

**DETECÇÃO DE COINFECÇÕES POR *Leishmania (L.) chagasi*,
Trypanosoma evansi, *Toxoplasma gondii* E
Neospora caninum EM CÃES**

DETECTION OF CO-INFECTIONS BY *Leishmania (L.) chagasi*, *Trypanosoma evansi*,
Toxoplasma gondii AND *Neospora caninum* IN DOGS

**W.M. D. COELHO^{1*}, J. C. APOLINÁRIO COELHO¹, W. F. P. TEIXEIRA²,
N. M. D. COELHO¹, G. P. OLIVEIRA², W. D. Z. LOPES³, B. C. CRUZ²,
W. G. MACIEL², V. E. SOARES², K. D. S. BRESCIANI¹**

RESUMO

Foram investigadas coinfeções por *Leishmania (L.) chagasi*, *Trypanosoma evansi*, *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* em cães. Formas amastigotas de *Leishmania* spp. foram detectadas pela análise citopatológica de linfonodos em 46,42% (39/84) dos cães. Em um cão macho, adulto, sem raça definida, proveniente de área rural e positivo para *Leishmania*, foram observadas formas flageladas de *T. evansi* em esfregaço sanguíneo. Pela imunofluorescência indireta (RIFI), 5,95% (5/84) dos cães foram considerados reagentes para *T. gondii*, com titulação igual a 64, enquanto que 3,57% (3/84) foram reagentes para *N. caninum*, com título 50. Entre os animais com leishmaniose visceral, um apresentou resposta sorológica positiva para *T. gondii* e dois para *N. caninum*. Todos os cães reagentes para *N. caninum* eram de área rural e, o predomínio da infecção pelo *T. gondii* ocorreu em cães da área urbana. Um cão macho, jovem, da zona rural e soropositivo para *T. gondii*, apresentou mórulas de *Ehrlichia* spp. na citologia e reação positiva para o vírus da cinomose. Deste modo, mais estudos são necessários para avaliar a epidemiologia dessas infecções na população canina, principalmente com relação aos reservatórios de *Trypanosoma* spp. nas zonas rurais.

PALAVRAS-CHAVE: Leishmaniose, Neosporose, Sorologia, Toxoplasmose, Tripanosomose.

SUMMARY

Co-infections by *Leishmania (L.) chagasi*, *Trypanosoma evansi*, *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs were investigated. Amastigotes forms of *Leishmania* spp. were detected by cytopathological analysis of lymph nodes in 46,42% (39/84) of dogs. In a male dog, adult, without defined breed, from rural area and positive for *Leishmania*, were observed flagellated forms of *T. evansi* in blood smear. By immunofluorescence antibody test, 5,95% (5/84) of dogs were considered reactive to *T. gondii*, with titer equal to or higher than 1:64, while 3,57% (3/84) were reactive to *N. caninum*, with titer \geq 1:50. Among the animals with visceral leishmaniasis, one showed positive serological response to *T. gondii* and two for *N. caninum*. All dogs reactive to *N. caninum* were from rural area and the predominance of infection by *T. gondii* was in dogs from urban area. A young male dog from the rural area and seropositive for *T. gondii* showed *Ehrlichia* spp. morulae in the cytology and positive reaction for canine distemper virus. Thus, further studies are needed to assess the epidemiology of these infections in canine population, especially with respect to the reservoirs of *Trypanosoma* spp. in rural areas.

KEY-WORDS: Leishmaniasis, Neosporosis, Serology, Toxoplasmosis, Trypanosomiasis.

¹Universidade Estadual Paulista–UNESP, Campus de Araçatuba-SP. Rua Clóvis Pestana, 793, Araçatuba, 16050-680, São Paulo, Brazil. Phone: +55(18) 36361370 Corresponding author: e-mail: willianmarinho@hotmail.com

² Universidade Estadual Paulista–UNESP, Campus de Jaboticabal, Via de Acesso Prof. Paulo Donato Castellane, s/n, Jaboticabal, 14884-900, São Paulo, Brazil.

