# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 25/05/2023.

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

# DIVERSIDADE MOLECULAR DE *Giardia duodenalis* EM ANIMAIS DOMÉSTICOS NA REGIÃO DE BOTUCATU, SP

LÍVIA FAGUNDES MORAES

Botucatu – SP
Maio 2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

# DIVERSIDADE MOLECULAR DE *Giardia duodenalis* EM ANIMAIS DOMÉSTICOS NA REGIÃO DE BOTUCATU, SP

LÍVIA FAGUNDES MORAES

Tese apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária para obtenção do título de Doutor

Orientadora: Profª Drª Regina Kiomi Takahira

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Moares, Livia Fagundes.
Diversidade molecular de Giardia duodenalis em animais domésticos na região de Botucatu, SP / Livia Fagundes Moares. - Botucatu, 2021

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Orientador: Regina Kiomi Takahira
Capes: 50503030

1. Cães - Doenças. 2. Gatos - Doenças. 3. Animais domésticos. 4. Giardia. 5. Zoonoses.

Palavras-chave: Assemblage; Cão; Gato; Giardia; Zoonose.

Nome do Autor: Lívia Fagundes Moraes

Título: DIVERSIDADE MOLECULAR DE *Giardia duodenalis* EM ANIMAIS DOMÉSTICOS NA REGIÃO DE BOTUCATU, SP

COMISSÃO EXAMINADORA

Professora Regina Kiomi Takahira
Presidente e Orientadora
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu SP

Professor José Paes de Oliveira Filho
Membro
Departamento de Clínica Veterinária
FMVZ – UNESP – Botucatu SP

Professora Fabiana Ferreira de Souza
Membro
Departamento de Reprodução Animal
FMVZ – UNESP – Botucatu SP

Professora Érica Boarato David
Membro
UNISAGRADO BAURU, SP

Professor Paulo Eduardo Martins Ribolla
Membro
Departamento de Bioestatística, Biologia Vegetal, Parasitologia e Zoologia - Instituto de Biociências
IB – UNESP – Botucatu SP

Data da defesa: 25 de maio de 2021.

# AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por iluminar toda minha trajetória e minhas escolhas durante este novo período em Botucatu, SP.

À minha família a qual amo muito, principalmente à minha mãe Maria do Carmo da C. Silva (Carminha) e minha irmã Carolina Fagundes pelo apoio, confiança, carinho e por sempre me fazer acreditar em mim e me orgulhar de mim mesma.

Aos parentes que temos a chance de escolher, com quem criamos laços de amor. Rosania Salazar (Zaninha), Maria Tereza Oliveira obrigada pelo carinho e atenção, amo vocês.

Aos meus queridos amigos que sempre fizeram de Botucatu meu lar, minha família paulista querida, principalmente à Marcela Marcondes P. Rodrigues. Obrigada por me ouvirem, pelo carinho nas horas difíceis, por me acolherem, pelas risadas, baladinhas e pela ajuda durante todo o projeto. Amo todos vocês.

A Msc. Thainá Valente Bertozzo e a Dra. Ana Paula Oliveira Arbex por serem meus braços direito e esquerdo, fundamentais para todo o processo após as coletas, pelo carinho e por acreditarem e me incentivarem sempre.

A professora assistente doutora Semíramis Guimarães Ferraz Viana do Departamento de Parasitologia do Instituto de Biociências da Unesp, campus Botucatu, SP pelo carinho, calma, atenção, dedicação, paciência, oportunidades, por todo aprendizado, por abraçar o projeto, sempre sugerir novos caminhos e acreditar na minha capacidade.

A minha orientadora professora Regina Kiomi Takahira por toda dedicação, compreensão, amizade, conselhos, desde 2006. Você sempre foi um exemplo e admirável. Muito obrigada por fazer parte da minha formação profissional e pessoal. Boa parte do que sou hoje agradeço a você e sempre vou agradecer por ter abraçado esse projeto, apesar de todos os percalços.

Aos residentes do Laboratório de Enfermidades Parasitárias da FMVZ, Unesp Botucatu, SP: Naiara Mirelly Marinho da Silva e Vitoldo Antônio Kozlowski Neto por me ajudar em diversos momentos, não só nas coletas e processamento das amostras.

Aos professores Fabiana Ferreira de Souza, Luis Henrique Araújo Machado e João Carlos Pinheiro Ferreira por toda ajuda, disponibilização dos laboratórios, atenção, sugestões e conversas; por sempre dedicar um tempinho, me transmitindo calma, confiança e segurança, muita obrigada.

A equipe do Laboratório VetDNA, Adriano Stefani Rubini e Karina Padoan Rubini por me auxiliar no início do projeto, testando diferentes técnicas e ajustando etapas, além de me apresentar à equipe da professora Semíramis Guimarães Ferraz Viana, que sem estas pessoas esse projeto não teria se concretizado.

