

TÂNIA ELISA DOS SANTOS SILVA

**ESTUDO DA PREVALÊNCIA E DO IMPACTO DA
TRICOMONOSE EM AVES SILVESTRES**

Orientadora: Professora Doutora Margarida Alves

**UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E
TECNOLOGIAS**

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

LISBOA

2017

TÂNIA ELISA DOS SANTOS SILVA

**ESTUDO DA PREVALÊNCIA E DO IMPACTO DA
TRICOMONOSE EM AVES SILVESTRES**

Dissertação defendida em provas públicas para
obtenção do grau de mestrado em Medicina
Veterinária conferido pela Universidade Lusófona
de Humanidades e Tecnologias, no dia 10 Março de
2017, com o Despacho Reitoral nº 75/2017, com a
seguinte composição de júri:

Presidente: Professora Doutora Laurentina Pedroso

Arguente: Professora Doutora Ana Maria Muñoz

Orientadora: Professora Doutora Margarida Alves

**UNIVERSIDADE LUSÓFONA DE HUMANIDADES E
TECNOLOGIAS**

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

LISBOA

2017

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria de expressar um especial agradecimento ao Dr. Filipe Martinho e à Professora Doutora Margarida Alves, pela orientação, permanente apoio, simpatia e disponibilidade dispensados ao longo de todo o trabalho, assim como os conceitos e rigor científicos transmitidos para a elaboração desta dissertação.

À Dra. Erica Brázio e ao Dr. Pedro Melo, bem como a toda a equipa integrante do Centro de Recuperação de Aves Silvestres (LxCRAS), quero manifestar o meu agradecimento pelo fato de me terem proporcionado as condições para a realização deste trabalho.

Um obrigado aos meus colegas de curso pela atenção e troca de opiniões dispensadas.

À minha melhor amiga, Margarida Ferrador, agradeço todo o carinho, ombro amigo, apoio e ajuda incondicional, sem a qual nada teria sido possível.

Aos meus familiares agradeço todo o apoio moral e interesse com que acompanharam a realização deste trabalho, em especial aos meus pais por todo o carinho, paciência e dedicação dados nestes meses de intenso trabalho.

Este trabalho dedico-o com todo o amor à minha filha, Mariana.

Resumo

A tricomonose aviária é uma doença que afeta, sobretudo, o trato digestivo superior das aves, sendo causada por um protozoário flagelado denominado *Trichomonas gallinae*. Os principais hospedeiros naturais deste agente são os Columbiformes, sendo a infecção, frequentemente, assintomática.

Com o presente estudo pretendeu-se obter informações acerca da prevalência da infecção por *T. gallinae* e consequentes efeitos patogénicos em aves silvestres.

Para tal, foram definidos os seguintes objetivos específicos: (1) deteção e caracterização de *Trichomonas gallinae* em aves silvestres e (2) avaliação do impacto da infecção sobre a saúde das aves infetadas.

A população em estudo consistiu em animais que ingressaram no Centro de Recuperação de Aves Silvestres de Lisboa (LxCRAS), principalmente aves noturnas não provenientes de cativeiro. A metodologia utilizada para a elaboração deste trabalho foi a recolha de amostras fecais, de forma a realizar um exame direto ao microscópio para a pesquisa de protozoários móveis, e posterior cultivo, em laboratório, no meio de cultura Diamond modificado.

Todas as amostras foram negativas quanto à presença do agente, tanto no exame direto ao microscópio, como na cultura em meio Diamond. A dieta variada das espécies analisadas pode colocar-se como um fator que justifique a ausência de resultados positivos quanto à presença do agente. Pode, ainda, ter acontecido que o número de parasitas presentes nas amostras fosse muito reduzido e inferior ao limite de deteção das técnicas de diagnóstico utilizadas.

O estudo da tricomonose é importante visto que é causada por um agente com um amplo espectro de patogenicidade, que pode ir desde assintomático a altamente virulento. É, também, um importante diagnóstico diferencial para doenças que têm a mesma apresentação clínica mas que nem sempre são desencadeadas por este agente.

Palavras-chave: *Trichomonas*; Protozoário; Parasita; Tricomonose Aviária; Aves

Abstract

Avian trichomoniasis affects primarily the upper digestive tract of birds and it is caused by a flagellated protozoan parasite named *Trichomonas gallinae*. The main natural hosts of this agent are the Columbiformes, where the infection is often asymptomatic.

This study aimed to obtain information about the prevalence of *T. gallinae* infection and consequent pathological effects in wild birds.

For that, the proposed specific goals were: (1) detection and characterization of *Trichomonas gallinae* in wild birds and (2) evaluation of the impact of infection in infected birds health.

The population studied were animals attended in the Center for Recovery of Wild Birds in Lisbon, (LxCRAS), especially nocturnal birds that did not come from captivity. The methodology used was the collection of fecal samples, to perform a direct microscopic examination for the detection of mobile protozoa, and further culture in the laboratory using the modified Diamond medium.

All samples were negative for the presence of the agent, both in microscopic direct examination and in culture on modified Diamond medium. The diverse diet of the studied species can be a factor justifying the absence of positive results. Also, it is not possible to exclude the hypothesis that the number of parasites present in samples could be very low or lower than the detection limit of the diagnostic techniques.

The study of trichomoniasis is important since it is caused by an agent with a broad spectrum of patogenecity, which can range from asymptomatic to highly virulent. It is also an important differential diagnostic of other diseases that have the same clinical presentation but that are not always triggered by this agent.

Key-words: *Trichomonas*; Protozoan; Parasite; Avian Trichomonosis; Birds

Abreviaturas, Siglas e Símbolos

% -	Porcentagem
µm -	Micrómetro
AG -	Estirpe Amherst
EUA -	Estados Unidos da América
g/L -	Grama por litro
IgA -	Imunoglobulina A
JB -	Estirpe de Jones Barn
LxCRAS -	Centro de Recuperação de Aves Silvestres de Lisboa
mg -	Miligramma
mg/L -	Miligramma por litro
Neg -	Negativo
PCR -	Reação em Cadeia da Polimerase, do inglês “Polymerase Chain Reaction”
RNA -	Ácido Ribonucleico, do inglês “Ribonucleic acid”
SG -	Estirpe Stabler-gallinae
U.I. -	Unidade Internacional
V.F.Xira -	Vila Franca de Xira

Índice

1. INTRODUÇÃO.....	8
1.1 HISTÓRIA.....	8
.....	9
1.2 CLASSIFICAÇÃO	9
1.3 MORFOLOGIA.....	10
1.4 DISTRIBUIÇÃO	12
1.5 EPIDEMIOLOGIA.....	13
1.6 TRANSMISSÃO E CICLO DE VIDA	16
1.7 DESENVOLVIMENTO E ORIGEM DA DOENÇA E MANIFESTAÇÕES	18
1.8 SINAIS CLÍNICOS	20
1.9 DIAGNÓSTICO.....	21
1.10 IMUNIDADE	23
1.11 IMPACTO NA SAÚDE DOS ANIMAIS DOMÉSTICOS	24
1.12 IMPACTO NA POPULAÇÃO SILVESTRE.....	24
1.13 TRATAMENTO.....	25
1.14 PREVENÇÃO E CONTROLO	27
1.15 OBJETIVOS DO ESTUDO	28
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	29
2.1 POPULAÇÃO EM ESTUDO	29
2.2 RECOLHA DE AMOSTRAS E DETEÇÃO DE <i>TRICHOMONAS GALLINAE</i>	30
3. RESULTADOS	31
4. DISCUSSÃO	34
5. CONCLUSÃO	37
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	38

Índice de Figuras

Figura 1 - Esquema da classificação taxonómica de <i>Trichomonas gallinae</i>	9
Figura 2 - Esfregaço bucal de um pombo naturalmente infetado por <i>Trichomonas gallinae</i> corado com Giemsa (x1000) (Abd El-Rahman, <i>et al.</i> , 2008).....	10
Figura 3 - Esquema da morfologia de <i>Trichomonas gallinae</i> (adaptado de Miller-Keane 2003).....	10
Figura 4 – Fotografias de microscopia eletrónica de uma estirpe de <i>Trichomonas gallinae</i> obtidas de um Pombo-das-rochas (<i>Columba livia</i>), cultivados axenicamente “ <i>in vitro</i> ” (Adaptado de Forrester & Foster, 2009).....	11
Figura 5 - Distribuição geográfica de <i>Trichomonas gallinae</i> (Forrester & Foster, 2009).....	12
Figura 6 - Frequência de tricomonose em aves silvestres (Adaptado de Forrester & Foster, 2009).....	16
Figura 7 - Esquema ilustrativo das vias de transmissão da tricomonose (Adaptado de Forrester & Foster, 2009).....	17
Figura 8 - Ave com formação de lesões caseosas na cavidade oral (The Merck Veterinary Manual, 2014).....	20
Figura 9 – Distribuição das aves estudadas.....	31
Figura 10 - Proveniência dos animais estudados por Distrito.....	32

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Exemplos de surtos ocorridos em aves durante o período de 1949 a 1991, devido a <i>Trichomonas gallinae</i> (Adaptado de Forrester & Foster, 2009).....	15
Tabela 2 - Números totais de cada espécie estudadas	31
Tabela 3 - Identificação das aves estudadas.	33
Tabela 4 - Resultados do exame direto e da cultura das aves em estudo	33

1. INTRODUÇÃO

A Tricomonose é uma doença causada pelo protozoário flagelado *Trichomonas gallinae* (Forrester & Foster, 2009).

É uma patologia que afeta, primariamente, o trato digestivo superior e respiratório de Columbiformes, Falconiformes, Psitaciformes e, ocasionalmente, outras Ordens de Aves, nomeadamente Passeriformes e Galiformes. Os efeitos causados pelo parasita variam de formas subclínicas a estados de doença significativos que, por sua vez, podem resultar em necrose multiorgânica grave, caseificação, invasão dos tecidos vizinhos e morte (Forrester & Foster, 2009). Embora muitos casos desta doença se relacionem com aves individuais ou ocupantes de ninhos, são conhecidas epizootias de proporções consideráveis, especialmente entre Columbiformes (Forrester & Foster, 2009).

A Tricomonose é, também, conhecida como *Canker* ou *Roup* em Columbiformes, Psitaciformes e outras aves e *Frounce* em aves de rapina (Rupley, 1997; Cooper, 2002).

1.1 História

A tricomonose é, provavelmente, a doença de vida selvagem mais antiga que se encontra documentada (Forrester & Foster, 2009).

Alguns anos antes da causa da doença ser descoberta, existiam descrições de lesões em aves de rapina utilizadas em falcoaria. Um desses exemplos é um livro, que se pensa ter sido escrito por volta de 1500, que contém uma descrição detalhada da doença que hoje conhecemos como tricomonose (Forrester & Foster, 2009).

No entanto, o agente etiológico só foi descoberto em 1878, cerca de 300 anos após a edição do livro, por Rivolta (Forrester & Foster, 2009).

