

Luisa Guedes Vieira Merz

**Prevalência de *Giardia* spp. em cães e gatos em
duas clínicas veterinárias na região de Cessy,
França e no cantão de Genebra, Suíça.**

Orientadora: Professora Doutora Ana Maria Duque de Araújo
Munhoz

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Faculdade de Medicina Veterinária**

Lisboa

2018

Luisa Guedes Vieira Merz

Prevalência de *Giardia* spp. em cães e gatos em duas clínicas veterinárias na região de Cessy, França e no cantão de Genebra, Suíça

Dissertação defendida em provas públicas na Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Lisboa no dia 22/10/2018, para a obtenção do grau de mestre em Medicina Veterinária.

Juri n°311/2018 com a seguinte composição:

Presidente: Professora Doutora Laurentina Pedroso

Arguente : Doutor Luiz Cardoso (UTAD)

Orientadora : Professora Doutora Ana Maria Duque Munhoz

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2018

Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível.

Charles Chaplin

DEDICATORIA

Aos animais,
fonte de dedicação e inspiração.

AGRADECIMENTOS

A minha orientadora, professora Doutora Ana Maria Duque de Araújo Munhoz, que desde o primeiro momento mostrou-se disponível, presente e sempre com palavras motivadoras. Obrigada pela paciência, apoio e carinho.

As Clínicas Veterinárias Le Colomby (FR) e Moillebeau (CH) pelo aprendizado, crescimento profissional e colaboração para este estudo.

Ao meu querido marido, Fred Merz, que sempre acreditou em mim e que durante todos estes anos, caminhou ao meu lado. Agradeço infinitamente sua compreensão, amor amizade, companheirismo e motivação.

Ao meu pai, Betão, (em memória), que me transmitiu o amor pela natureza e aos animais, que mesmo de tão longe iluminou meu caminho.

A minha amada mãe, Elvira Mara, que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos da minha vida. Obrigada pelo apoio, auxílio, amor, presença, e incansável dedicação. Mesmo existindo a distância física, sempre esteve comigo.

Ao meu grande irmão e amigo, Bernardo, pelo companheirismo e carinho.

A minha querida Sogra, Christine Merz, que acreditou nos meus sonhos e caminha ao meu lado para que eu possa concretizá-los. Obrigada pelo amor e companheirismo.

Aos meus tios, Bernhard e Yvonne Merz que me acolheram e me apoiaram com muito amor e carinho.

Às minhas amigas, Julia e Adriana. Um presente que Lisboa me deu. Obrigada por tornarem esta caminhada mais alegre e divertida. Migles, levarei vocês sempre no meu coração.

As minhas primas, Luanna e Talita pela ajuda e amor.

A minha Tia, Maria de Lourdes, pelo apoio, conversas e por sempre acreditar em mim.

A Tia Sônia e Eric pela ajuda com a Vidinha, amor, carinho e presença.

Ao meu padrinho, Tio Bolota, que sempre esteve ao meu lado.

A Philippe e Marie Catherine que me acolheram com carinho.

A todos os familiares e amigos que estiveram ao meu lado.

Aos meus animais que foram para mim fonte de inspiração e amor. Em especial a minha cachorrinha Vida, que me acompanhou na primeira conquista e caminha ao meu lado dando-me alegria, amor incondicional e companhia.

Em especial, a Deus, por me guiar, iluminar e proteger.

RESUMO

O género *Giardia* inclui espécies com potencial zoonótico de distribuição mundial, sendo considerado um dos dez parasitas mais comuns no homem e uma das principais causas de diarreia não viral em humanos e animais. Sua prevalência, apresenta índices variáveis, dependendo da localização geográfica e do método utilizado para o diagnóstico.

O presente estudo teve como objetivo principal, determinar a prevalência do protozoário *Giardia* em cães e gatos que apresentavam sinais clínicos gastrointestinais, em dois centros de atendimento médico veterinários, um na França, Le Colomby e outro na Suíça, Moillebeau. O período de estudo deu-se entre 2015 a 2017.