³ Universidade Estadual de Maringá – UEM, Campus de Umuarama, Rodov. PR 489, nº 1.400, Umuarama, 87508-210, Paraná, Brazil.

INTRODUÇÃO

Cães podem ser naturalmente infectados por uma grande variedade de agentes etiológicos, responsáveis por causar dano direto a estes animais. De acordo com Camargo et al. (2007), alguns destes patógenos acarretam sérios problemas em saúde pública, por serem capazes de infectar seres humanos.

A literatura científica contém relatos de variadas formas de coinfeções em cães. Associações da infecção por *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Leishmania* spp. (CRINGOLI et al., 2002; GENNARI et al., 2006; GUIMARÃES et al., 2009) e vírus da cinomose (MORETTI et al., 2002) foram observadas, incluindo a coinfeção por *Leishmania* (*L. chagasi* e *Trypanosoma evansi*) (SAVANI et al., 2005).

Sousa & Almeida, (2008) relataram que coinfeções parasitárias podem levar a agravos clínicos em animais, sendo este um fator comum onde a ocorrência de diversas doenças existe de forma concomitante.

Devido ao fato do município de Andradina, no estado de São Paulo, Brasil, ser considerado uma área endêmica para um amplo espectro de doenças parasitárias e virais de cães, este estudo objetivou a investigação da ocorrência de coinfeções por *L. chagasi*, *T. evansi*, *T. gondii* e *N. caninum*, além da eventual ocorrência de outros agentes em cães domiciliados das áreas urbanas e rurais desta cidade.

MATERIAL E MÉTODOS

O grupo experimental consistiu-se de 84 cães, sendo 75 da área urbana e nove das áreas rurais. Entre estes, 43 animais eram do sexo masculino e 41 do sexo feminino, sendo 44 com raça definida (RD) e 40 sem raça definida (SRD). Os animais foram classificados de acordo com a idade em grupos compostos por 21 cães adultos e 63 jovens. Este estudo foi realizado com a aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da “Faculdade de Odontologia de Araçatuba (FOA), Universidade Estadual Paulista” - UNESP, Brasil, sob o protocolo número 2007-003276.

O sangue (5 mL), foi colhido por venopunção, com tubos Vacutainer siliconizados sem anticoagulante e centrifugados a 3000 rpm durante cinco minutos. O soro obtido foi transferido para tubos de plástico estéreis e imediatamente congelados a -20° C.

Biópsia aspirativa de linfonodo e PCR foram realizadas para o diagnóstico da leishmaniose canina. A amplificação do DNA de *Leishmania* sp. foi realizada a partir de amostras de nódulos linfáticos positivos em microscopia, utilizando o kit de extração de DNA (QIAamp Blood and Tissue; Quiagen®, CA, EUA), com a amplificação de fragmentos de DNA (120 pb) do minicírculo cinetoplástico (RODGERS et al, 1990).

Com o auxílio de esfregaços de sangue periférico e biópsia aspirativa de linfonodos por meio de agulha fina, foram confeccionadas esfregaços em lâminas de microscopia, onde se investigou a presença

de hemoparasitas nos cães. Estas amostras foram coradas com o kit Panótico Rápido®, onde foram pesquisadas formas amastigotas de *Leishmania* spp., formas flageladas de *Trypanosoma* spp. entre outros hemoparasitas, por meio da inspeção de 300 campos microscópicos sob aumento de 1000x. A identificação de *T. evansi* foi realizada, perante as medidas biométricas (RAMIREZ et al, 1997; AQUINO et al, 1999) e ausência de cinetoplasto (NUNES et al, 1993; SANTOS SILVA et al, 2002).

As amostras de soro foram analisadas por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI), visando identificar a presença de imunoglobulina G (IgG) contra *T. gondii* e *N. caninum*. As diluições utilizadas como cortes eram 1:64 e 1:50 para *T. gondii* (DA SILVA et al, 2002) e *N. caninum* (KIM et al, 2003), respectivamente, considerando-se, como resultados positivos, os títulos de 64 para *T. gondii* e 50 para *N. caninum*. Soros positivos e negativos foram incluídos em cada reação, sendo somente as amostras que apresentaram fluorescência completa em torno dos taquizoítos consideradas positivas.