Rivolta descreveu o organismo retirado do trato digestivo superior e do fígado, de um Pombo-das-rochas (*Columba livia*). Aos agentes retirados do trato digestivo superior e do fígado chamou, respetivamente, *Cercomonas gallinae* e *Cercomonas hepaticum*. Mais tarde, após estudos sobre a classificação do parasita, ambas as espécies de *Cercomonas* foram reconhecidas como *Trichomonas gallinae* (Forrester & Foster, 2009).

Nos 100 anos que se seguiram à descoberta de Rivolta surgiram inúmeros trabalhos acerca da nomenclatura, morfologia, hospedeiros e distribuição geográfica do parasita. Outros

autores conduziram, ainda, investigações sobre meios de cultura e necessidades nutricionais do parasita. Estes estudos serviram de base para outros sobre métodos de diagnóstico, tratamento, patogenicidade e imunidade (Forrester & Foster, 2009).

1.2 Classificação

O parasita, *Trochomonas gallinae*, é um organismo eucariota, pertencente ao Reino Protista, Filo Protozoa, Sub-filo Sarcomastigophora, Classe Mastigophora, Ordem Trichomonadida, Família Trichomonadidae, Género *Trichomonas* e Espécie *T. gallinae* (Figura 1) (Urquhart *et al.*, 1996; Gaspar da Silva *et al.*, 2007).

Nos protozoários, tal como acontece na maioria dos organismos, a informação genética é armazenada num compartimento celular bem individualizado, o núcleo sendo por isso, classificados como eucariotas (Urquhart *et al.*, 1996).

A classificação do Filo Protozoa é bastante complexa e assenta essencialmente nas diferenças básicas na estrutura e ciclo evolutivo dos principais sub-filos (Urquhart *et al.*, 1996).

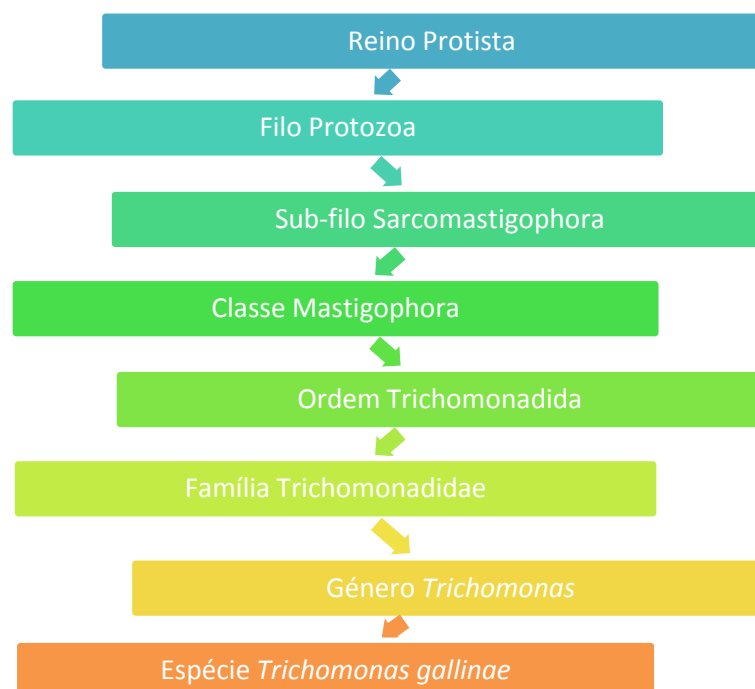


Figura 1 - Esquema da classificação taxonómica de *Trichomonas gallinae*.

1.3 Morfologia

Os protozoários, bem como as outras células eucariotas, são constituídos por uma variedade de estruturas celulares, sub-celulares e organelos com características organizacionais complexas e funções importantes e específicas para a homeostase do organismo, sendo os principais o núcleo, o retículo endoplasmático, o complexo de Golgi, as mitocôndrias e os lisossomas (Urquhart *et al.*, 1996).

O gênero *Trichomonas spp.* é um protozoário com forma de pêra ou redonda, com cerca de 12,5 a 10 μm de comprimento (Figura 2). Possui um axóstilo, um bastão com estrutura hialina com função de suporte, quatro flagelos anteriores ou livres e uma membrana ondulatória que se prolonga num flagelo posterior (Figura 3). Estes flagelos servem, principalmente, para a locomoção do protozoário (Urquhart *et. al.*, 1996; Forrester & Foster, 2009).

A reprodução destes parasitas é assexuada e acontece por fissão binária.

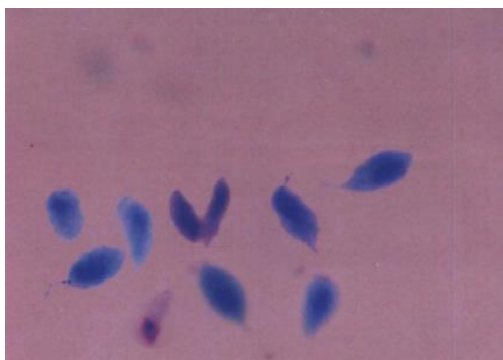


Figura 2 - Esfregaço bucal de um pombo naturalmente infetado por *Trichomonas gallinae* corado com Giemsa (x1000) (Abd El-Rahman, *et al.*, 2008).

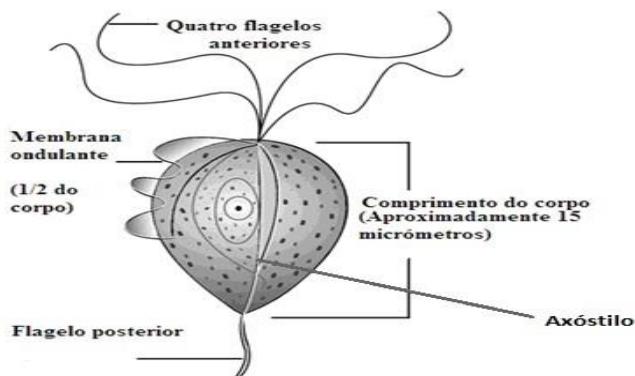


Figura 3 - Esquema da morfologia de *Trichomonas gallinae* (adaptado de Miller-Keane 2003).

Na última década, foi descrito que este parasita tem estádios de pseudoquisto (Figura 4), adquirindo formas esféricas que interiorizam os flagelos (Forrester & Foster, 2009). No entanto, não possuem uma verdadeira parede de quisto, mas comportam-se como formas resistentes sob condições de *stress* ambiental, como a desidratação que, em condições extremas de calor, pode levar o parasita a reverter à forma de trofozoíto (Forrester & Foster, 2009). O seu papel na epidemiologia da tricomonose ainda não se encontra esclarecido, mas sabe-se que pseudoquistos de espécies relacionadas, como *Tritrichomonas foetus*, de um bovino, foram encontrados aderentes às células epiteliais vaginais, numa proporção mais elevada que a forma de trofozoíto, sugerindo um papel na infeção das células do hospedeiro final (Forrester & Foster, 2009).

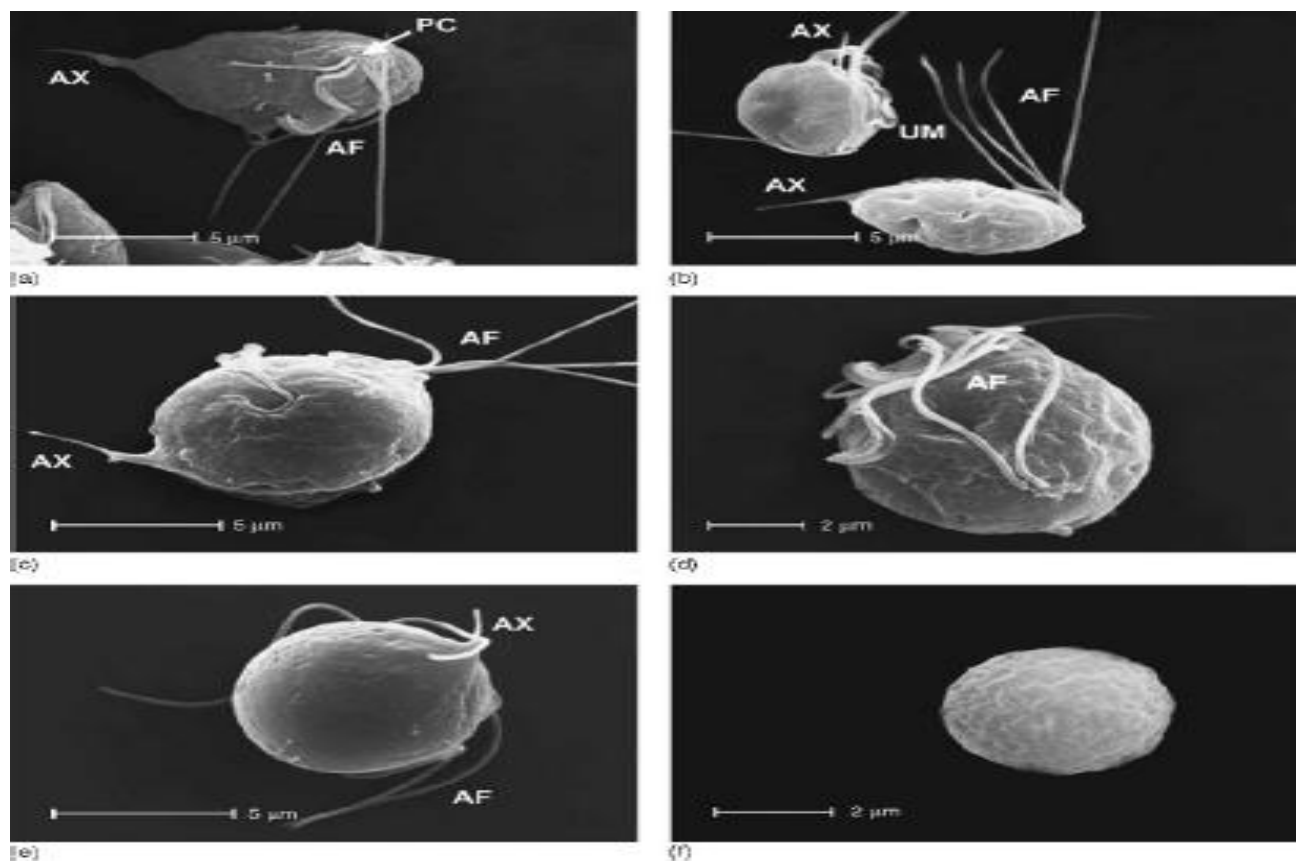


Figura 4 – Fotografias de microscopia eletrónica de trofozoítos (a-c) e formação de pseudoquistos (d-f), de uma estirpe de *Trichomonas gallinae* obtidas de um Pombo-das-rochas (*Columba livia*), cultivados axenicamente “*in vitro*”. É de notar a invaginação do flagelo e o desaparecimento da membrana ondulante nos organismos (d) e (e), respetivamente. A imagem (f) representa um pseudoquisto. AF: flagelo anterior; UM:

membrana ondulante; AX: axóstilo; PC: canal periflagelar (Adaptado de Forrester & Foster, 2009).