Entre os objetivos específicos pretendeu-se relacionar fatores como raça, género e faixa etária com a prevalência do parasita e determinar possíveis causas de recidiva da giardiose.

Avaliou-se as fichas clínicas de 52 animais, onde 29 eram cães, 22 gatos e 1 furão. Das amostras fecais analisadas, 45 foram submetidas ao teste de imunocromatografia para deteção de antígenos solúveis de *Giardia duodenalis*, sendo que em 4 amostras realizou-se o teste PCR e 3 amostras não foram submetidas ao exame diagnóstico.

A prevalência total nas duas clínicas foi de 59,6% (31/52), onde 52% (16/31) eram cães, 45% eram gatos (14/31) e 4% furão (1/31).

Na clínica Le Colomby (FR) o percentual de animais positivos foi de 50% (11/22); destes, 45% eram cães (5/11), 45% eram gatos (5/11) e 10% foi representado por 1 furão (1/11). As fêmeas apresentaram um maior número de resultados positivos, tanto para os cães quanto para os gatos. Nos cães as raças que apresentaram maior número de positivos foram Pastor Alemão e Boule Dogue Francês; nos gatos as raças mais prevalentes foram o Gato Europeu e Gato da Birmânia. A faixa etária de maior prevalência ocorreu em animais com idade entre 0-9 meses

Na clínica Moillebeau (CH) a prevalência encontrada foi de 67% (20/30), sendo 55% cães (11/20) e 45% gatos (9/20). As fêmeas, também apresentaram maior positividade. Não houve correlação quanto às raças dos cães. Nos gatos, a maior prevalência, ocorreram nos Gatos Europeu e Ragdoll. A faixa etária de maior prevalência, foi de 0-9 meses em ambas as clínicas.

Este estudo vem realçar a necessidade de alertar a comunidade veterinária e os proprietários para o risco da infeção dos animais por *Giardia* spp. devido ao potencial zoonótico deste protozoário. Torna-se importante avaliar quais os genótipos presentes e implementar medidas profiláticas para proteger animais e pessoas.

Palavras – chave: *Giardia* spp., cão, gato, prevalência, imunocromatografia.

ABSTRACT

The genus *Giardia* includes species with zoonotic potential of worldwide dispersion, being considered one of the ten most common parasites to infect humans and one of the main causes of non-viral diarrhea in humans and animals. Its prevalence is variable, depending on the geographic location and the method used for the diagnosis.

The present study had as its main objective to establish the prevalence of the parasite *Giardia* spp. in dogs and cats that had clinical gastrointestinal signs in two veterinary medical centers, one in France, Le Colomby and the other in Switzerland, Moillebeau. The study period was between 2015 and 2017.

Among the specific objectives the goal was to uncover if there were any relation between factors such as race, gender and age group and the prevalence of the parasite and determine possible causes of relapse of giardiasis.

The clinical records of 52 animals (29 dogs, 22 cats and 1 ferret) were assessed. From the fecal samples analyzed, 45 were submitted to the immunochromatography test for the detection of soluble antigens of *Giardia duodenalis*, in 4 samples the PCR test was performed and 3 samples were not submitted to the diagnostic test.

The total prevalence in the two clinics was of 59.6% (31 out of 52), where 52% (16 out of 31) were dogs, 45% were cats (14 out of 31) and 4% were ferrets (1 out of 31).

In the Le Colomby clinic (FR) the percentage of animals that tested positive for *Giardia* was of 50% (11 out of 22). Of these, 45% were dogs (5 out of 11), 45% were cats (5 out of 11) and 10% were represented by 1 ferret (1 out of 11). Females - both dogs and cats - presented a higher number of positive results for *Giardia*. Concerning the dogs, the breeds that presented the greatest number of positives for *Giardia* were German Shepherd and French Bulldog. Regarding the cats, the most prevalent breeds for *Giardia* incidences were the European Cat and Cat of Burma. The most dominant age group for occurrences in animals was the 0-9 months group in both clinics.