O vírus da cinomose canina (CDV) foi pesquisado por meio do Kit Teste Rápido CDV Ag® (Bioeasy), segundo as recomendações do fabricante.

O teste exato de Fisher e o teste de Qui-quadrado foram utilizados para avaliar as associações entre todas as categorias (StatSoft, 2007), sendo as diferenças consideradas significativas para valores de $P < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Formas amastigotas de *Leishmania* spp. foram observadas em 46.42% (39/84) do total de cães, sendo por meio da técnica de PCR, identificada como *L. chagasi*. Aproximadamente 28 formas flageladas de *Trypanosoma* spp. foram observados por campo, em esfregaços de sangue de um cão macho, adulto, sem raça definida, proveniente de área rural e positivo para leishmaniose visceral canina (LVC). A biometria das formas flageladas resultaram num tamanho total de 26,4 micrometros (μm), comprimento de flagelo livres de 7,59 μm , medida da extremidade posterior ao meio do núcleo de 11,02 μm , e medida do meio do núcleo ao final da extremidade anterior de 10,22 μm , achados estes com compatíveis com *T. evansi* (Figura 1).

De todas as amostras de soro de cães examinadas, 5.95% (5/84) foram consideradas positivas para *T. gondii*, com títulos iguais a 64, e de 3.57% (3/84) foram positivas para *N. caninum* com título igual a 50.

Co-infecção por *Leishmania* spp. foi detectado em 20% (1/5) de animais soropositivos para *T. gondii* e 66,6% (2/3) para *N. caninum*.

Um cão macho jovem, SRD, da área rural e soropositivo para *T. gondii*, apresentou mórulas de *Ehrlichia* spp. em monócitos e corpos de inclusão viral (corpúsculos Lentz) em hemáceas.

Tabela 1 - Influência da raça, sexo, idade e região sobre a ocorrência de *Leishmania chagasi*, *Trypanosoma evansi*, *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, *Ehrlichia* spp. e vírus da cinomose entre 84 cães do Município de Andradina, Estado de São Paulo, Brasil.

Variável	Categoria	<i>L. chagasi</i>		<i>T. evansi</i>		<i>T. gondii</i>		<i>N. caninum</i>		<i>Ehrlichia</i> spp.		Vírus da Cinomose	
		(n=39)*	p value ¹	(n=1)*	p value ²	(n=5)*	p value ²	(n=3)*	p value ²	(n=1)*	p value ²	(n=1)*	p value ²
Idade	Jovens (n=63)	24 ^a	0,0080	0 ^a	0,2500	5 ^a	0,2277	2 ^a	0,5832	0 ^a	0,7500	0 ^a	0,7500
	Adultos (n=21)	15 ^b		1 ^a		0 ^a		1 ^a		1 ^a			
Raça	RD (n=22)	12 ^a	0,3742	0 ^a	0,7381	3 ^a	0,1099	2 ^a	0,1665	0 ^a	0,7381	0 ^a	0,7381
	SRD (n=62)	27 ^a		1 ^a		2 ^a		1 ^a		1 ^a			
Sex	Macho (n=43)	23 ^a	0,1840	0 ^a	0,5119	4 ^a	0,1951	2 ^a	0,5181	0 ^a	0,5119	0 ^a	0,5119
	Fêmea (n=41)	16 ^a		1 ^a		1 ^a		1 ^a		1 ^a			
Área	Urbana (n=75)	34 ^a	0,5612	0 ^a	0,1071	4 ^a	0,4409	0 ^b	0,0009	0 ^a	0,1071	0 ^a	0,1071
	Rural (n=9)	5 ^a		1 ^a		1 ^a		3 ^a		1 ^a		1 ^a	

*: Valores seguidos pela mesma letra na coluna para cada variável não diferem entre si ($p \geq 0.05$).