1.4 Distribuição

A tricomonose aviária tem distribuição cosmopolita, tendo sido descrita em vários Países, exceto na Antártica e Gronelândia. Sabe-se que ocorre em animais de cativeiro, bem como em animais silvestres, e que a sua distribuição está intimamente relacionada com a do Pombo-das-Rochas (*Columba livia*), um dos hospedeiros mais importantes (Cole, R.A, 1999; Forrester & Foster, 2009; Bunbury *et al.*, 2007).

A infecção pode ocorrer em qualquer altura do ano, mas a maioria dos surtos são descritos no fim da Primavera, durante o Verão e Outono (Cole, R.A, 1999; Bunbury *et al.*, 2007).

Acredita-se que este agente terá sido introduzido nos Estados Unidos da América (EUA) num carregamento de aves proveniente da Europa, no início do ano de 1600 (Saggese, 2007).

A Figura 5 ilustra os surtos de tricomonose descritos até à data, por todo o mundo.



Figura 5 - Distribuição geográfica de *Trichomonas gallinae*. Os pontos indicam áreas onde foram descritas infecções, tanto em aves de cativeiro como aves de vida livre (Forrester & Foster, 2009).

1.5 Epidemiologia

A tricomonose é bastante comum nos Columbiformes e em aves de rapina, sobretudo nos Falconídeos e outras aves ornitófas (Sansano *et al.*, 2007). Pensa-se que o reservatório seja o pombo-das-rochas (*Columba livia*); contudo, para além desta espécie, sabe-se que ocorre em 18 outras espécies de Columbiformes, 26 de Falconiformes e nove de Stringiformes (Bunbury *et al.*, 2007). Outros hospedeiros possíveis incluem Psitaciformes, Passeriformes, Galiformes, Gruiformes e Anseriformes (Forrester & Foster, 2009; Sansano *et al.*, 2005).

Entre 1950 e 1960 foi deliberadamente introduzida na Península Ibérica a mixomatose, doença viral que afeta exclusivamente lagomorfos (coelhos), a fim de controlar a população de lagomorfos então existente, considerada praga. Os coelhos constituíam uma presa natural para estas aves nomeadamente para a Águia-de-bonelli (*Hieraaetus fasciatus*) (Saggesse, 2007). Com o seu desaparecimento, estas aves foram obrigadas a reestruturar a sua alimentação para recursos abundantes mas poucos utilizados, os pombos domésticos, *Columba livia domestica* (Saggesse, 2007). Uma das medidas implementadas como parte integrante do plano de recuperação da Águia-de-bonelli consistiu na recuperação de pombais tradicionais na área de distribuição desta ave de rapina, aumentando a população de pombos.

A tricomonose em pombos domésticos evolui de forma subclínica. As condições de higiene das instalações não são determinantes para que ocorra a doença, considerando que o mais importante é o estado imunitário do hospedeiro nomeadamente o contato anterior com o parasita (Acosta *et al.*, 2009).

As aves portadoras do parasita disseminam-no nos comedouros e bebedouros de forma direta (Jordan, 1996), permitindo que o mesmo se mantenha a circular nos pombais, de forma subclínica, sugerindo que a incidência da tricomonose subclínica em pombos seja elevada. Acosta e colaboradores (2009) realizaram um estudo em Cuba, sobre a incidência de *Trichomonas gallinae* em pombos domésticos tendo observado que dos 107 animais que apresentavam sinais clínicos, 91 (85,04%) resultaram positivos a *Trichomonas gallinae*, o mesmo acontecendo com 180 de 268 (67,16%) das aves assintomáticas estudadas. Estes resultados diferem dos de outros autores que revelam uma incidência mais baixa, conforme a seguir descrito. Em Espanha, Sánchez e Sansano (2006) estudaram a prevalência de *T. gallinae* numa população de Pombos-das-rochas (*Columba livia*) silvestres, tendo concluído que 36% (166/457) das aves assintomáticas estavam parasitadas.

Considerando que os Columbiformes são um reservatório do parasita, este afeta, principalmente, aves jovens e pode ser fatal nos quatro a 18 dias após a infecção (Cole, 1999). A reestruturação da cadeia alimentar levou a um aumento da exposição por este protozoário em aves jovens alimentadas com pombos infetados e, também, a um maior fracasso reprodutivo em algumas populações de aves, nomeadamente, Águias-de-bonelli (*Hieraaetus fasciatus*) (Forrester & Foster, 2009; Saggese, 2007; Sansano *et al.*, 2007).

Na Flórida (EUA), durante a primavera do ano de 2001 ocorreu um surto envolvendo, pelo menos, mil Rolas-turcas (*Streptopelia decaocto*) (Forrester & Foster, 2009). Na necrópsia, foram encontradas lesões típicas de tricomonose, principalmente no fígado, embora algumas aves exibissem sinais de “Canker” na cavidade oral, esófago e papo. Este surto tornou-se complicado devido à presença de infeções concomitantes com Paramyxovírus, que dificultou a interpretação da causa de morte. No decorrer do mesmo ano, e no que se seguiu, no sudoeste de Espanha (Höfle *et al.*, 2004) e sul de Inglaterra (Forrester & Foster, 2009) foram descritos casos de tricomonose que resultaram na morte de cerca de 2600 pombos.

Na Tabela 1, são apresentados alguns exemplos de surtos por *Trichomonas gallinae* ocorridos nos EUA.

Outro estudo, elaborado no Canadá, em 2007, teve como objetivo relacionar surtos de morte em Fringílídeos (*Carpodacus purpureus* e *Carduelis tristis*) com uma possível infecção por *T. gallinae*. O diagnóstico de tricomonose foi feito através de necrópsias e confirmado por PCR, tendo mostrado que os animais que haviam morrido se alimentavam de um comedouro comum e todos foram diagnosticados com tricomonose. Esta é a primeira identificação de tricomonose em Fringílídeos no Canadá, indicando que neste País a tricomonose é uma doença emergente (Forzán *et al.*, 2010).

Na Alemanha, Krone e colaboradores (2005), realizaram um estudo para determinar a prevalência de *Trichomonas gallinae* em Açores (*Accipiter gentilis*). Estas aves colonizaram áreas urbanas e suburbanas de Berlim, na Alemanha, bem como outras cidades Europeias, em particular em Riga, na Letónia e Breslávia, na Polónia. Pensa-se que esta colonização tenha sido devida ao aumento de presas, especialmente o Pombo-das-Rochas (*Columba livia f. domestica*) e à sua adaptação às atividades humanas. Os autores analisaram pombos recém-nascidos, na área de Berlim, no período de 1999 a 2001, tendo obtido uma percentagem de positivos para este parasita de 65,1%. Este resultado confirma a elevada exposição dos Açores

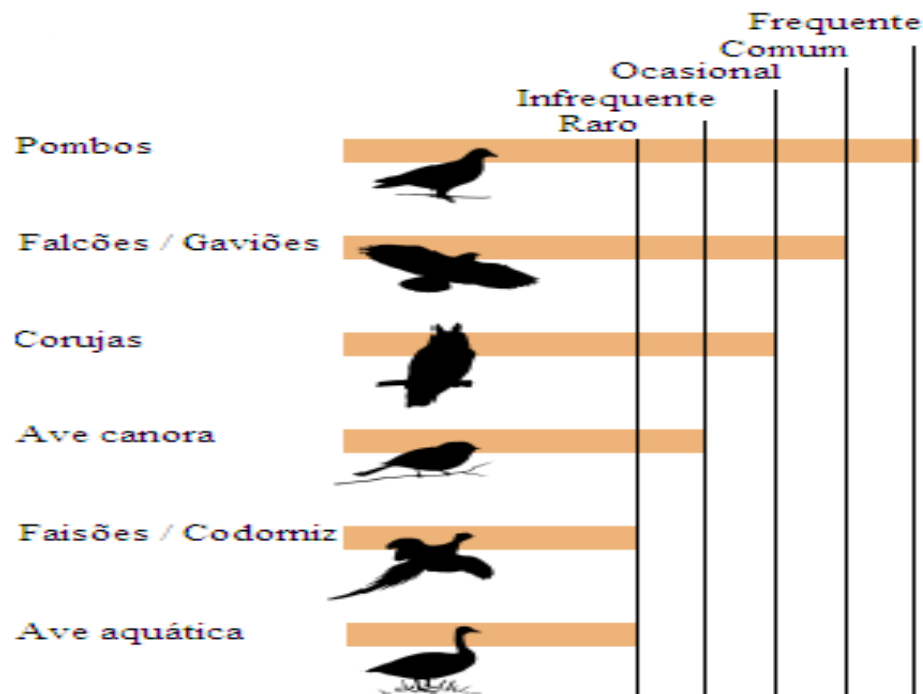
a *Trichomonas gallinae* não apresentando contudo quaisquer sinais clínicos (Krone *et al.*, 2005).

Tabela 1 - Surtos ocorridos em aves durante o período de 1949 a 1991, devido a *Trichomonas gallinae* (Adaptado de Forrester & Foster, 2009).

Período temporal	Magnitude	Área Geográfica	Comentários
1949-1951	Dezenas de milhares de Rolas-Carpideiras (<i>Zenaida macroura</i>)	Sudeste dos EUA	Ocorrência de um surto de tricomonose praticamente em todos os Estados da região; a magnitude das mortes focou a atenção para a devastação que este parasita pode causar e estimulou a investigação sobre a ecologia desta doença.
1950-1951	De 25.000 a 50.000 Rolas-carpideiras (<i>Zenaida macroura</i>) por ano	Alabama	As aves reprodutoras foram suspeitas como o foco da infecção; pensa-se que a mortalidade tenha sido subestimada.
1972	Algumas centenas de Rolas-carpideiras (<i>Zenaida macroura</i>)	Nebraska	Os pátios ferroviários e os elevadores de grãos foram pontos focais de infecção; as aves alimentavam-se de grãos derramados.
1985	Aproximadamente 800 Rolas-carpideiras (<i>Zenaida macroura</i>)	Novo México	As perdas mais significativas ocorreram em locais comuns de alimentação, nos comedouros, perto da Cidade de Las Cruces.
1988	Pelo menos 16.000 Pombas-de-coleira-branca (<i>Patagioenas fasciata</i>)	Califórnia	A primeira grande epizootia de tricomonose nesta espécie.
1991	Aproximadamente 800 Rolas-carpideiras (<i>Zenaida macroura</i>)	Carolina do Norte	—

Vários autores sugeriram que a tricomonose teve um papel importante na extinção do Pombo-passageiro (*Ectopistes migratorius*) (Forrester & Foster, 2009). Não existem dados definitivos que suportem esta ideia, mas os Pombos-das-rochas foram introduzidos na América do Norte pelos primeiros Colonizadores e poderiam vir infetados com estirpes virulentas de *T. gallinae*. Estes Pombos-das-rochas podem assim ter sido a origem das infecções nas espécies nativas de Pombos-passageiro (Forrester & Foster, 2009).