A professora Elizabeth Moreira dos Santos Schmidt pela oportunidade inicial para realizar este projeto.

Aos tutores que confiaram a mim as visitas em suas casas, bem como aos parceiros veterinários, Prefeitura de Botucatu, SP e ONGs por todo o auxílio.

Aos animais que fizeram e fazem parte da minha vida.

À FAPESP por conceder uma bolsa de doutorado (processo número 2017/ 14776-1).

# LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1(A) Esquema de trofozoíto de *Giardia duodenalis*, com o disco ventral, núcleos, corpos medianos e quatro pares de flagelos.....18

Figura 1(B) Fotomicrografia de trofozoítos de *G. duodenalis*, obtida por microscopia ótica corada com Giemsa, aumento de 400x.....18

Figura 1(C) Cistos de *Giardia* sp. em avaliação microscópica pela técnica de Faust et al. (1938) em amostra de fezes de cão, aumento de 400x.....18

Figura 2 Ciclo de vida da *Giardia* sp.....19

Figura 3. *Assemblages* e os ciclos de transmissão da giardíase em diferentes espécies .....23

CAPÍTULO 3

Figura 1 Distribuição do número de casos positivos para *Giardia* sp. pela técnica de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco de acordo com o sexo para cada espécie .....65

# LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 Proposta para a nova nomenclatura de *Giardia duodenalis* a partir da distribuição dos principais hospedeiros nos oito *assemblages* reconhecidos .....27

Tabela 2 Estudos nacionais realizados em cães e gatos no período de 2007 a 2020 para classificação dos assemblages de *Giardia duodenalis* pela técnica de sequenciamento de acordo com estados da federação e genes avaliados .....32

Tabela 3 Levantamentos de estudos realizados nos quais foram descritas infecções mistas em gatos .....33

CAPÍTULO 2

Tabela 1 Casos anuais positivos para *Giardia* sp. em cães e gatos avaliados pela técnica coproparasitológica de centrifugo-flutuação em sulfato de zinco, no Laboratório de Enfermidades Parasitárias dos Animais da FMVZ, Unesp campus Botucatu, SP, no período de 2011 a 2017 .....41

Tabela 2 Número de casos de *Giardia* sp. com coinfecções em cães e gatos avaliados pela técnica coproparasitológica de centrifugo-flutuação em sulfato de zinco, no Laboratório de Enfermidades Parasitárias dos Animais da FMVZ, Unesp campus Botucatu, SP, no período de 2011 a 2017 .....41

Tabela 3 Casos anuais positivos para *Giardia* sp. em pequenos ruminantes (ovinos e caprinos) pela técnica coproparasitológica de centrifugo-flutuação em sulfato de zinco, no Laboratório de Enfermidades

Parasitárias dos Animais da FMVZ, Unesp campus Botucatu, SP, no período de 2011 a 2017 .....42

Tabela 4 Comparação da prevalência de *Giardia* sp. em cães, em diferentes estudos nacionais, divididos por estados da federação (UF) e de acordo com ambiente onde vivem, utilizando o mesmo método diagnóstico (centrifugo-flutuação em sulfato de zinco). Maiores valores representados por animais que vivem em canis ou abrigos .....44

Tabela 5 Comparação da prevalência de *Giardia* sp. em gatos, em diferentes estudos nacionais, divididos por estados da federação (UF) e de acordo com ambiente onde vivem, utilizando o mesmo método diagnóstico (centrifugo-flutuação em sulfato de zinco) .....44

CAPÍTULO 3

Tabela 1 Números de casos de *Giardia* sp. e coinfecções em cães e gatos avaliados pela técnica coproparasitológica de centrifugo-flutuação com sulfato de zinco .....64

Tabela 2 Distribuição do número de casos positivos para *Giardia* sp. pela técnica de centrífugo-flutuação com sulfato de zinco de acordo com idade para cada espécie .....65

Tabela 3 Número de amplificações positivas pela técnica da PCR de acordo com o gene e a espécie .....66

Tabela 4 Distribuição dos *assemblages* de acordo com os primers *gdh*, β-*giardina* e *tpi* para os gatos .....67

SUMÁRIO

Página

RESUMO .....xi

ABSTRACT .....xii

CAPÍTULO 1 .....13

INTRODUÇÃO .....14

REVISÃO DE LITERATURA .....17

1. Formas evolutivas do parasita .....17
2. Ciclo de vida *Giardia* sp. .....18
3. Sintomatologia clínica .....19
4. Prevalência da *Giardia* sp. nas diferentes espécies animais e a relação ambiental .....20
5. Reconhecimento da importância da giardíase .....21
6. Diagnóstico .....23
7. Tipagem genética .....24
8. Caracterização molecular de *Giardia duodenalis* .....26