1: Qui-quadrado. 2: Teste exato de Fisher

Raça definida (RD), Sem raça definida (SRD). Número total (n)

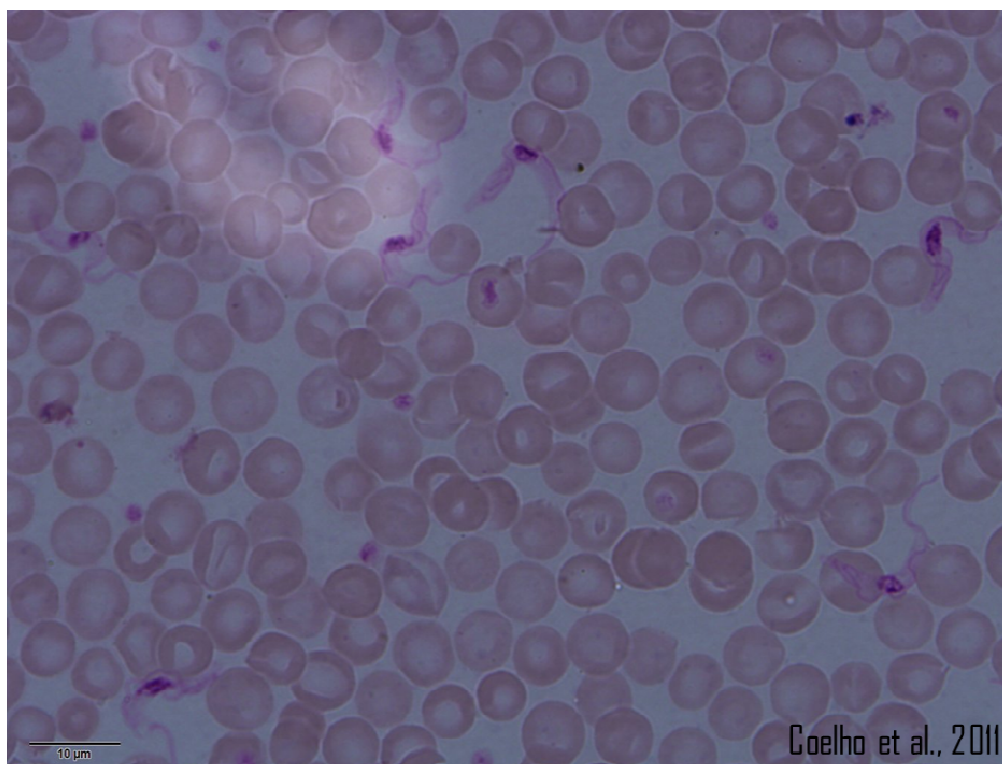


Figura 1 - *Trypanosoma evansi* em esfregaço de sangue de cães naturalmente infectados por *Leishmania (L.) chagasi*.

Na pesquisa do vírus da cinomose canina, apenas um cão jovem, SRD, macho, proveniente da área rural foi diagnosticado como positivo, não sendo diagnosticada qualquer outra doença pesquisada neste estudo.

As variáveis idade, raça, sexo e área não apresentaram influência significativa ($P \geq 0,05$) na ocorrência de *T. evansi*, *T. gondii*, *Ehrlichia* spp. e vírus da cinomose canina (Tabela 1).

Cães jovens foram significativamente ($P \leq 0,05$) mais prevalentes para *L. chagasi* que os adultos, não sendo esta infecção influenciada por nenhuma das outras variáveis analisadas (raça, sexo, área). Quanto a ocorrência de *N. caninum*, os cães oriundos de áreas rurais foram significativamente ($P \leq 0,05$) mais prevalentes para esta infecção que os animais de áreas urbanas (Tabela 1).

Vários estudos têm relatado a ocorrência de co-infecções em cães positivos para LVC. Como descrito no presente estudo, a presença simultânea de *T. evansi* e *L. chagasi* foi também observada em um cão por Savani et al. (2005). Os parâmetros morfológicos e da ausência de cinetoplasto verificada nas formas flageladas encontradas neste estudo são semelhantes aos padrões observados em infecções por *T. evansi* em cães no Brasil (RAMIREZ et al 1997; AQUINO et al, 1999; SANTOS SILVA et al., 2002).