Em cada ano, tem vindo a observar-se um aumento do número de animais parasitados, abrangendo Columbiformes, Aves de Rapina, Fringílídeos, entre outros (Figura 6) (Sansano *et al.*, 2007). Estes dados tornam-se bastante preocupantes na medida em que serão necessárias mais



investigações para se concluir se o parasita está a adaptar-se a outras espécies ou se, neste momento, existem estirpes, não identificadas, específicas de hospedeiro.

Figura 6 - Frequência de tricomonose em aves silvestres (Adaptado de Forrester & Foster, 2009).

1.6 Transmissão e Ciclo de Vida

O ciclo de vida do parasita é direto (Cooper, 2002), sendo o organismo transmitido de um hospedeiro para outro (Forrester & Foster, 2009) sem o envolvimento de hospedeiros intermediários ou paraténicos (Cole, 1999).

A transmissão ocorre de diversas formas, principalmente de forma direta entre Columbiformes, por contato direto entre indivíduos, entre adultos e crias durante a alimentação, sobretudo por regurgitação (leite de pombo), através dos comportamentos de corte, por contato direto entre animais infetados e sãos durante a alimentação, por ingestão de água contaminada e através de fómites como por exemplo instrumentos utilizados para a

alimentação e abeberamento ou mesmo pela ingestão de aves mortas infetadas, no caso de aves ornitófagas (Figura 7) (Forrester & Foster, 2009; Cole, 1999; Cooper, 2002).

Outra forma de transmissão da doença é o contato direto entre aves através dos alimentos regurgitados, comportamento observado, quer na alimentação das crias, particularmente importante considerando a sua frágil imunidade e suscetibilidade a infeções, quer na corte de algumas espécies. No caso dos Columbiformes, a alimentação das crias é feita através do “leite de pombo” (composto sobretudo por células descamadas da parede do papo que tem como função nutrir os borrachos durante os primeiros 10-14 dias de idade), sendo uma possível explicação para a tricomonose ser tão comum em algumas espécies desta Ordem de aves.

O surgimento, a extensão e a gravidade da doença dependem, não só da estirpe do parasita mas, também, da idade e do sistema imunitário do indivíduo, ou seja, animais imunocomprometidos são mais suscetíveis a desenvolver a doença (Forrester & Foster, 2009).

O período de incubação é de quatro a 14 dias e o parasita consegue sobreviver, pelo menos, cinco dias em alimentos, normalmente em grãos e carcaças de aves mortas, entre 20 minutos a várias horas na água, sendo extremamente sensível ao calor e à desidratação (Cole, 1999).

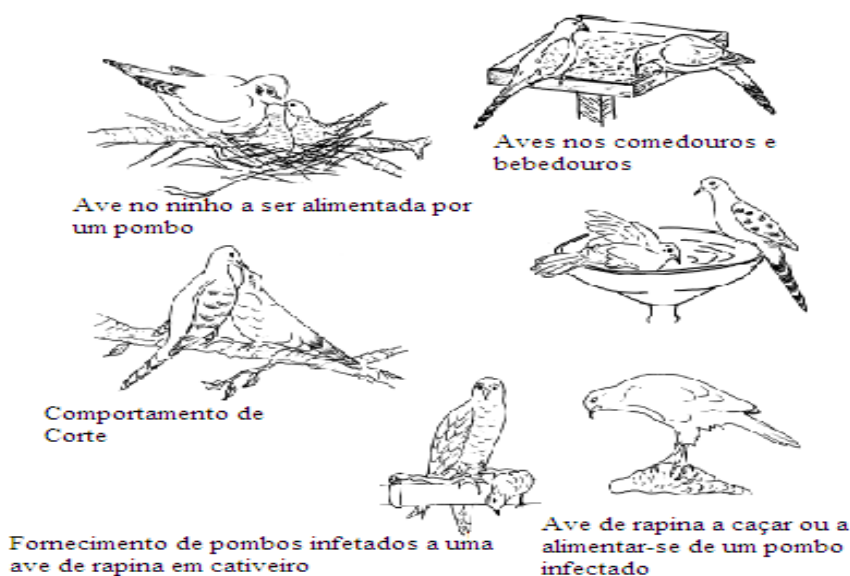


Figura 7 - Esquema ilustrativo das vias de transmissão da tricomonose (Adaptado de Forrester & Foster, 2009).

Foi demonstrado experimentalmente que basta a transferência de um único parasita para causar doença. Este procedimento foi provado por Stabler e Kihara em 1954, que procederam à infecção de cinco pombos-das-rochas, com a estirpe Jones' Barn (JB), provocando nestes indivíduos lesões e sinais típicos de tricomonose levando à morte nos oito a 14 dias após a infecção (Forrester & Foster, 2009).

Os Columbiformes são, frequentemente, assintomáticos quando infetados (Forrester & Foster, 2009). Alguns desenvolvem imunidade à doença e aos efeitos nefastos causados por estirpes virulentas devido a uma infecção prévia com estirpes avirulentas funcionando, assim, como portadores do agente. Estes indivíduos podem ter infecções secundárias concomitantes, com estirpes virulentas ou avirulentas, propagando-as a outros indivíduos (Forrester & Foster, 2009).

1.7 Desenvolvimento e origem da doença e manifestações

As infecções causadas por algumas estirpes de *Trichomonas gallinae* podem ocorrer sem haver manifestação da doença, em contraste com outras que variam de levemente patogénicas a muito patogénicas (Forrester & Foster, 2009). Esta variação nos tipos de patogenicidade, pensa-se estar relacionada com uma maior diversidade antigénica em estirpes avirulentas que podem estimular uma resposta imunitária mais intensa por parte do hospedeiro definitivo (Forrester & Foster, 2009).

As estirpes virulentas mais conhecidas são as estirpes de Jones' Barn e Eiberg ou IBERG. Alguns exemplos de estirpes avirulentas ou apatogénicas são a estirpe de Amherst e Stabler-gallinae (Forrester & Foster, 2009).

A estirpe de Jones' Barn tem a capacidade de matar pombos não imunes, apenas oito dias após a infecção. A patogenicidade da estirpe de JB diminui se cultivada em meios de cultura sintéticos, sendo restabelecida quando a estirpe é inoculada em pombos não imunes (Forrester & Foster, 2009).

As estirpes com menor capacidade patogénica, são as que não provocam manifestação clínica da doença, ou seja, o indivíduo não apresenta sinais clínicos, mas é portador; as estirpes muito patogénicas, são as que produzem lesões do tipo caseosas e/ou fibronecróticas na orofaringe, esófago e papo, podendo invadir locais não usuais como o crânio, ossos nasais, entre outros (Cole, 1999). Infecções com estirpes menos patogénicas resultam em hipersialia e alguma inflamação da cavidade oral e garganta, contrastando com as

infecções provocadas por estirpes mais virulentas. Algumas estirpes extremamente virulentas causam lesões apenas no crânio, pescoço e papo, mas outras são capazes de invadir órgãos internos como o fígado, pulmões e sacos aéreos, pericárdio e pâncreas através da circulação sanguínea (Forrester & Foster, 2009).

Em casos graves, a morte pode resultar tão cedo quanto quatro dias após a infecção. A progressão da doença foi descrita da seguinte forma: As lesões, inicialmente, podem ser pequenas e ruborizadas (*flush*), podendo desenvolver mais tarde projeções no seu centro que coalescem formando massas grandes e caseosas na cavidade oral e/ou na região faríngea (Forrester & Foster, 2009). Estas massas podem bloquear completamente a passagem de alimento levando a uma emaciação do indivíduo e morte por inanição. No entanto, a morte pode ocorrer também como resultado de uma falência respiratória, caso a lesão esteja a bloquear a traqueia ou por disfunção hepática se os organismos invadirem o fígado (Forrester & Foster, 2009).

Os pulmões e outros órgãos podem ser afetados se a infecção for devida a uma estirpe altamente virulenta. Os fatores inerentes ao hospedeiro (espécie, idade, estado imunitário), ao invés das características do agente etiológico, podem ser mais determinantes para determinar que órgãos são afetados com a doença. Por exemplo, a estirpe JB de *Trichomonas gallinae*, altamente patogénica, invade o fígado dos pombos-das-rochas (*Columba livia*); por sua vez a mesma estirpe, quando infeta outras espécies como a Rola-carpideira (*Zenaida macroura*) invade preferencialmente os pulmões (Forrester & Foster, 2009).

Foram estudadas as alterações histopatológicas associadas a infecções por estirpes altamente virulentas de *Trichomonas gallinae*, estirpes JB e a Eiberg, em Pombos-das-rochas, tendo sido concluído que o tempo requerido para que os parasitas atingissem o fígado e causassem morte seria entre três a dez dias após infecção, para a estirpe JB e entre sete a 17 dias após infecção para a estirpe Eiberg (Forrester & Foster, 2009). Durante o estudo, algumas aves morreram entre o quinto e o décimo dia após a infecção. A resposta patológica dos Pombos-das-rochas, infetados com a estirpe JB, foi descrita como uma inflamação purulenta. Mais tarde, concluiu-se que estes indivíduos morreram devido a uma destruição hepática massiva (Forrester & Foster, 2009).

Não existem estudos experimentais comparativos da patogénese da tricomonose em Falconiformes, Psitaciformes e outras aves, porém sabe-se que as áreas afetadas incluem a cavidade oral e nasal, esófago, papo e por vezes, tecidos moles, crânio e vários órgãos internos como o coração (Forrester & Foster, 2009). Na Arábia Saudita foi descrita a

existência de estomatite devido a *Pseudomonas aeruginosa*, como uma seqüela de tricomonose em Falcões Sacre (*Falco Cherrug*) de cativeiro (Samour, 2000; Forrester & Foster, 2009). Em Psitacíformes de cativeiro, a doença foi descrita como afetando a cavidade oral, papo, esôfago, faringe, interior das narinas, seios nasais e outros constituintes do trato respiratório (Forrester & Foster, 2009).

Alguns estudos demonstraram a existência de partículas virais ou vírus intracelulares em algumas estirpes de *Trichomonas vaginalis* e *Tritrichomonas foetus*. No entanto, o papel destes vírus na patogênese da doença ainda não está esclarecido, nem identificado em *Trichomonas gallinae* (Forrester & Foster, 2009).

1.8 Sinais Clínicos

Os principais sinais clínicos da doença estão relacionados com lesões orais que impedem ou impossibilitam a alimentação e, por vezes, a respiração. Devido a esta situação os indivíduos afetados podem apresentar perda de peso, indiferença a estímulos externos e, por vezes, ausência de *grooming* causando um mau estado da plumagem (Forrester & Foster, 2009).