At the Moillebeau clinic (CH) the prevalence was of 67% (20 out of 30), being 55% of dogs (11 out of 20) and 45% of cats (9 out of 20). Females were also the gender group more prone to be tested positive for *Giardia*. There was no correlation between the breeds of dogs. Amongst the cats breeds, the highest prevalence was in the European Cat and Ragdoll. The most prevalent age group was the 0-9 months age group in both clinics.

This study highlights the need to alert the veterinary community and owners to the risk of infection of the animals by *Giardia* spp. due to zoonotic potential of worldwide dispersion of this protozoan. It is important that we make an effort to assess which genotypes are present in order to better implement prophylactic measures to protect animals and people.

Key words: *Giardia* spp., Dog, cat, prevalence, immunochromatography.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	Porcentagem
a	Axonemas
afl	Flagelo anterior
ba	Área descoberta
BID	Bis in die (duas vezes ao dia)
CDC	Center for Disease Control and Prevention (Centro para Controle e Prevenção de Doenças)
cfl	Flagelo caudal
CH	Confédération Helvétique (Confederação Helvética)
CO ₂	Gás carbônico
DNA	Deoxyribonucleic Acid (Ácido Desoxirribonucleico)
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Ensaio de Imuno Absorção Enzimática)
ep	Espaço peritrófico
ESCCAP	European Scientific Counsel Companion Parasites
FDA	Food and Drug Administration (Agência Reguladora Americana)
fn	Funil
FR	França
g	Grama
ICZM	International Commission on Zoological Nomenclature (Código Internacional de Nomenclatura Zoológica)
Kg	Quilograma
mb	Corpo mediano
mg	Miligrama
mg/kg	Miligramas por quilo
ml	Mililitro
mm	Milímetro
n	Núcleo
NAC	Novos animais de companhia
°C	Graus Celsius

OMS	Organização Mundial de Saúde (Word Health Organization)
PCR	Polimerase chain reaction (Reação em cadeia da polimerase)
pfl	Flagelo posterior lateral
pH	Potencial Hidrogeniônico
SID	Semel in die (uma vez ao dia)
spp	Species (espécies)
T CD8+	Linfócito T Citotóxico
vd	Disco ventral
vfl	Flagelo ventral
VO	Via oral
WHO	Word Health Organization (Organização Mundial da Saúde)
α	Alfa
β	Beta
μm	Micrômetro

ÍNDICE GERAL

Índice de Tabelas	11
Índice de Figuras	12
Índice de Gráficos	13
Capítulo 1	14
1. Estágio Curricular	14
Capítulo 2	20
2. Introdução.....	20
Capítulo 3	21
3. Revisão de literatura	21
3.1 Histórico	21
3.2 Espécies.....	22
3.3 Grupos Genéticos ou Assemblages	24
3.4 Taxonomia e Classificação.....	25
3.5 Morfologia Geral.....	26
3.5.1 Trofozoítos.....	27
3.5.2 Disco adesivo ventral.....	28
3.5.3 Núcleos.....	30
3.5.4 Flagelos	31
3.5.5 Corpos Medianos.....	31
3.5.6 Funis.....	32
3.5.7 Quisto	32
3.6 Biologia	34
3.7 Ciclo biológico	34
3.8 Epidemiologia.....	37
3.9 Patogenia e sinais clínicos	39
3.10 Diagnóstico	42
3.11 Tratamento.....	47
3.12 Medidas profiláticas.....	51
3.12.1 Vacinação	52
Capítulo 4	53
4. Objetivos.....	53
Capítulo 5	54
5. Material e métodos	54