8.1 *Assemblages* e espécies envolvidas .....28

8.1.1 *Assemblages* em seres humanos .....28

8.1.2 *Assemblages* em cães .....28

8.1.3 *Assemblages* em gatos .....30

8.1.4 *Assemblages* em ruminantes .....31

9. Estudos multi-espécies e o potencial zoonótico .....31

CAPÍTULO 2 .....35

Artigo científico: “Estudo retrospectivo e comparativo da prevalência de *Giardia* sp. em cães, gatos e pequenos ruminantes em áreas endêmicas em diferentes estados brasileiros” .....37

CAPÍTULO 3 .....54

Artigo científico: “Prevalence and molecular identification of *Giardia duodenalis* isolates from domiciled and non-domiciled dogs and cats by sequence analysis of fragments of *gdh*, β-*giardin* and *tpi* coding gene.” .....56

CAPÍTULO 4 .....83
DISCUSSÃO GERAL .....84
CONCLUSÕES GERAIS .....86
BIBLIOGRAFIA .....87
APÊNDICES .....94

MORAES, L.F. **Diversidade molecular de *Giardia duodenalis* em animais domésticos na região de Botucatu, sp.** Botucatu, 2021. 97p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

## RESUMO

*Giardia* é um importante protozoário relacionado a quadros de diarreia em animais e seres humanos, transmitido por via fecal-oral. Apesar de representar um importante problema de saúde pública mundial, pouco se conhece sobre o papel efetivo dos animais na epidemiologia da giardíase, mesmo com o desenvolvimento de técnicas moleculares que permitiram consideráveis progressos na identificação e classificação deste protozoário. O objetivo do presente estudo foi determinar a prevalência de *Giardia* sp. em cães, gatos e pequenos ruminantes, além de detectar a diversidade molecular de *Giardia duodenalis* pela avaliação dos *loci gdh* (glutamato desidrogenase), *bg* (β-giardina) e *tpi* (triose fosfato isomerase) em cães e gatos da região de Botucatu, SP, determinando os *assemblages* e o papel dos animais de companhia como potenciais reservatórios do parasita para a infecção em seres humanos. Amostras de fezes foram avaliadas pela técnica coproparasitológica de centrifugo-flutuação de sulfato de zinco, com prevalências de 8,7%, 10,4% e 6,6% para cães, gatos e pequenos ruminantes, respectivamente. Houve uma maior prevalência dos *assemblages* C, D, A, respectivamente para os cães e para os gatos foram detectados os *assemblages* A, B, C, E e F, sendo o *assemblage* A de maior prevalência, seguida por F. Não houve correlação entre os *assemblages* zoonóticos e o ambiente domiciliado. A detecção dos *assemblages* A e B é um passo importante para sugerir um potencial zoonótico e indicar a participação dos cães, gatos e dos seres humanos no ciclo de transmissão da *G. duodenalis*, aumentando a possibilidade de um problema de saúde pública envolvendo a giardíase.

**Palavras-chave:** *Giardia*, *assemblage*, zoonose, cães, gatos

MORAES, L.F. **Molecular diversity of Giardia duodenalis in domestic animals from Botucatu (SP) region.** Botucatu, 2021. 97p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

## ABSTRACT

*Giardia* is an important intestinal protozoon related to diarrhea in animals and humans, transmitted by fecal oral route. Despite giardiasis representing an important word public health problem, little is known about the effective role of animals in epidemiology, even with the development of molecular techniques that allowed considerable progress in the identification and classification of this protozoan. The aim of the present study was set the prevalence of *Giardia* sp. in dogs, cats and small ruminants, in addition to detect the molecular diversity of *Giardia duodenalis* assessing *gdh* (glutamate dehydrogenase), *bg* (β-giardin) and *tpi* (phosphate isomerase) loci in dogs and cats from Botucatu, SP. The assessment of what assemblages are involved is important for evaluate the role of companion and production animals as potential reservoirs of human infection. Fecal samples were evaluated by centrifugal-flotation method, with prevalence of 8.7%, 10.4% and 6.6% for dogs, cats and small ruminants, respectively. From the molecular analyzes there was a higher prevalence of assemblages C, D, A, respectively for dogs, and for cats assemblages A, B, C, E and F were detected, with assemblage A the most prevalent, followed by F. There was no correlate between zoonotic assemblages and domiciled animals. The detection of assemblages A and B is an important step to suggest a zoonotic potential and to indicate the participation of dogs, cats and humans in the transmission of *G. duodenalis*, increasing the possibility of a public health problem involving giardiasis.