Em situações mais agudas pode observar-se o desenvolvimento de lesões do tipo proliferativas, por vezes caseosas e/ou fibronecróticas da orofaringe e do aparelho digestivo superior das aves (Figura 8), em especial do papo e esôfago, podendo também, localizar-se ao redor do bico e olhos, conferindo à face um aspeto inchado (Cole, 1999). Por vezes, associado a estes sinais, pode ocorrer hipersíalia (Forrester & Foster, 2009).



Figura 8 - Ave com formação de lesões caseosas na cavidade oral (The Merck Veterinay Manual, 2014).

As lesões caseosas normalmente são pequenas, bem definidas, com aspeto que varia de cremoso a amarelado (Figura8) (Cole, 1999)

As aves de rapina podem demonstrar alguns dos sinais acima descritos, normalmente acompanhados de dispneia, obstrução parcial da glote e exsudação oral e nasal (Forrester & Foster, 2009). Em Psitaciformes de cativeiro, os sinais são vagos, apresentando debilidade, diarreia, vômito repetitivo e mau estado da plumagem (Cole, R.A, 1999; Forrester & Foster, 2009).

As infeções devido a estirpes menos patogénicas podem, apenas, apresentar sinais gerais como hipersialia e inflamação da mucosa (Forrester & Foster, 2009).

As lesões proliferativas caseosas ou fibronecróticas tendem a aumentar de tamanho e por vezes, dificultar ou impedir a alimentação, o abeberamento e a respiração das aves, podendo levar à morte por inanição ou asfixia/hipóxia, no caso de haver obstrução da glote (Cole, 1999; Forrester & Foster, 2009).

Os indivíduos afetados podem, no entanto, apresentar sinais inespecíficos como depressão, diarreia, anorexia, dispneia, disfagia e regurgitação resultantes da formação de placas no trato digestivo superior ou mesmo, inflamações do papo (ingluvite) (Forzán *et al.*, 2010).

Numa fase crónica da doença estas lesões podem infiltrar-se no crânio e ossos do bico, atingindo o encéfalo e eventualmente, atingir as vísceras como o fígado, baço, pâncreas, coração, pulmões e sacos aéreos, provocando necrose nesses locais (Forrester & Foster, 2009).

Alguns autores defendem que esta doença pode afetar a capacidade reprodutiva das aves, principalmente da Águia-de-Bonelli (*Hieraetus fasciatus*), tornando-se uma preocupação na conservação e manejo de algumas espécies em extinção (Hoefle *et al.*, 2000; Real *et al.*, 2000).

1.9 Diagnóstico

O diagnóstico de tricomonose baseia-se na conjugação da informação obtida na história e anamnese, durante o exame físico, por observação dos sinais clínicos e lesões, pela observação do parasita ao microscópio, pela cultura do parasita em meio específico, meio

Diamond ou ainda, por técnicas moleculares como a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR, do inglês “Polymerase Chain Reaction”).

A presença de *Trichomonas spp.* pode ser detetada através da pesquisa de protozoários flagelados móveis por observação microscópica de esfregaços do muco da cavidade oral e da área orofaríngea, utilizando zaragatoas estéreis humedecidas em soro fisiológico. Nas situações em que o número de organismos é baixo, pode ser útil inocular as amostras retiradas por esfregaço, num meio de cultura específico e examiná-las após os organismos terem tido tempo suficiente para se multiplicarem (Forrester & Foster, 2009).

Devido às suas capacidades biossintéticas específicas, as necessidades nutricionais dos protozoários ainda são pouco conhecidas em comparação com outros microorganismos. Os protozoários apresentam necessidades muito mais complexas, pois os meios devem conter várias substâncias metabólicas pré-formadas e intermediários biossintéticos. A nutrição dos protozoários é feita geralmente através de pinocitose, quando se trata de absorção de fluidos, ou através de fagocitose quando se trata de fragmentos sólidos (Urquhart *et al.*, 1996). Os indivíduos multiplicam-se rapidamente em culturas axénicas, ou seja livres de qualquer organismo, ou agnotobióticas, em vários meios, tanto líquidos como semilíquidos (Forrester & Foster, 2009).

Trichomonas gallinae cresce rapidamente numa variedade de meios líquidos e semi-sólidos. O meio mais utilizado é o meio de Diamond, podendo-se utilizar uma modificação do mesmo com adição de antibióticos e antifúngicos de modo a inibir o crescimento de contaminantes (Forrester & Foster, 2009).

A identificação definitiva do parasita é conseguida através da amplificação do seu DNA, por PCR (Forrester & Foster, 2009), limitada pelo escasso conhecimento genético do parasita. Alguns autores desenvolveram outras técnicas laboratoriais para identificação do parasita, tal como a hibridação *in-situ*, no entanto esta técnica não consegue diferenciar *Histomonas meleagridis* de *Trichomonas gallinae* e *Tetratrichomonas gallinarum* (Liebhart *et al.*, 2006; Mostegl *et al.*, 2010).

Lesões causadas por fungos (*Aspergillus sp.*, *Candida sp.*), forma diftérica da varíola aviária (Poxvírus), Herpesvírus que afetam Strigiformes, infeções por nemátodes (*Capillaria sp.*), situações de desidratação ou deficiências vitamínicas (vitamina A) podem ser semelhantes às causadas por *Trichomonas gallinae* e devem ser consideradas como diagnósticos diferenciais (Forrester & Foster, 2009).

Aves que recuperem de tricomonose muitas vezes não apresentam pregas faríngeas (localizadas na parte posterior da faringe) como resultado de um processo necrotizante ocorrido durante a infecção. A pesquisa da existência de pregas faríngeas pode ser útil para identificar casos prévios de doença, pelo menos em algumas espécies, especialmente em Columbiformes (Forrester & Foster, 2009).

1.10 Imunidade

Diversos autores estudaram os aspectos imunológicos da infecção por *Trichomonas gallinae* em Columbiformes (Forrester & Foster, 2009). Em Maryland, foram testados pombos de uma área epizootica da Carolina do Sul e de outra área onde não havia ocorrência de nenhum surto epizootico há pelo menos três anos. Neste estudo foi concluído que 85% dos pombos da área epizootica eram imunes à tricomonose, comparativamente com os da área não epizootica, onde a imunidade era de 69% (Forrester & Foster, 2009).

As aves infetadas com estirpes moderadamente virulentas e avirulentas de *T. gallinae* têm uma forte proteção contra os efeitos patológicos de uma infecção subsequente por uma estirpe virulenta (Forrester & Foster, 2009). Esta imunidade está associada tanto a componente humoral como celular. A fagocitose dos parasitas parece ser suficiente para deter a doença em infecções primárias que envolvem estirpes avirulentas ou moderadamente virulentas, mas o mesmo não se verifica quando a infecção é mediada por estirpes extremamente virulentas. O papel exato da fagocitose em aves imunes não é conhecido (Forrester & Foster, 2009). Os anticorpos podem ser mais importantes e têm demonstrado que conferem proteção. Foi demonstrado, ainda, que a imunoglobulina A (IgA), encontrada no leite de pombo é, também, transferida para a circulação sanguínea das aves jovens, provavelmente por pinocitose. Pensa-se que a IgA pode representar um papel importante na transferência da imunidade para *T. gallinae*, mas tal hipótese ainda não foi investigada (Forrester & Foster, 2009).

Estudos experimentais, que envolveram a indução da resistência à infecção subcutânea com *T. gallinae*, conduzidos em ratos de laboratório resultaram em confirmações adicionais de que ocorre proteção imunitária (Warren *et al.*, 1961). Warren e colaboradores

(1961) concluíram que ocorreu proteção imunitária total face à infecção com *Trichomonas gallinae* em 50% dos animais testados.

Stabler (1954) referiu que a imunidade diminui gradualmente após o término da infecção, mas não publicou dados para comprovar esta citação (Forrester & Foster, 2009).

Pouco foi publicado sobre a imunidade para além do que os autores supracitados investigaram e publicaram; no entanto, existem estudos sobre organismos da mesma família, tais como *Tritrichomonas foetus* em gado bovino e *Trichomonas vaginalis* em humanos, que podem oferecer novas perspectivas em relação aos aspetos imunológicos e da infecção em relação à doença em questão (Forrester & Foster, 2009).

1.11 Impacto na saúde dos animais domésticos

Não existem dados referentes a tricomonose e/ou infecções com *Trichomonas gallinae* em aves de capoeira. No entanto, ocasionalmente, são observadas tais infecções em perus e galinhas, sendo que, nos perus, são, ainda, mais raras (Forrester & Foster, 2009).

Existem, também, alguns registos de infecções em Psitaciformes mantidos como animais de cativeiro, pensando-se que possam ter sido originadas a partir de Pombos-das-rochas ou outros Columbiformes (Forrester & Foster, 2009).

1.12 Impacto na população silvestre

A tricomonose tem um efeito negativo no hospedeiro mas, tal como muitas doenças que afetam populações silvestres, o impacto a nível da população é difícil de medir (Forrester & Foster, 2009).

Estima-se que a razão pela qual a população de aves silvestres é afetada pela tricomonose seja pela concentração destes animais em comedouros/bebedouros, também frequentados pelos animais que transportam a doença, principalmente Columbiformes, especialmente a Rola-turca (*Streptopelia decaocto*). Outra explicação possível para este aumento de tricomonose é o aumento do número de Columbiformes em áreas urbanas e suburbanas, havendo, possivelmente, uma disseminação da tricomonose nesses locais.

Pombos-torcazes comuns (*Columba palumbus*) infetados com uma estirpe não patogénica de *T. gallinae* não apresentavam lesões, mas apresentavam níveis baixos de massa

corporal e reservas de gordura (Villanúa *et. al.*, 2006). Os autores concluíram que, embora não sendo fatal para estes indivíduos, estes efeitos poderiam levar a uma elevada suscetibilidade à predação ou outras doenças e, conseqüentemente, exercer um impacto negativo na população. Adicionalmente, os autores afirmaram que o aumento da suscetibilidade de indivíduos infetados à predação iria tornar-se um risco elevado de exposição das aves de rapina à infeção por *T. gallinae* (Forrester & Foster, 2009).

O efeito da tricomonose em populações de Falcões peregrinos (*Falco peregrinus*), que se alimentavam de Columbiformes, foi avaliado, tendo sido concluído que, apesar de existir evidência que alguns falcões e outras aves de rapina estavam infetados com a doença, o impacto na população era negligenciável (Forrester & Foster, 2009).

1.13 Tratamento

O tratamento de aves de vida livre é complexo. Enquanto que a mortalidade, durante um surto de tricomonose em Pombos-torcazes em Espanha (Höfle *et. al.*, 2004), cessou após a utilização de dimetridazol na alimentação, foram observados efeitos nefastos em espécies que não eram alvo de tratamento (Forrester & Foster, 2009; Villanúa *et. al.*, 2006).