5.1 Amostras 54

5.2 Análise estatística 55

Capítulo 6 56

6. Resultados..... 56

Capítulo 7 60

7. Discussão 60

Capítulo 8 67

8. Conclusão..... 67

Referências Bibliográficas 68

Anexos I

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Espécies de <i>Giardia</i> spp. e seus hospedeiros (Adaptado de Monis <i>et al.</i> , 2009).	23
Tabela 2 - Assemblages de <i>Giardia</i> e seus hospedeiros (Adaptado de Monis <i>et al.</i> , 2009 e Lesek-Nesselquist <i>et al.</i> , 2010).	25
Tabela 3 - Prevalência da <i>G.duodenalis</i> em cães e gatos na Europa (Adaptado de Epe <i>et al.</i> , 2010).	38
Tabela 4 - Vantagens e desvantagens de cada método de diagnóstico (Samuel <i>et al.</i> , 2001)	44
Tabela 5 - Técnica de flutuação com sulfato de zinco (Adaptado de Tams, 2005)	45
Tabela 6 - Medicamentos usadas para o tratamento de <i>Giardia</i> spp. em cães e gatos (Adaptado de Tangtrongsup & Scorza, 2010; Washabau & Day, 2013).	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Enterectomia em um gato, ingestão de corpo estranho.	16
Figura 2 - Retirada de um abscesso em um gato.....	16
Figura 3 - Radiografia fratura úmero de um gato.....	16
Figura 4 - Ecografia abdominal de um furão	16
Figure 5 - Hidroterapia em um cão Pastor Alemão com mielopatia degenerativa.....	18
Figure 6 - Abscesso em um porquinho-da-índia.....	19
Figure 7 - Narcose em um gerbilo	19
Figura 8 - 3 espécies de <i>Giardia</i> : <i>G. duodenalis</i> , <i>G. muris</i> e <i>G. agilis</i> . (Thompson & Monis, 2004)	22
Figura 9 - Espécies de <i>Giardia</i> A) <i>G. agilis</i> B) <i>G. muris</i> C) <i>G. duodenalis</i> D) <i>G. ardeae</i> E - F) <i>G. psittaci</i>	23
Figura 10 - Trofozoítos e quistos de <i>Giardia lambia</i> visto ao microscópio (De Carli,2007). 26	
Figura 11 - Diversas estruturas do trofozoíto da <i>Giardia lambia</i>	27
Figura 12 - População de <i>G. duodenalis</i> cultivada sob um substrato de colágeno, onde os trofozoítos se fixam por meio do disco ventral (Rey, 2008)......	29
Figura 13 - Citoesqueleto estruturado por microtúbulos e o disco ventral da <i>Giardia lambia</i>	30
Figura 14 - Quisto de <i>G.lambia</i> com seus núcleos e axonemas.....	31
Figura 15 - Quisto de <i>Giardia duodenalis</i> (Adaptado de Midlej & Benchimol, 2009)......	33
Figura 16 - ilustração das diferentes formas do quisto de <i>Giardia</i> (Wenyon, 1965)......	33
Figura 17 - Metabolismo dos carboidratos em <i>Giardia duodenalis</i> dando como produtos finais etanol, ácido acético e CO ₂ (Rey, 2008). As enzimas envolvidas são: 1- glicolíticas; 2- carboxiquinase do fosfoenolpiruvato; 3- piruvatoquinase; 4 e 5 - desidrogenase metálica; 6 - piruvato-sintase; 7- acetil-COA; 8 - desidrogenase; 9 - óxido-redutase.....	34
Figura 18 - Enquistamento de trofozoíto de <i>G. duodenalis</i> (Midlej & Benchimol, 2009).....	36
Figura 19 - Ciclo <i>Giardia duodenalis</i> (Adaptado de: CDC-USA Center for Disease Control)36	
Figura 20 - Diarreia causada por <i>Giardia</i> (Cavalini & Zapa, 2011).	40