**Key words:** *Giardia*, assemblage, zoonosis, dogs, cats

# CAPÍTULO 1

## INTRODUÇÃO

*Giardia* é um dos protozoários mais comuns de distribuição mundial. Trata-se de um enteroparasita não invasivo, com multiplicação assexuada que coloniza o intestino delgado de diferentes espécies de hospedeiros vertebrados. *Giardia* é um parasita flagelado, unicelular que se apresenta sob duas formas evolutivas denominadas trofozoíto e cisto (THOMPSON, 2000; BOWMAN, 2009; WEESE & FULFORD, 2011).

As espécies do gênero *Giardia* podem infectar diversos hospedeiros, como seres humanos, cães, gatos, ruminantes, suínos, equinos e mamíferos selvagens (*Giardia duodenalis*), além de aves (*Giardia ardeae e Giardia psittaci*), répteis, anfíbios (*Giardia agilis*) e roedores (*Giardia microti*, *Giardia muris*). Mais recentemente, duas novas espécies foram descritas, *Giardia cricetidarium* em hamsteres e *Giardia peramelis* em marsupiais denominados "bandicoots" (THOMPSON, 2000; WEESE & FULFORD, 2011; RYAN & CACCIÒ, 2013; HILLMAN et al., 2016; RYAN & ZAHEDI, 2019).

Apenas a espécie *G. duodenalis* (syn. *Giardia intestinalis*, *Giardia lamblia*) é capaz de infectar a espécie humana e outros mamíferos. A infecção por *Giardia* é uma importante causa de diarreia em seres humanos e animais, transmitido por via fecal oral, sendo comuns ocorrerem surtos a partir da ingestão de água e/ou alimentos contaminados pelo protozoário na sua forma de cistos, resistentes no meio ambiente. Ademais, apresenta potencial zoonótico, sendo um importante problema de saúde pública (THOMPSON, 2000; GALINDO et al., 2006; KATAGIRI & RIBEIRO, 2015).

Mundialmente em seres humanos estima-se que cerca de 7% da população abriga *Giardia* no intestino delgado (BOWMAN, 2009). A infecção por *Giardia duodenalis* é mais prevalente em crianças do que em adultos e mais comum em crianças institucionalizadas e de idade pré-escolar e escolar, com maior prevalência até os dois anos de idade, aparentemente relacionada à transmissão direta de pessoa para pessoa. Esta descrição epidemiológica possivelmente pode ser aplicada para os cães e gatos, pois muitos relatos apontaram uma maior incidência da doença em filhotes e animais de canil e abrigos. Deste modo, mesmo este parasita tendo um caráter zoonótico controverso, faz-se necessário o tratamento ou isolamento de um animal infectado para proteger outros cães e gatos de uma possível infecção e a

prevenção de contaminação ambiental por cistos potencialmente zoonóticos (BOWMAN & LUCIO-FOSTER, 2010).

No Brasil, a prevalência de *Giardia* sp. em cães varia de 0,8 a 45%. Para os gatos e ruminantes a prevalência nacional varia entre 3,5% a 13,7% e 11,7% a 24,8%, respectivamente (COELHO et al., 2017; RYAN & ZAHEDI, 2019). Há relatos de ocorrência significativa de *G. duodenalis* em ovinos e vacas leiteiras no Brasil, principalmente em animais jovens (PAZ E SILVA et al., 2012; 2014).

A gravidade da infecção é determinada pela interação entre a virulência do parasita e estado nutricional, imunológico e de desenvolvimento do hospedeiro; além da microflora natural intestinal e da presença ou ausência de outros patógenos intestinais (CARVALHO et al., 2006; CACCIÒ & RYAN, 2008; FENG & XIAO, 2011; SCORZA & LAPPIN, 2012; CERTAD et al., 2017).

Há considerável diversidade genética, sendo a espécie *G. duodenalis* constituída por oito variantes ou grupamentos genéticos, denominados *assemblages* (A-H). Essa divisão entre *assemblages* é baseada nas diferenças de suas proteínas ou polimorfismo de seu DNA, causando infecção nos seres humanos, primatas e em mamíferos domésticos e selvagens. Em seres humanos há maior prevalência dos *assemblages* A e B. Cães e gatos são predominantemente infectados pelos *assemblages* canina-específica (C ou D) e felino-específica (F). Para ruminantes grande parte das infeções está relacionada ao *assemblage* hospedeiro-específico E (CACCIÒ et al., 2008; FENG & XIAO, 2011; RYAN & CACCIÒ, 2013; CERTAD et al., 2017; WEGAYEHU et al., 2017).

Apenas a partir de estudos moleculares, para a determinação dos *assemblages* envolvidos nas infecções, é possível avaliar o papel dos animais no ciclo da doença como possíveis fontes potencialmente zoonóticas, já que morfologicamente os isolados que infectam diferentes hospedeiros são indistinguíveis (SPRONG et al., 2009; BALLWEBER et al., 2010).