O dimetridazol pode ser tóxico para as aves (Forrester & Foster, 2009), tendo este efeito sido notado pela redução no número de populações de frangos e perdiz-vermelha (*Alectoris rufa*), no estudo acima descrito (Villanúa *et. al.*, 2006). Em contraste, o carnidazol, o ronidazol e o dimetridazol foram utilizados, com sucesso limitado, no tratamento de uma subpopulação de Pombos-cor-de-rosa (*Columba mayeri*), nas ilhas Maurícias, aumentando com sucesso a sobrevivência de recém-nascidos, juvenis e adultos (Forrester & Foster, 2009). Neste programa de recuperação para os Pombos-cor-de-rosa (*Columba mayeri*), nas ilhas Maurícias, concluiu-se que a sobrevivência dos recém-nascidos aumentava, até 30 dias, quando tratados com Carnidazol (Forrester & Foster, 2009); no entanto, o tratamento não tinha o mesmo efeito na sobrevivência até aos 150 dias de vida.

O tratamento mais eficaz consiste em administrar fármacos do grupo dos nitroimidazóis, sendo que os mais utilizados são o metronidazol, o dimetridazol e o carnidazol. O metronidazol é o mais utilizado devido à sua elevada eficácia e maior margem

de segurança e ao ser administrado em doses mais baixas que os outros fármacos. Este dado é importante visto que há muitos casos de intoxicações medicamentosas.

O metronidazol é utilizado com uma concentração de 0,5%, sendo que é administrada a dose de 25mg/pombo por via subcutânea, uma vez por dia durante cinco dias; o dimetridazol é utilizado com uma concentração de 40% sendo administrado a uma dosagem de 1g/L na água de bebida durante cinco dias, seguido por 0,5g/L na água de bebida por mais dez dias. O ronidazol é administrado com a concentração de 1% na dose de 4g/L na água e bebida durante 12 dias e o carnidazol é utilizado administrando a dose de 10mg/pombo por via oral, uma única vez (Lumeij & Zwijnenberg, 1990; Forrester & Foster, 2009).

O dimetridazol tem sido utilizado com sucesso na água de bebida para tratar Pombos-das-rochas, enquanto o metronidazol e o carnidazol têm sido utilizados em aves de rapina (Forrester & Foster, 2009). No entanto, existem falhas terapêuticas devido a resistências aos nitroimidazóis documentadas em pombos, devido à utilização dos fármacos como prevenção da doença (Lumeij & Zwijnenberg, 1990).

Em casos de infecção com baixa carga parasitária, normalmente, não se recomenda tratamento, porque pensa-se que estas estirpes de baixa patogenicidade conferem alguma defesa imunitária contra a infecção por estirpes mais patogénicas.

Vários compostos sintéticos demonstraram evidência de atividade potente contra *T. gallinae*, bem como baixa toxicidade para o hospedeiro e podem ser boas alternativas aos nitroimidazóis, quando existe resistência a estes fármacos (Forrester & Foster, 2009).

O habitat das aves deve ser monitorizado, caso sejam aves de cativeiro; para além disso é importante saber o estado das aves infetadas, instituir quarentena e evitar a entrada de aves de vida livre, principalmente pombos, que se presume terem estado em contato com outros pombos.

A alimentação é um ponto bastante negligenciado no tratamento mas é um dos mais importantes. Deve-se manter uma alimentação equilibrada, visto que este pode ser um factor predisponente para o aparecimento da doença, como no caso da hipovitaminose A, ou quando as aves são alimentadas com grãos muito duros e grandes. Assim sendo, deve-se administrar uma dieta apropriada, com grãos pequenos (no caso de aves granívoras) e de elevada digestibilidade, com suplementos vitamínicos, principalmente a vitamina A. No caso de a alimentação estar impossibilitada devido à localização das placas deve-se ponderar a alimentação com sonda, bem como fluidoterapia.

É muito importante proceder-se a uma limpeza diária da boca com zaragatoas estéreis embebidas em soluções desinfetantes ou com pomadas que contenham metronidazol, para reduzir a carga parasitária local e acelerar a recuperação. No caso de obstruções graves pode ser necessário o desbridamento cirúrgico das lesões (Samour & Naldo, 2003).

É muito importante implementar boas práticas de higiene como a desinfecção dos comedouros e bebedouros, com renovação diária de comida e bebida e evitar a entrada de aves novas não rastreadas para *T. gallinae* (Lumeij & Zwijnenberg, 1990).

A fim de determinar a eficácia do tratamento, deve-se realizar, novamente, pesquisa da presença do parasita. Este passo é bastante útil para aferir se o tratamento está a ser suficiente ou não; caso não esteja a ser eficaz, pode decidir-se um aumento da dose do fármaco em questão no tratamento inicial ou mesmo prolongar a duração do tratamento.

É de realçar que a tricomonose pode não causar doença por si só mas, ao deprimir o sistema imunitário do hospedeiro, predispõe para o aparecimento de outras doenças, pelo que não é incomum haver patologias concomitantes com a tricomonose. Do mesmo modo, outras patologias podem predispor ao aparecimento da tricomonose (Forrester & Foster, 2009).

1.14 Prevenção e Controlo

A principal forma de prevenir a disseminação desta doença é eliminando as principais fontes de infeção (Forrester & Foster, 2009) o que na prática só se torna exequível em animais de cativeiro, sendo bastante mais complicado aplicar estas normas à vida silvática (Forrester & Foster, 2009).

Uma das principais formas de disseminação, como já referido anteriormente, é através dos pombos. No caso de serem pombos de cativeiro, deve-se proceder ao seu refugo, testá-los para determinar se são portadores e eventualmente, tratá-los.

É necessário que estes animais estejam separados das outras aves, de forma a diminuir a probabilidade de contaminação. É de notar que qualquer ave que esteja em recuperação da tricomonose, ou outra patologia, deve ser colocada numa enfermaria até a infeção estar completamente resolvida e a imunidade devidamente restabelecida.

Tanto as fontes de água como as de alimento são pontos críticos na disseminação desta patologia e, como tal, devem ser limpas e desinfetadas, pelo menos, duas vezes ao dia, com uma solução de água e hipoclorito de sódio a 10% (Forrester & Foster, 2009).

Como já referido anteriormente, estes métodos de prevenção são difíceis de aplicar no ambiente (Forrester & Foster, 2009), pois a alimentação das aves é difícil de controlar, as fontes de água naturais onde eles se abastecem estão, muitas vezes, contaminadas com parasitas, bactérias, fungos e também, por químicos e outras substâncias produzidas pelo Homem.

O ideal seria impedir a aproximação dos Columbiformes ao habitat natural das aves silvestres e se possível, alimentá-las com outras espécies não contaminadas, ou previamente congeladas, visto que este parasita é mesófilo e não resiste a temperaturas extremas (Forrester & Foster, 2009).

As aves gravemente infetadas, tanto de cativeiro como as selvagens, devem ser submetidas a eutanásia para evitar a disseminação da doença.

1.15 Objetivos do estudo

Perante o estado da arte acima descrito, e dada a escassez de informação sobre esta parasitose em Portugal, foram definidos os seguintes objectivos:

- Detectar a presença de infecção por *Trichomonas gallinae* em aves silvestres acolhidas no Centro de Recuperação de Aves Silvestres de Lisboa (LxCRAS).
- Avaliar os efeitos da presença do parasita no estado de saúde das aves infectadas.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 POPULAÇÃO EM ESTUDO

Os animais envolvidos no presente estudo foram obtidos no Centro de Recuperação de Animais Silvestres de Lisboa (LxCRAS), no período compreendido entre Janeiro de 2012 e Maio de 2012. De forma a minimizar o *stress* e manipulação desnecessária dos animais, as recolhas foram agendadas para o momento do exame físico, quando os animais davam entrada no centro ou quando coordenadas com outros procedimentos médicos.

Por se pretender detetar apenas infeções em aves silvestres, apenas foram recolhidas amostras de animais que tenham ingressado no LxCRAS até sete dias anteriores ao dia da recolha e análise de amostras. Foram excluídas aves que tivessem permanecido em cativeiro antes do ingresso no LxCRAS.

Para cada animal foram registados os seguintes dados: espécie, idade, sexo, presença de alterações patológicas, biometrias (peso, músculo, gordura), data e local em que o animal foi recolhido.

2.2 RECOLHA DE AMOSTRAS E DETEÇÃO DE *Trichomonas gallinae*

Após o exame de estado geral e exame detalhado da cavidade oral, para pesquisa de lesões características de *Trichomonas*, realizado por um Médico Veterinário, recolheram-se amostras de muco da orofaringe e papo com uma zaragatoa estéril humedecida em lactato de ringer estéril. A contenção do indivíduo foi feita de forma manual sem recurso a sedação/anestesia.

Com a zaragatoa preparou-se um exame a fresco entre lâmina e lamela com uma gota de lactato de ringer. A lâmina foi imediatamente observada ao microscópio óptico, com a objetiva de 40x para a pesquisa de protozoários móveis, compatíveis com *Trichomonas spp.*

A zaragatoa que continha o resto da amostra foi colocada num microtubo contendo cerca de 1ml de soro fisiológico, e imediatamente transportado até ao laboratório para cultivo.

No laboratório da Faculdade de Medicina Veterinária, da Universidade Lusófona de Humanidade e Tecnologias, inoculou-se, cada amostra obtida, num tubo de ensaio contendo 10ml do meio de cultura Diamond com adição de 40mg de Gentamicina e 10.000 U.I. de nistatina, por forma a inibir o crescimento bacteriano e fúngico. Colocou-se o meio de cultura inoculado a incubar numa estufa a uma temperatura de 37° C, durante sete dias consecutivos.

A cada 24 horas foi recolhida uma gota do meio de cultura e preparado um exame a fresco para pesquisa de *Trichomonas spp.*

Cada amostra era considerada negativa quando não eram observados protozoários móveis ao final dos sete dias.

3. RESULTADOS

No presente estudo foram analisados 23 animais pertencentes a oito espécies diferentes de aves (Tabela 2).

Ave/ Nome Comum	Espécie	Número de Aves
Bufo-real	<i>Bubo bubo</i>	1
Mocho-galego	<i>Athene noctua</i>	1
Coruja-das-torres	<i>Tyto alba</i>	5
Águia-de-asa-redonda	<i>Buteo buteo</i>	1
Coruja-do-mato	<i>Strix aluco</i>	11
Peneireiro-vulgar	<i>Falco tinnunulus</i>	2
Coruja-pequena	<i>Asio otus</i>	1
Coruja-do-nabal	<i>Asio flammeus</i>	1
Total		23

Tabela 2 - Números totais de cada espécie estudadas

A Maioria das aves em estudo era proveniente do Distrito de Lisboa 68%, principalmente, dos concelhos de Vila Franca de Xira 14%, Cascais 18% e Sintra 14%. É de realçar que também foram analisados alguns animais dos Distritos de Setúbal 27%, Santarém 8% e Évora 5% (Figuras 9 e 10).