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Animais acompanhados durante o estágio curricular na Clínica Le Colomby	15
Gráfico 2 - Casuística Clínica Le Colomby	15
Gráfico 3 - Animais acompanhados durante o estágio curricular na Clínica Moillebeau	17
Gráfico 4 - Casuística Clínica Moillebeau.....	18
Gráfico 5 - Amostras das clínicas Le Colomby e Moillebeau 2015 a 2017.	54
Gráfico 6 - Dados dos animais com suspeita de infecção por <i>Giardia</i> spp. em duas clínicas veterinárias	56
Gráfico 7 - Exames realizados para detecção de <i>Giardia</i> spp. em animais em duas clínicas veterinárias	57
Gráfico 8 - Distribuição de género e espécie dos animais infectados por <i>Giardia</i> spp. em duas clínicas veterinárias.....	57
Gráfico 9 - Distribuição da idade dos animais infectados por <i>Giardia</i> spp. na Clínica Le Colomby (FR)	58
Gráfico 10 - Distribuição da idade dos animais infectados por <i>Giardia</i> spp. na Clínica Moillebeau (CH).....	59
Gráfico 11 - Raças dos cães clínica Le Colomby (FR).....	62
Gráfico 12 - Raças dos gatos na Clínica Le Colomby (FR)	62
Gráfico 13 - Raças dos cães clínica Moillebeau (CH)	63
Gráfico 14 - Raças dos Gatos na clínica Moillebeau (CH).....	63
Gráfico 15 - Tratamentos utilizados em animais infectados por <i>Giardia</i> spp. em duas clínicas veterinárias	65
Gráfico 16 - Recidiva dos animais positivos para <i>Giardia</i> spp. na Clínica Moillebeau (CH) por faixa etária	66

CAPÍTULO 1

1. ESTÁGIO CURRICULAR

O estágio curricular no âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária ocorreu em duas clínicas distintas de pequenos animais.

A primeira fase decorreu na Clínica Veterinária Le Colomby, localizada em Cessy, França e em seguida na Clínica Veterinária Moillebeau localizada em Genebra, na Suíça.

Clínica Veterinária Le Colomby

A primeira fase do estágio realizou-se entre o dia 11 de setembro até o dia 10 de novembro de 2017, sob a orientação do Dr. Bertrand Michaud.

A clínica veterinária Le Colomby está localizada na cidade de Cessy, França possui uma equipe de 8 veterinários e 9 assistentes.

Esta clínica disponibiliza aos clientes os serviços de medicina interna, cardiologia, oftalmologia, ortopedia, osteopatia, diagnóstico por imagem, exames complementares, cirurgias e hospitalização.

Durante o período de estágio, me foi permitido participar de todas as atividades desenvolvidas na clínica. A efetiva participação no cotidiano da clínica, me possibilitou colocar em prática os conhecimentos adquiridos durante a formação acadêmica e obter novos conhecimentos e competências que serão de suma importância para o desempenho da profissão do Médico Veterinário.

Os animais com maior prevalência nos atendimentos foram caninos e felinos (Gráfico 1).

Na área de clínica médica, as atividades desenvolvidas consistiram no acompanhamento das consultas onde se realizava a anamnese, exame clínico, contenção e colheita de material para diagnóstico laboratorial, elaboração do plano de tratamento de doenças e profilaxia.

As ações de profilaxia médica referentes à primeira consulta, vacinação e desparasitação tiveram grande peso nos casos assistidos (Gráfico 2). Outras áreas em que se destacaram as casuísticas foram, oftalmologia, ortopedia e dermatologia.

Na área de cirurgia, foi possível acompanhar todo o processo pré e pós cirúrgico, medicação pré-anestésica, cateterização, tricotomia e assepsia. Durante as cirurgias foi possível desempenhar diversas funções como ajudante do cirurgião, monitoramento da anestesia e do animal até o recobro pós cirúrgico (Figura 1).

Na hospitalização as atividades eram relacionadas aos cuidados com os animais tais como, o monitoramento clínico, preparação e administração de fármacos, alimentação e higiene.