Na cidade de Araçatuba, Gennari et al. (2006) por meio da RIFI, detectaram anticorpos anti-*N. caninum* em 15,3% (15/98) e anti-*T. gondii* em 23,4% (23/98) de 98 cães com LVC, sem influência do sexo do animal na ocorrência destes parasitos, corroborando com os dados do presente estudo, em que o sexo não foi uma causa determinante na ocorrência destes parasitos.

Infecções causadas por *Ehrlichia canis* foram observados em cães com leishmaniose visceral (SOUSA & ALMEIDA, 2008), resultado não observado no presente estudo, onde apenas um cão apresentou uma coinfeção por *Ehrlichia* spp. e *T. gondii*, simultaneamente.

Na cidade de Lavras, estado de Minas Gerais, Brasil, Guimarães et al. (2009) detectaram infecção por *Babesia* spp. em 73,3% (220/300), *T. gondii* em 60,5% (132/218), *N. caninum* em 3,1% (7/228) e *Leishmania* spp. em 0,3% (1/300), dos cães investigados por meio da RIFI, não sendo diagnosticadas co-infecções, divergindo do presente estudo, que diagnosticou co-infecções entre *L. chagasi*, *T. gondii* e *N. caninum*. No entanto, em conformidade com dados obtidos por Guimarães et al. (2009), no presente estudo não foi verificada co-infecção entre *T. gondii* e *N. caninum* em nenhum dos cães examinados.

Azevedo et al. (2005) detectaram maiores percentagens de positividade para *N. caninum* e *T. gondii* em cães do estado da Paraíba, Brasil: 45,1% (129/286) foram soros reagentes para *T. gondii* e 8,4% (24/286) para *N. caninum*.

Diferentemente de nosso trabalho, estes pesquisadores verificaram que 4,9% (14/286) dos cães apresentaram ocorrência simultânea de anticorpos contra ambos os protozoários, o que foi referido por Mineo et al.

(2004) e Romanelli et al. (2007). Esta diferença pode ser explicada pelo fato de que esses pesquisadores não utilizaram cães de áreas urbanas e rurais ao mesmo tempo em seus estudos, e também porque, no presente trabalho, a ocorrência isolada de cães soropositivos para *N. caninum* ocorreu em áreas rurais, com o maior percentual de soropositividade para *T. gondii* naqueles animais da área urbana.

Do mesmo modo, Figueiredo et al. (2008) analisaram amostras séricas de cães oriundos do estado de Pernambuco pela RIFI e observaram 28,3% (177/625) de positividade para anticorpos anti-*N. caninum*. Dentre estas amostras, foi vislumbrado 57,6% de ocorrência para *T. gondii*.

Co-infecção pelo *T. gondii* e vírus da cinomose canina foi relatado por Moretti et al. (2002) em quatro cães. Neste estudo, apenas um animal foi positivo para este vírus e negativo para os demais agentes investigados, o que torna impossível correlacionar este vírus com qualquer um deles.

Neste estudo foi constatada que a maior proporção de animais reagentes para *N. caninum* provinham de áreas rurais. Isto vem ao encontro das observações de Ploneczka et al.(2008) na Polônia. Souza et al. (2003) em São Paulo e Paraná, detectaram também maior porcentagem de positividade de *T. gondii* em cães de áreas rurais, diferindo de nossos achados. Cañón-Franco et al. (2006), de modo similar, constataram uma porcentagem de 8,3% (13/157) de cães soropositivos para *N. caninum*, mesmo em áreas remotas como no estado do Amazonas, Brasil.

Bresciani et al. (2007) constataram pela RIFI que 23,1% (25/108) de cães do município de Araçatuba eram soropositivos para *T. gondii* e 15,7% (17/108) para *N. caninum* e que, o ambiente de criação do animal foi altamente relevante para a infecção. Neste estudo não houve correlação com raça, sexo ou idade, fato este observado por Silva et al. (2010), nem tampouco associação estatística entre a ocorrência destes agentes. Estes resultados foram semelhantes aos obtidos em nosso estudo, especialmente porque Andradina pertence à mesorregião de Araçatuba e ambas as cidades são endêmicas a esses protozoários entéricos.