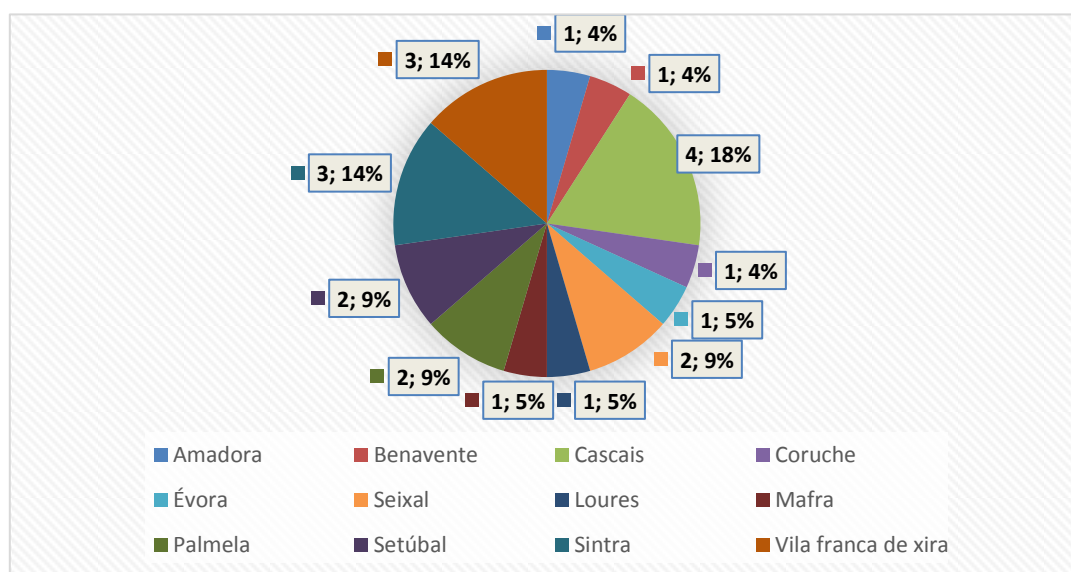


Figura 9 – Distribuição das aves estudadas.



Figura 10 - Proveniência dos animais estudados por Distrito. ● Origem dos indivíduos examinados durante o presente estudo.

Em três das aves estudadas foram identificados sinais clínicos compatíveis com infecção por *Trichomonas gallinae*, placas de cor esbranquiçada na orofaringe, um abscesso na cavidade oral e regurgitação. Na Tabela 3, encontram-se resumidos todos os dados epidemiológicos e clínicos das aves em estudo.

Tabela 3 - Identificação das aves estudadas.

	Idade	Sexo	Concelho	Lesões	Peso (g)
<i>Asio flammeus</i>	A	Ind	Amadora	a.l.	246
<i>Buteo búteo</i>	A	Ind	Belas	Placas caseosas	541
<i>Asio otus</i>	A	Ind	Benavente	a.l.	207
<i>Strix aluco</i>	A	Ind	Cascais	a.l.	387
<i>Falco tinnunulus</i>	A	F	Cascais	a.l.	174
<i>Strix aluco</i>	J	Ind	Cascais	a.l.	331
<i>Strix aluco</i>	A	Ind	Cascais	a.l.	
<i>Tyto alba</i>	A	Ind	Coruche	a.l.	232
<i>Tyto alba</i>	Ind	Ind	Évora	a.l.	314
<i>Bubo bubo</i>	A	M	Loures	a.l.	1668
<i>Strix aluco</i>	J	Ind	Maфра	a.l.	339
<i>Strix aluco</i>	J	Ind	Palmela	a.l.	351
<i>Strix aluco</i>	J	Ind	Palmela	a.l.	
<i>Strix aluco</i>	J	Ind	Palmela	a.l.	
<i>Falco tinnunulus</i>	J	Ind	Seixal	a.l.	205
<i>Tyto alba</i>	A	Ind	Seixal	Regurgitação	296
<i>Strix aluco</i>	J	Ind	Setúbal	a.l.	385
<i>Strix aluco</i>	J	Ind	Setúbal	a.l.	336
<i>Strix aluco</i>	Ind	Ind	Sintra	a.l.	436
<i>Strix aluco</i>	Ind	Ind	Sintra	Abcesso Cav. Oral	482
<i>Tyto alba</i>	A	Ind	Vila F.X.	a.l.	
<i>Athene noctua</i>	Ind	Ind	Vila Franca de Xira	a.l.	133
<i>Tyto alba</i>	A	Ind	Vila Franca de Xira	a.l.	250

A - Adulto, J - Juvenil/jovem, F - Fêmea, M - Macho, Ind - Indeterminado, a.l. - Ausência de lesões.

Após a observação direta e cultura das amostras não foi identificado a presença de *T. gallinae* em nenhuma das amostras (Tabela 4). Apenas num animal, *Buteo buteo*, foram identificados parasitas da espécie *Capillaria aurophila*.

Tabela 4 - Resultados do exame direto e da cultura das aves em estudo.

Espécies	Resultado	
	Exame direto	Cultura
Bufo-real (<i>Bubo bubo</i>), (n= 1)	Neg	Neg
Mocho-galego (<i>Athene noctua</i>), (n= 1)	Neg	Neg
Corja-das-torres (<i>Tyto alba</i>), (n= 5)	Neg	Neg
Águia-de-asa-redonda (<i>Buteo búteo</i>), n= 1)	<i>Capillaria aurophila</i>	Neg
Coruja-do-mato (<i>Strix aluco</i>), n=11)	Neg	Neg
Peneireiro-vulgar (<i>Falco tinnunculus</i>), n= 2)	Neg	Neg
Coruja-pequena (<i>Asio otus</i>), n= 1)	Neg	Neg
Coruja-do-nabal (<i>Asio flammeus</i>), n= 1)	Neg	Neg

Neg – Negativo.

4. DISCUSSÃO

Este estudo teve como principal objetivo, como já referido anteriormente, a avaliação do grau de infecção por *Trichomonas gallinae* em aves silvestres de vida livre. Foram analisadas 23 aves de vida livre, que deram entrada no LxCRAS, das quais apenas três correspondendo a 13% apresentavam sintomatologia.

Conforme apresentado na Tabela 4, todos os indivíduos, mesmo os que apresentavam sintomatologia ou lesões suspeitas, foram negativos a *Trichomonas gallinae*, tanto pelo exame direto ao microscópio como por cultura no meio Diamond.

Apenas três das aves analisadas apresentavam sinais clínicos (Tabela 3), tendo-se observando placas caseosas na orofaringe numa Águia-de-asa-redonda, um abscesso na cavidade oral numa Coruja-do-mato e história de regurgitação numa Coruja-das-torres, consistentes com tricomonose. No exame a fresco da orofaringe do Bufo-real foram detetados ovos de *Capillaria aerophila*.

Considerando as espécies estudadas, e tendo em conta que a principal fonte de infecção, em aves de rapina, é a ingestão de pombos infetados, a ausência de resultados positivos poderá ser explicada pela sua dieta, suportando a hipótese de que a alimentação preferencial não é constituída por outras aves. Nos Falconiformes a alimentação é bastante variada consoante a espécie, no caso da Águia-de-asa-redonda (*Buteo buteo*) a alimentação é constituída, preferencialmente, por ratos do campo e coelhos jovens, podendo, também, incluir aves, arganazes, répteis e anfíbios. O Peneireiro-comum (*Falco tinnunculus*) apresenta uma preferência alimentar por pequenos roedores e insetos.

As aves de rapina, geralmente, não bebem água, obtendo-a a partir das presas ingeridas. Deste modo, a transmissão de *Trichomonas* por ingestão de água contaminada não tem grande expressão neste grupo de aves.

Na Ordem Strigiformes, em Portugal, a dieta do Bufo real (*Bubo bubo*) é, maioritariamente, constituída por coelhos, no entanto, pode incluir presas muito variadas, como outros Strigiformes. A Coruja-das-torres (*Tyto alba*) alimenta-se de pequenos roedores e musaranhos. A Coruja-do-mato (*Strix aluco*) alimenta-se, preferencialmente, de pequenos roedores mas, também, de aves, répteis, anfíbios e insetos. O Mocho-galego (*Athene noctua*) tem no topo da dieta insetos e minhocas, embora esta possa ser sazonal, ingerindo mais micromamíferos no verão e outono e mais aves na primavera. A Coruja-do-nabal (*Asio flammeus*) e a Coruja-pequena (*Asio otus*) têm como base da dieta os micromamíferos, no entanto, no caso da Coruja-pequena (*A. otus*), as aves podem constituir até 50% da dieta na

época reprodutiva. A diversidade da dieta destas aves pode diminuir o risco de contaminação com tricomonas por ingestão de pombos visto que, raramente, esta ave está no topo da cadeia alimentar das espécies analisadas. Outro ponto interessante é o fato de a maior parte dos indivíduos analisados neste estudo serem aves noturnas, ou seja a caça é maioritariamente feita ao anoitecer, altura em que os pombos são menos avistados (Tapada Nacional de Mafra, 2015). Apesar dos strigiformes caçarem aves que estão a dormir seria de esperar uma prevalência de infeção reduzida o que parece, também, suportar os resultados obtidos (Tabela 4).

Outro dos factores que pode ter influenciado os resultados poderá ter sido o acondicionamento e transporte das amostras do centro onde foram recolhidas até ao local onde foram cultivadas no meio Diamond. Apesar do tempo de viagem entre o centro LxCRAS e as instalações onde se localizava a incubadora ser relativamente curto, cerca de 15 a 20 minutos, principalmente em amostras com poucos parasitas, estes podem ter perdido a sua viabilidade visto serem muito sensíveis às diferenças de temperatura.

Pode, ainda, ter acontecido que o número de *Trichomonas* presentes nas amostras fosse muito reduzido e inferior ao limite de deteção das técnicas de diagnóstico utilizadas.

As técnicas utilizadas são pouco sensíveis para a deteção da presença do parasita.

Existem outras técnicas, já referidas anteriormente, como a PCR, mais sensíveis, mas que, também, apresentam limitações a considerar, nomeadamente a escassez de espécies de trichomonas com genoma total ou parcialmente sequenciado e disponível nas bases de dados genéticas. Outra das limitações foi o preço desta reacção e posterior sequenciação dos fragmentos sequenciados, uma vez que o presente estudo foi realizado com recursos limitados que não permitiu o acesso a esta técnica de diagnóstico.

Seria interessante, após recolha de amostras frescas, desenvolver uma técnica de deteção rápida *in loco* para deteção precisa do parasita, reduzindo a probabilidade de degradação da amostra no decorrer do transporte para o laboratório.

Holt *et. al.* realizaram um estudo no Tennessee, em 2015, cujo principal enfoque residia na avaliação da aplicabilidade dos papeis de filtro na preservação de DNA de *Trichomonas gallinae*, para posterior deteção molecular através da técnica de PCR. Os autores concluíram que este não é um método preferencial para deteção de *Trichomonas gallinae*, no entanto, referem que estudos futuros poderão otimizar a técnica para este parasita em estudo.