Portanto, os objetivos deste estudo incluem a determinação da prevalência de *Giardia* sp. em cães, gatos e pequenos ruminantes e a caracterização molecular dos isolados de *G. duodenalis* obtidos em amostras de cães e gatos sequenciadas pelo método Sanger, determinando um perfil dos *assemblages* envolvidos e a avaliação do possível papel destes animais como potenciais reservatórios de *Giardia duodenalis* para transmissão inter e

intraespécie. Além disso, serão correlacionados dados sobre os *assemblages* e o ambiente nos quais estes animais vivem (domicílio ou não domiciliados). Os dados obtidos serão importantes para se realizar avanços em ações na saúde pública para a comunidade do município de Botucatu, SP.

# CONCLUSÕES GERAIS

No município de Botucatu, SP, a prevalência de *Giardia* sp. em exames de centrifugo-flutuação em sulfato de zinco variou nos períodos avaliados nos dois estudos tanto para cães e gatos, correspondendo a 8,7% e 18,9% para os cães e a 10,4% e 24,8% para os gatos, respectivamente ao segundo e primeiro estudo. Há uma diferença estatística entre as prevalências de *Giardia* sp. em gatos domiciliados e não domiciliados. Para ruminantes a prevalência relatada foi inferior quando comparada a estudos nacionais anteriores.

Estudos de prevalência em diferentes espécies merecem destaque, pois diferentes ambientes e condições sanitárias onde os animais vivem e as regiões ou país em questão fornecem dados únicos sobre a presença da *Giardia* sp. Este pode ser um ponto inicial para maiores investigações de *Giardia* sp. a partir de diagnósticos moleculares para se determinar o real envolvimento destes animais na epidemiologia da doença e seu potencial zoonótico.

A proximidade da relação dos pets e dos animais de produção com os seres humanos é um importante fator para fundamentar as pesquisas sobre transmissão da *Giardia* interespécie, a partir da determinação dos *assemblages,* principalmente aqueles com potencial zoonótico.

Estas informações estabelecem os genótipos circulantes na região, validando ainda mais os estudos em diferentes ocasiões e populações, já que o ciclo da *Giardia* é dinâmico, destacando possíveis novos cenários de transmissão.

A presença de *subassemblages* zoonóticos (A e B) neste estudo em cães e gatos a partir da avaliação *multilocus genotyping* indica o envolvimento destes animais e de seres humanos no ciclo de transmissão da *Giardia duodenalis*. Entretanto não houve correlação entre a relação estreita destes animais e seres humanos e a presença de *assemblages* zoonóticos. Outros fatores como higiene e condições sanitárias podem ter um peso maior sobre esta condição.

**BIBLIOGRAFIA**


1. Ankarklev J., Svärd SG., Lebbad M. Allelic sequence heterozygosity in single Giardia parasites. *BMC Microbiology* 12:65, 2012.
2. Atlas R.M. One Health: Its Origins and Future. In: Mackenzie J.S., Jeggo, M., Daszak, P., Richt, J.A. One Health: The Human-Animal-Environment Interfaces in Emerging Infectious Diseases. *The Concept and Examples of a One Health Approach.* Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2013, p.1-13. ISBN 978-3-642-36888-2.
3. Bedford, E. Global dog and cat pet population 2018. Statista, mar. 2020. https://www.statista.com/statistics/1044386/dog-and-cat-pet-population-worldwide/. Acesso em 30/05/2021.
4. Bomfim T.C.B., Huber F., Gomes R.S. & Alves L.L. Natural infection by *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* sp. in dairy goats, associated with possible risk factors of the studied properties. *Veterinary Parasitology*. v.134, p.9-13, 2005.
5. Bugg R.J., Robertson I.D., Elliot A.D., Thompson R.C. Gastrointestinal parasites of urban dogs in Perth, Western Australia. *Veterinary Journal*. v.157, p.295–301, 1999.
6. Bowman D.D. *Georgis' Parasitology for Veterinarians*, 9th Edition. 2009. 464p. ISBN: 9781416044123
7. Bowman D.D., Lucio-Foster A. Cryptosporidiosis and giardiasis in dogs and cats: Veterinary and public health importance. *Experimental Parasitology*. v.124, p.121-127, 2010.
8. Ballweber L.R, Xiao L., Bowman D.D., Kahn G, Cama V.A. Giardiasis in dogs and cats: update on epidemiology and public health significance. *Trends in Parasitology*, v.26, n.4, p.180-189, 2010. DOI: 10.1016/j.pt.2010.02.005.
9. Cacciò S.M., Beck R., Lalle M., Marinculic A., Pozio E. Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* reveals striking differences between assemblages A and B. *International Journal for Parasitology*. v.38, p.1523-1531, 2008.
10. Cacciò S.M., Lalle M., Svard S.G. Host specificity in the Giardia duodenalis species complex. Infection, Genetics and Evolution. v.66, p.335-345, 2018. doi: 10.1016/j.meegid.2017.12.001.