CONCLUSÃO

Infecções simultâneas por *Leishmania* (*L. chagasi*) e *Trypanosoma evansi* foram detectados em um cão da área rural de Andradina. Esta é a primeira descrição de *T. evansi* em cães nesta região. Alguns animais com leishmaniose visceral foram soropositivos para *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum*. Embora com baixa prevalência, a toxoplasmose teve maior ocorrência entre os cães da área urbana, enquanto neosporose foi mais prevalente em animais de área rural. Assim, mais estudos são necessários para avaliar a epidemiologia dessas infecções na população canina, especialmente no que diz respeito aos reservatórios de *T. evansi* em áreas rurais.

REFERÊNCIAS

- AQUINO, L. P. C. T.; MACHADO, R. Z.; ALESSI, A. C.; MARQUES, L. C.; CASTRO, M. B.; MALHEIROS, E. B. Clinical, parasitological and immunological aspects of experimental infection with *Trypanosoma evansi* in dogs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.94, n.2, p.255-260, 1999.
- AZEVEDO, S. S.; BATISTA, C. S. A.; VASCONCELLOS, S. A.; AGUIAR, D. M.; RAGOZO, A. M. A.; RODRIGUES, A. A. R.; ALVES, C. J.; GENNARI, S. M. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in dogs from the state of Paraíba, Northeast region of Brazil. **Research in Veterinary Science**, v.79, n.1, p.51-56, 2005.
- BRESCIANI, K. D. S.; COSTA, A. J.; NUNES, C. M.; SERRANO, A. C. M.; MOURA, A. B.; STOBBE, N. S.; PERRI, S. H. V.; DIAS, R. A.; GENNARI, S. M. Risk factors associated with the occurrence of antibodies against *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Araçatuba – São Paulo State, Brazil. **Ars Veterinária**, v.23, n.1, p.40-46, 2007.
- CAMARGO, J. B.; TRONCARELLI, M. Z.; RIBEIRO, M. G.; LANGONI, H. Leishmaniose visceral canina: aspectos de saúde pública e controle. **Clínica Veterinária**, São Paulo, n.71, p.86-92, 2007.
- CAÑÓN-FRANCO, W. A.; BERGAMASCHI, D. P.; LABRUNA, M. B.; CAMARGO, L. M. A.; SOUZA, S. L. P.; SILVA, J. C. R.; PINTER, A.; DUBEY, J. P.; GENNARI, S. M. Prevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs from Amazon, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.115, n.1, p.71-74, 2003.
- CRINGOLI, G.; RINALDI, L.; CAPUANO, F.; BALDI, L.; VENEZIANO, V.; CAPELLI, G. Serological survey of *Neospora caninum* and *Leishmania infantum* co-infection in dogs. **Veterinary Parasitology**, v.106, n.4, p.307-313, 2002.
- DA SILVA, A. V.; CUTOLO, A. A.; LANGONI, H. Comparação da reação de imunofluorescência indireta e do método de aglutinação direta na detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma* em soros de ovinos, caprinos, caninos e felinos. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.69, n.1, p.7-11, 2002.
- FIGUEIREDO, L. A.; DANTAS-TORRES, F.; FARIA, E. B.; GONDIM, L. F.; SIMÕES-MATTOS, L.; BRANDÃO-FILHO, S. P.; MOTA, R. A. Occurrence of antibodies to *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs from Pernambuco, Northeast Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.157, n.1, p.9-13, 2008.
- GENNARI, S. M.; CAÑÓN-FRANCO, W. A.; FEITOSA, M. M.; IKEDA, F. A.; LIMA, V. M. F.; AMAKU, M. Presence of anti- *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in dogs with visceral leishmaniasis from the region of Araçatuba, São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.43, n.5, p.613-619, 2006.