As técnicas de diagnóstico utilizadas no presente estudo, são pouco sensíveis à detecção da presença do parasita. No futuro, seria interessante realizar, também, a reação de PCR para detetar a presença deste agente, uma vez que é considerada uma técnica muito sensível.

Neste trabalho, como já referido anteriormente, o enfoque principal assentou no estudo da prevalência da tricomonose em aves silvestres. A população que foi possível estudar foi limitada, tanto em número de indivíduos como de espécies, para além disso, todas as aves se encontravam assintomáticas, excepto três que apresentavam lesões orais, história de regurgitação e um abcesso bucal. Sabe-se que a infeção por este parasita pode ser assintomática, como descrito, na Alemanha, por Krone e colaboradores, em 2005, cujo objetivo assentava em determinar a prevalência de *Trichomonas gallinae* em Açores, que se apresentavam sem sinais clínicos. Os autores concluíram que 65,1% das aves em estudo eram positivas à presença do parasita; no entanto, eram provenientes de uma área epizootica. Outro estudo, realizado em Maryland, determinou, igualmente, que 85% dos pombos estudados, provenientes de uma área epizootica, eram imunes ao parasita (Forrester & Foster, 2009). De alguma forma, os resultados obtidos no presente trabalho, poderão ter uma explicação idêntica.

A resposta biológica, que diferentes espécies apresentam à infeção pelo parasita, pode, também, justificar os resultados obtidos no presente estudo.

5. CONCLUSÃO

A importância do estudo da tricomonose assenta no fato de a prevalência e incidência desta patologia estar a aumentar em aves silvestres. Outrora pensava-se que se tratava de uma doença de baixa patogenicidade; contudo, atualmente existem estudos que demonstram o amplo espectro de patogenicidade que este parasita pode assumir, desde assintomático, como acontece em algumas espécies de Columbiformes, a altamente virulento. Os fatores que afetam a virulência da estirpe ainda não são totalmente conhecidos, mas sabe-se que, em certas espécies de hospedeiros, um só parasita é capaz de desencadear doença e, até, a morte.

Com este estudo, pretendeu-se detetar a presença de *Trichomonas gallinae* e o seu impacto na saúde de aves silvestres. Os resultados sugerem que a tricomonose não parece afetar as aves que dão entrada do LxCRAS provenientes da região da Grande Lisboa, Ribatejo e Alto Alentejo. No entanto, são necessários mais estudos tanto a nível de controlo de tricomonose, como nos métodos para a sua deteção e classificação de estirpes, nomeadamente por PCR.

Concluiu-se que a tricomonose é um diagnóstico diferencial importante para uma série de apresentações clínicas em aves silvestres que chegam ao LxCRAS e que os sinais clássicos (nomeadamente placas caseosas na orofaringe, regurgitação, dispneia, entre outros) nem sempre são causados por este parasita.

No futuro, a determinação dos vários genótipos circulantes poderia elucidar quanto à dinâmica da transmissão do parasita e oferecer potenciais opções de mitigação do parasita no meio circulante.

É necessário continuar a haver uma vigilância contínua da população de aves selvagens, para um melhor conhecimento da prevalência e distribuição das estirpes, de *Trichomonas gallinae*, de forma a permitir estimar o número e tipo de espécies que o parasita adquire a capacidade de infetar, com a sua evolução e adaptação, no decorrer do tempo.

O conhecimento das populações de risco, de possíveis surtos de tricomonose, é um fator determinante na abordagem da prevenção na ocorrência de surtos epizooticos, no que respeita ao tratamento farmacológico e erradicação de aves infetadas. Seria, também, interessante a existência de dados de monitorização, fruto da vigilância mencionada acima, para estudos de sobrevivência e imunidade.

6. Referências Bibliográficas

Abd El-Rahman, M.A.M., Seddiek, Sh.A., & Soliman, A.S. (2008). Some Studies on Trichomoniasis of Pigeons at Qualiobia Governorate. *Egypt. J. Comp. Path. & Clinic. Path.*, 21(2),123-141.

Acosta, G.I., Soto, P.C. & Cruz, L.E. (2009). Incidencia subclínica de Trichomonas en palomas. *Revista electrónica de Veterinária*, 10(7B).

Bunbury, N., Jones, C.G., Greenwood, A.G. & Bell, D.J. (2007). *Trichomonas gallinae* in Mauritian Columbids: Implications for an endangered endemic. *Journal of Wildlife Diseases*, 43(3),399–407.

Cooper, J.E. (2002). Parasitic Diseases, In: Krone, O. & Cooper, J.E. (Eds.), *Birds of Prey: Health and Disease* (3ª Edição, Cap.7, pp. 110-112). Oxford, UK:Blackwell Science.

Forzán, M.J., Vanderstichel, R., Melekhovets Y.F. & McBurney, S. (2010). Trichomoniasis in finches from the Canadian Maritime provinces – An emerging disease. *The Canadian Veterinary Journal*, 51(4),391–396.

Forrester, D.J. & Foster, G.W. (2009). Trichomonosis. In: Atkinson, C.T., Thomas, N.J. & Hunter, D.B. (Eds.), *Parasitic Diseases of Wild Birds* (1ª Edição, pp.120-153). Oxford, UK: Wiley-Blackwell.

Cole, R.A (1999). Trichomonosis. In: Friend, M. & Franson, J.C. (Eds.), *Field Manual of Wildlife Diseases, General Field Procedures and Diseases of Birds* (1ª Edição, pp.201-206). Madison, Wisconsin: U.S. Geological Survey, Biological Resource Division, National Wildlife Health Center.

Hoefle, U., Blanco, J.M., Palma, L. & Melo, P. (2000). Trichomoniasis in Bonelli's Eagle (*Hieraetus fasciatus*) Nestlings in South-west Portugal. In: Lumeij, J.T., Rempel, J.D., Redig, P.T., Lierz, M. & Cooper, J.E. (Eds.), *Raptor Biomedicine III* (1ª Edição, pp.45-51). Lake Worth, Florida: Zoological Education Network.

Höfle, U., Gortazar, C., Ortiz, J.A. & Knispel, B. (2004). Outbreak of trichomoniasis in a woodpigeon (*Columba palumbus*) wintering roost. *European Journal of Wildlife Res*, 50,73-77.

Holt, J.C., Purple, K.E., Gerhold, R. (2015), Use of FTA technology for detection of *Trichomonas gallinae*. *Veterinary Parasitology*, 212, 396-399.

Krone, O., Alternkamp, R. & Kenntner, N. (2005). Prevalence of *Trichomonas gallinae* in Northern Goshawks from the Berlin area of Northeastern Germany. *Journal of Wildlife Diseases*, 41(2),304-309.

Liebhart, D., Weisseböck, H. & Hess, M. (2006). In-Situ Hybridization for the Detection and Identification of *Histomonas meleagridis* in Tissues. *Journal of Comparative Pathology*, 135(4),237-242.

Lumeij, J.T. & Zwijnenberg, R.J.G. (1990). Failure of nitro-imidazole drugs to control trichomoniasis in the racing pigeon (*Columba livia domestica*). *Avian Pathology*, 19(1),165-166.

Miller-Keane Encyclopedia and Dictionary of Medicine, Nursing, and Allied Health (2003). Acedido em 25 de Março de 2015 em <http://medical-dictionary.thefreedictionary.com/Trichomonas+gallinae>

Mostegl, M.M., Richter, B., Nedorost, N., Maderner, A., Dinhopl, N., Kulda, J. *et al.* (2010). Design and validation of an oligonucleotide probe for the detection of protozoa from the order Trichomonadida using chromogenic in situ hybridization. *Veterinary Parasitology*, 171(1-2),1-6.

Real, J., Mañosa, S. & Muñoz, E. (2000). Trichomoniasis in a Bonelli's Eagle Population in Spain. *Journal of Wildlife Diseases*, 36(1),64-70.

Rupley, A.E. (1997). Gastrointestinal Signs. In: *Manual of Avian Practice* (1ªEdição, pp.91-108). Filadélfia: Saunders.

Sagesse, M.D. (2007). Medicina de la conservación, enfermedades y aves rapaces. *El Hornero Revista de Ornitología Neotropical*, 22(2),117-130.

Samour, J.H. (2000). *Pseudomonas aeruginosa* Stomatitis as a Sequel to Trichomoniasis in Captive Saker Falcons (*Falco cherrug*). *Journal of Avian Medicine and Surgery*,14(2):113–117.

Samour, J.H. & Naldo, J.L. (2003). Diagnosis and Therapeutic Management of Trichomoniasis in Falcons in Saudi Arabia. *Journal of Avian Medicine and Surgery*, 17(3):136–143.

Sánchez, R.E. & Sansano, M.J. (2006). *Prevalencia de Tricomonosis en Palomas de la Comunidad Valenciana*. Comunicação apresentada no III Congresso Internacional de Estudantes de Ciências Experimentais e da Saúde da Universidade Cardenal Herrera, Valência.

Sansano, J., Garijo, M.M. & Gómez, M.T. (2007). *Prevalencia y Ribotipado de Trichomonas gallinae en Palomas y Aves de Presa en la Comunidad Valenciana*. Comunicação apresentada no X Congresso Ibérico de Parasitologia, Madrid.

Sansano, J., Gómez, M.T., Geriquel, C. & Garijo, M.M. (2005). *Presence of Trichomonas gallinae in Birds of Prey from the Comunidad Valenciana (Spain)*. Comunicação apresentada no IX Congresso Ibérico de Parasitologia, Coimbra.

Stabler, R.M. (1948). Protection in Pigeons against Virulent *Trichomonas gallinae* Acquired by Infection with Milder Strains. *The Journal of Parasitology*, 34(2),150-153.

Stabler, R.M. (1954). *Trichomonas gallinae*: a review. *Experimental Parasitology*, 3,368-402.

The Merck Veterinary Manual (2014). Overview of Trichomonosis. Acedido a 25 de Março de 2015 em http://www.merckmanuals.com/vet/poultry/trichomonosis/overview_of_trichomonosis.html?q=trichomonas%20gallinae&alt=sh

Tapada Nacional de Mafra (2015). Acedido a 25 de Março de 2015 em <http://www.tapadademafra.pt/wp-content/uploads/2015/06/AVES.pdf>

Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M & Jennings, F.W. (1996). Protozoologia Veterinária. In: Bressan, M.C. & Pereira, M.C. (Eds.), *Parasitologia Veterinária* (2ª edição, pp.183-194). Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Warren, L.G., Kitzman, W.B. & Hake, E. (1961). Induced resistance of mice to subcutaneous infection with *Trichomonas gallinae*. *Journal of Parasitology*, 47,533-537.

Villanúa, D., Höfle, U., Rodriguez, S. & Gortázar, C. (2006). *Trichomonas gallinae* in wintering common wood pigeons *Columba palumbus* in Spain. *Ibis*, 148,641-648.