11. Cacciò S.M., Ryan U. Molecular epidemiology of giardiasis. *Molecular & Biochemical Parasitology*. v.160, p.75-80, 2008.
12. Campos Filho P.C., Barros L.M., Campos J.O., Braga V.B., Cazorla I.M., Albuquerque G. R., Carvalho S.M.S. Parasitas zoonóticos em fezes de cães em praças públicas do município de Itabuna, Bahia, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária.* v.17, n.4, p.206-209, 2008.
13. Carvalho T.B., Carvalho L.R., Mascarini L.M. Occurrence of enteroparasites in day care centers in Botucatu (São Paulo State, Brazil) with emphasis on *Cryptosporidium* sp., *Giardia duodenalis* and *Enterobius vermicularis*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. v.48, n.5, p.269-273, 2006. ISSN 1678-9946.
14. Certad G., Viscogliosi E., Chabé M., Cacciò S.M. 2017. Pathogenic mechanisms of Cryptosporidium and Giardia. *Trends in Parasitology*. DOI: 10.1016/j.pt.2017.02.006
15. Cooper M.A., Sterling C.R., Gilman R.H., Cama V., Ortega Y., Adam R.D. Molecular analysis of household transmission of *Giardia lamblia* in a region of high endemicity in Peru. *The Journal of Infectious Diseases*. v.202, n.11, p.1713-1721, 2010. DOI: 10.1086/657142.
16. Covacin, C., Aucoin, D.P., Elliot, A., Thompson, R.C. Genotypic characterization of Giardia from domestic dogs in the USA. *Veterinary Parasitology*. v.177, p.28-32, 2011.
17. Fantinatti M., Caseca A.C., Bello A.R., Fernandes O. The presence of *Giardia lamblia* assemblage A in dogs suggests an anthropozoonotic cycle of the parasite in Rio de Janeiro, Brazil. *Infection, Genetics and Evolution*. v.65, p.265–269, 2018.
18. Faria CP., Zanini G.M., Dias G.S., Silva S. et al. Geospatial distribution of intestinal parasitic infections in Rio de Janeiro (Brazil) and its association with social determinants. *PloS Neglected Tropical Diseases*. 2017. DOI: 10.1371/journal.pntd.0005445
19. Fava N.M.N., Soares R.M, Scalia L.A.M., Cunha M.J.R., Faria E.S.M., Cury M.C. Molecular typing of canine *Giardia duodenalis* isolates from Minas Gerais, Brazil. *Experimental Parasitology*. v.161, p.1-5, 2016.

20. 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. DOI: 10.1128/CMR.00033-10.
21. Faust EC., D`Antoni J.S., Odom V., Miller M.J., Peres C., Sawitz W., Thomen L.F., Tobie J., Walker H. Critical study of clinical laboratory technics for the diagnosis of protozoan cysts and helminth eggs in feces. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. S1-18, p.169-183, 1938.
22. Galindo J.F.G., Romero A.O., Espuny J.C., Merced A.S. Parasitología Clínica – parasitosis digestivas del perro y del gato. *Multimédica Ediciones Veterinarias*: Barcelona, 2006. 138p.
23. Gil H., Cano L., Lucio A., Bailo B. et al. Detection and molecular diversity of *Giardia duodenalis* and Cryptosporidium spp. in sheltered dogs and cats in Northern Spain. *Infection, Genetics and Evolution*. v.50, p.62-69, 2017.
24. Heyworth MF. *Giardia duodenalis* genetic assemblages and hosts. *Parasite*. v.23, n.13, 2016.
25. Hillman A., Ash A., Elliot A., Lymbery A., Perez C., Thompson, R. Confirmation of a unique species of *Giardia*, parasitic in the quenda (Isoodon obesulus). *International Journal for Parasitology. Parasites and Wildlife*. v.5, n.1, p.110–115, 2016.
26. Huber F., Bomfim T.C.B., Gomes R.S. Comparison between natural infection by *Cryptosporidium* sp., *Giardia* sp. in dogs in two living situations in the West Zone of the municipality of Rio de Janeiro. *Veterinary Parasitology*. v.130, p.69-72, 2005.
27. Inpankaew T., Schär F., Odermatt P., Odermatt P., Dalsgaard A., Chimnoi W., Khieu V., Muth S., Traub RJ. Low risk for transmission of zoonotic *Giardia duodenalis* from dogs to humans in rural Cambodia. *Parasites & Vectors*. v.7, n. 412, 2014. DOI:10.1186/1756-3305-7-412.
28. Inpankaew T., Traub R., Thompson R.C., Sukthana Y. Canine parasitic zoonoses in Bangkok temples. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*. v.38, n.2, p.247-255, 2007.
29. Instituto Pet Brasil. Censo Pet: 139,3 milhões de animais de estimação no Brasil. 22. jun. 2019. http://institutopetbrasil.com/imprensa/censo-pet-

1393-milhoes-de-animais-de-estimacao-no-brasil/. Acesso em 30/05/2021.