- GUIMARÃES, A. M. ROCHA, C. M.; OLIVEIRA, T. M.; ROSADO, I. R.; MORAIS, L. G.; SANTOS, R. R. Factors associated the seropositivity for *Babesia*, *Toxoplasma*, *Neospora* and *Leishmania* in dogs attended at nine veterinary clinics in the municipality of Lavras, MG. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.18, n.1, p.49-53, 2009
- KIM, J. H.; KANG, M. S.; LEE, B. C.; HWANG, W. S.; LEE, C. W.; SO, B. J.; DUBEY, J. P.; KIM, D. Y. Seroprevalence of antibodies to *Neospora caninum* in dogs and raccoon dogs in Korea. **The Korean Journal Parasitology**, v.41, n.4, p.243-245, 2003.
- MINEO, T. W. P.; SILVA, D. A. O.; NÄSLUNA, K.; BJÖRKMAN, C.; UGGLA, A.; MINEO, J. R. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* serological status of different canine populations from Uberlândia, Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.3, p.414-417, 2004.
- MORETTI, L.; SILVA, A. V.; RIBEIRO, A. V.; GARCIA, M.; PAES, A. C.; HELIO, L. *Toxoplasma gondii* genotyping in a dog co-infected with distemper virus and ehrlichiosis rickettsia. **Revista do Instituto de Medicina tropical de São Paulo**, v.48, n.6, p.359-363, 2006.
- NUNES, V. L. B.; OSHIRO, E. T.; DORVAL, M. E. C.; GARCIA, L. A. M.; DA SILVA, A. A. P.; BOGLIOLO, A. R. Investigação epidemiológica sobre *Trypanosoma (Trypanozoon) evansi* no Pantanal Sul-Mato-Grossense. Estudo de reservatórios. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.2, n.1, p.41-44, 1993.
- PLONECZKA, K.; MAZURKIEWICZ, M. Soroprevalence of *Neospora caninum* in dogs in south-western Poland. **Veterinary Parasitology**, v.153, n.1, p.168-171, 2008.
- RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R.; VICTÓRIO, A. M.; SILVA, R. A. M. S.; TRAJANO, V.; JANSEN, A. M. Measurements of *Trypanosoma evansi* from the Pantanal. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.92, n.4, p.483-484, 1997.
- RODGERS, M. R.; POPPER, S. J.; WIRTH, D. F. Amplification of kinetoplast DNA as tool in the detection and diagnosis of *Leishmania*. **Experimental Parasitology**, v.71, n.3, p.267-275, 1990.
- ROMANELLI, P. R.; FREIRE, R. L.; VIDOTTO, O.; MARANA, E. R.; OGAWA, L.; DE PAULA, V. S.; GARCIA, J. L.; NAVARRO, I. T. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Parana State, Brazil. **Research in Veterinary Science**, v.82, n.2, p.202-207, 2007.

SANTOS SILVA, A. M.; SEIDL, A.; RAMIREZ, L.; DÁVILA, A. M. R. *Trypanosoma evansi* e *Trypanosoma vivax*: biologia, diagnóstico e controle. **Corumbá: Embrapa Pantanal**, p.51-55, 2002.

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

SILVA, R. C.; LIMA, V. Y.; TANAKA, E. M.; SILVA, A. V.; SOUZA, L. C.; LANGONI, H. Risk factors and presence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in dogs from the coast of São Paulo State, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.30, n.2, p.161-166, 2010.

SOUSA, V. R. F.; ALMEIDA, A. B. P. F. Co-infecção entre leishmaniose visceral e ehrlichiose monocítica em cães de Cuiabá, Mato Grosso. **Acta Scientiae Veterinariae**, v.36, p.113-117, 2008.

SOUZA, S. L. P.; GENNARI, S. M.; YAI, L. E. O.; D'AURIA, S. R. N.; CARDOSO, S. M. S.; GUIMARÃES JUNIOR, J. S.; DUBEY, J. P. Occurrence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera from dogs of the urban and rural areas from Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.12, n.1, p.1-3, 2003.