 1, p. 3–8, 2017.

RYAN, U.; CACCIÒ, S. M. Zoonotic potential of *Giardia*. **International Journal for Parasitology**, v. 43, n. 12–13, p. 943–956, 2013.

SALANT, H.; KUZI, S.; NAVARRO, D.; BANETH, G. Prevalence and molecular characterization of *Giardia duodenalis* in dogs in Israel. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 73, p. 101548, 2020.

SANTANA, L. A.; VITORINO, R. R.; ANTONIO, V. E.; MOREIRA, T. R.; & GOMES, A. P. Atualidades sobre giardíase. **Jornal Brasileiro de Medicina**, v. 102, n. March, p. 10, 2014.

SATO, M. I. Z.; GALVANI, A. T.; PADULA, J. A.; NARDOCCI, A. C.; SOUZA LAURETTO, M.; RAZZOLINI, M. T. P.; HACHICH, E. M. Assessing the infection risk of *Giardia* and *Cryptosporidium* in public drinking water delivered by surface water systems in Sao Paulo State, Brazil. **Science of The Total Environment**, v. 442, p. 389-396, 2013.

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

SHUKLA, G; KAUR, H; SHARMA, L. Comparative therapeutic effect of probiotic *Lactobacillus casei* alone and in conjunction with antiprotozoal drugs in murine giardiasis. **Parasitol Res**, v 112, p. 2143–2149, 2013

SOGAYAR, M, I, L; GREGÓRIO E, A. Giardia agilis: Ultrastructure of the Trophozoites in the Frog Intestine. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v 93, n. 3, 1998

ŠTRKOLCOVÁ, G.; MAĎAR, M.; HINNEY, B.; GOLDOVÁ, M.; MOJŽIŠOVÁ, J.; HALÁNOVÁ, M. Dog's genotype of *Giardia duodenalis* in human: first evidence in Europe. **Acta parasitologica**, v. 60, n. 4, p. 796-799, 2015.

TANG, H.; YE, Y., KANG, R.; YU, J.; CAO, Y. Prevalence and multi-locus genotyping of *Giardia duodenalis* in rabbits from Shaanxi province in northwestern China. **Parasite**, v. 28, 2021.

ULLOA-STANOJLOVIĆ, F. M.; AGUIAR, B.; JARA, L. M.; SATO, M. I. Z.; GUERRERO, J. A.; HACHICH, E.; MATTÉ, G. R.; DROPA, M.; MATTÉ, M. H.; ARAÚJO, R. S. Occurrence of *Giardia intestinalis* and *Cryptosporidium* sp. in wastewater samples from São Paulo State, Brazil, and Lima, Peru. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 21, p. 22197–22205, 2016.

VALENTIM, J. K.; MACHADO, L. C.; LOPES, V. L.; PAULA, K. L. C.; BITTENCOURT, T. M.; RODRIGUES, R. F. M.; ROBERTO, C. H. V.; DALLAGO, G. M. Perfil dos criadores de coelho *pet* no Brasil. **Revista Brasileira de Cunicultura**, v. 13, p. 27-45, 2018.

YAOYU, F.; XIAO, L. Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 1, p. 110–140, 2011.

ZAHEDI, A.; FIELD, D.; RYAN, U. Molecular typing of *Giardia duodenalis* in humans in Queensland – first report of assemblage e. **Parasitology**, v. 114, n. 9, p. 1154–1161, 2017.

ZHANG, X.; QI, M.; JING, B.; YU, F.; WU, Y.; CHANG, Y.; ZHAO, A.; WEI, Z.; DONG, H.; ZHANG, L. Molecular Characterization of *Cryptosporidium* spp., *Giardia duodenalis*, and *Enterocytozoon bieneusi* in Rabbits in Xinjiang, China. **Journal of Eukaryotic Microbiology**, v. 65, n. 6, p. 854–859, 2018.

ZHANG, W.; SHEN, Y.; WANG, R.; LIU, A.; LING, H.; LI, Y.; CAO, J.; ZHANG, X.; SHU, J.; ZHANG, L. *Cryptosporidium cuniculus* and *Giardia duodenalis* in rabbits: genetic diversity and possible zoonotic transmission. **PLoS One**, v. 7, n. 2, p. e31262, 2012.