30. Júnior F. A. S, Carvalho A.H.O; Rocha C.M.B.M.; Guimarães A.M. Fatores de risco associados à infecção por *Cryptosporidium* spp. e *Giardia duodenalis* em bovinos leiteiros na fase de cria e recria na mesorregião do Campo das Vertentes de Minas Gerais. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. v.31, n.8, p.690-696, 2011.
31. Katagiri S., Oliveira-Siqueira T.C.G. Zoonoses causadas por parasitas de cães e o problema do diagnóstico. *Arquivo do Instituto Biológico (São Paulo)*. v.74, p.175-184, 2007.
32. Katagiri, S., Oliveira-Sequeira, T.C. Prevalence of dog intestinal parasites and risk perception of zoonotic infection by dog owners in São Paulo state, Brazil. *Zoonoses Public Health*. v.55, p.406-413, 2008.
33. Katagiri S., Ribeiro C.M. Giardíase. In: Ribeiro CM. *Enfermidades Parasitárias por Protozoários em Pequenos Animais*. Editora Rubio: Rio de Janeiro, 2015. p.33-38.
34. Lee S.H., VanBik D., Kim H.Y., Cho A., Kim J. W., Byun J. W., Oem J. K., Oh S. I., Kwak D. Prevalence and molecular characterisation of *Giardia duodenalis* in calves with diarrhea. *Veterinary Record*. 2016. DOI: 10.1136/vr.103534
35. Meireles P., Montiani-Ferreira F., Thomaz-Soccol V. Survey of giardiosis in household and shelter dogs from metropolitan areas of Curitiba, Paraná state, Southern Brazil. *Veterinary Parasitology*. v.152, n.3-4, p.242-248, 2008. DOI: 10.1016/j.vetpar.2007.12.025.
36. Minetti C., Taweenan W., Hogg R., Featherstone C., Randle N., Latham S.M., Wastling J.M. Occurrence and diversity of *Giardia duodenalis* assemblages in livestock in.the UK. *Transboundary and Emerging Diseases*. v.61, n.6, p.60-67, 2014. DOI: 10.1111/tbed.12075.
37. Mohamed A.S., Levine M., Camp J.W. Jr, Lund E., Yoder J.S., Glickman L.T., Moore G.E. Temporal patterns of human and canine Giardia infection in the United States: 2003-2009. *Preventive Veterinary Medicine*. v.113, n.2, p.249-256, 2014. DOI: 10.1016/j.prevetmed.2013.11.006.
38. Moraes L.F., Neto V.A.K., Oliveira R. M., Providelo G.A., Babboni S.D., Ferreira J.C.P., Schmidt E.M.S. Estudo retrospectivo e comparativo da

prevalência de *Giardia* sp. em cães, gatos e pequenos ruminantes em áreas endêmicas em diferentes estados brasileiros. *Acta Scientiae Veterinariae*. v.47, pub.1657, 2019.

39. Mundim M.J.S., Rosa L.A.G., Hortêncio S.M., Faria E.S.M., Rodrigues R.M. & Cury M.C. Prevalence of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in dogs from different living conditions in Uberlândia, Brazil. *Veterinary Parasitology*. v.144, p.356-359, 2007.
40. O'Handley R.M., Olson M.E., Fraser D., Adams,P., Thompson R.C. Prevalence and genotypic characterisation of Giardia in dairy calves from Western Australia and Western Canada. *Veterinary Parasitology*. v.90, p.193–200, 2000.
41. Oliveira-Sequeira, T.C., Amarante, A.F., Ferrari, T.B., Nunes, L.C., Prevalence of intestinal parasites in dogs from São Paulo state, Brazil. *Veterinary Parasitology*. v.103, p.19-27, 2002.
42. Papini R., Cardini G., Paoletti B., Giangaspero A. Detection of Giardia assemblage A in cats in Florence, Italy. *Parasitology Research*. v.100, p.653–656, 2007.
43. Ramirez-Ocampo S., Cotte-Alzate J.D., Escobedo A.A., Rodríguez-Morales A.J. Prevalence of zoonotic and non-zoonotic genotypes of *Giardia intestinalis* in cats: a systematic review and meta-analysis. *Le Infezioni in Medicina*. v.4, p.326-338, 2017.
44. Paz e Silva F.M., Lopes R.S., Bresciani K.D.S., Amarante A.F.T., Araújo Jr J.P. High occurrence of Cryptosporidium ubiquitum and *Giardia duodenalis* genotype E in sheep from Brazil. *Acta Parasitologica*. v.59, p.193-196, 2014.
45. Paz e Silva F.M., Lopes R.S., Araújo Jr J.P. Genetic characterization of *Giardia duodenalis* in dairy cattle in Brazil. *Folia Parasitologica*. v.59, p.15-20, 2012.
46. Paz e Silva F.M., Monobe M.M., Lopes R.S., Araujo Jr J.P. Molecular characterization of *Giardia duodenalis* in dogs from Brazil. *Parasitology Research*. v.110, n.1, p.325-334, 2012.
47. Ryan U., Cacciò S.M. Zoonotic potential of Giardia. *International Journal for Parasitology*. v.43, p.943-956, 2013.

48. Ryan U., Zahedi A. Molecular epidemiology of giardiasis from veterinary perspective. *Advances in Parasitology*. v.106, p.209-254. 2019. doi: 10.1016/bs.apar.2019.07.002.
49. Scorza V., Lappin M.R. Enteric Protozoal Infections. In: *Greene C.E. Infectious Diseases of the Dog and Cat*, 4th edition, 2012. p.785-792. ISBN-13: 978-1416061304
50. Sprong H, Cacció S.M., Van der Giessen J.W.B., ZOOPNET network and partners. Identification of zoonotic genotypes of *Giardia duodenalis*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. v3, n.12, e558, 2009.
51. Souza S.L.P., Gennari S.M., Richtzenhain L.J., Pena H.F., Funada M.R., Cortez A., Gregori F., Soares R.M. Molecular identification of *Giardia duodenalis* isolates from humans, dogs, cats and cattle from the state of São Paulo, Brazil, by sequence analysis of fragments of glutamate dehydrogenase (gdh) coding gene. *Veterinary Parasitology*. v.149, n.3-4, p.258-264, 2007. PubMed PMID: 17900812.
52. Sudré A.P., Couto M.C.M. & Bomfim T.C.B. Occurrence of *Giardia intestinalis* in dairy goats and evaluation of risk factors for infection: research note. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*. v.19, n.3, p.149-153, 2014.
53. Thompson, R.C.A., Monis P. Giardia-from genome to proteome. *Advances in Parasitology.* v.78, p.57-95, 2012. doi: 10.1016/B978-0-12-394303-3.00003-7.
54. Thompson, R.C.A. Giardiasis as re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. *International Journal for Parasitology*. v.30, p.1259-1267, 2000.
55. Toledo, R. D., Martins, F. D., Ferreira, F. P., de Almeida, J. C., Ogawa, L., Dos Santos, H. L., Dos Santos, M. M., Pinheiro, F. A., Navarro, I. T., Garcia, J. L., Freire, R. L. *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in feces and water and the associated exposure factors on dairy farms. *PloS one*. v.12, n.4, e0175311, 2017. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175311
56. Torrico K.J., Santos K.R., Martins T., Paz e Silva F.M., Takahira R.K., Lopes R.S. Ocorrência de parasitas gastrintestinais em cães e gatos na rotina do Laboratório de Enfermidades Parasitárias dos Animais da

FMVZ-UNESP, Botucatu, SP. (Research note). *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*. v.17, supl.1, p.182-183, 2008.

57. Traub, R.J., Robertson, I.D., Irwin, P., Mencke, N., Thompson, R.C. The role of dogs in transmission of gastrointestinal parasites in a remote tea-growing community in northeastern India. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. v.67, p.539-545, 2002.
58. Viana, S.G.F, Sogayar, M.I.T.L. *Giardia* In: Neves, D.P. *Parasitologia humana*. São Paulo, Atheneu Ed., 2016. cap.14, 133-140.
59. Volatão A.C., Costa-Macedo L.M., Haddad F.S., Brandão A., Peralta J.M., Fernandes O. Genotyping of *Giardia duodenalis* from human and animal samples from Brazil using beta-giardin gene: a phylogenetic analysis. *Acta Tropica*. v.102, n.1, p.10-19, 2007. PubMed PMID: 17428432.
60. Weese J.S., Fulford M.B. *Companion Animal Zoonoses*. Wiley-Blackwell: Ames, 2011. p.30-36.
61. Wegayehu T., Karim Md. R., Li, J., Adamu H., Erko B., Zhang L., Tilahun G. Prevalence and genetic characterization of Cryptosporidium species and *Giardia duodenalis* in lambs in Oromia Special Zone, Central Ethiopia. *BMC Veterinary Research*. v.13, p.22-28, 2017.
62. Wielinga C.M., Thompson R.C. Comparative evaluation of *Giardia duodenalis* sequence data. *Parasitology*. v.134, (Pt 12), p.1795-1821, 2007.