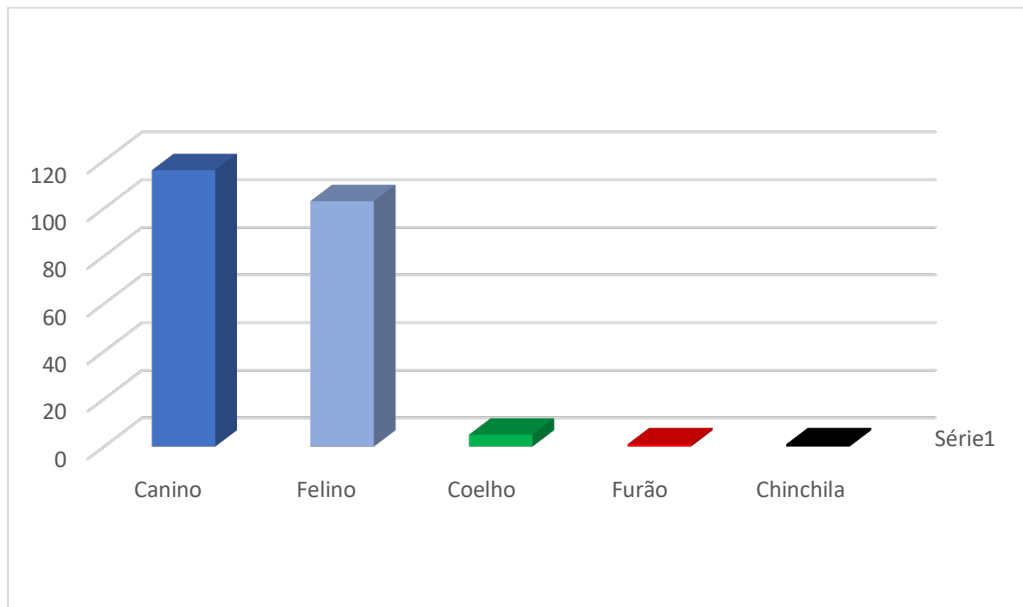


Gráfico 1 - Animais acompanhados durante o estágio curricular na Clínica Le Colomby

Sob a supervisão dos veterinários, foram realizados os seguintes procedimentos: castração de gatos e cães, ovariectomia em gata, suturas diversas, retirada de abscesso (Figura 2), colheita de material para exames (sangue, urina, fezes), cateterização e radiografias (Figura 3).

Na área de diagnóstico por imagem, foram realizadas diversas radiografias, ecografias (Figura 4), ecocardiografias e endoscopias onde foi possível auxiliar na execução.

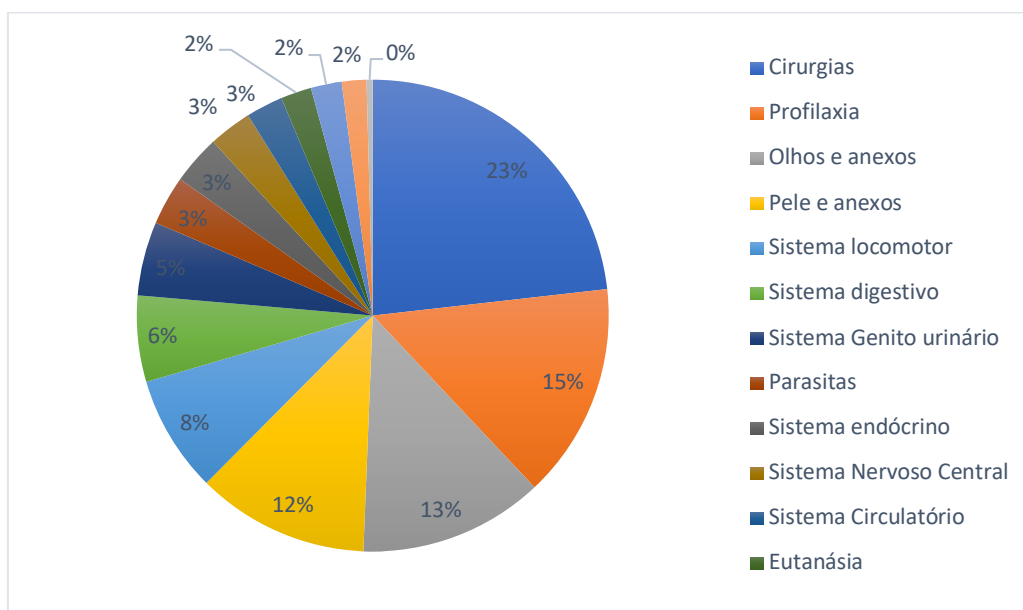


Gráfico 2 - Casuística Clínica Le Colomby

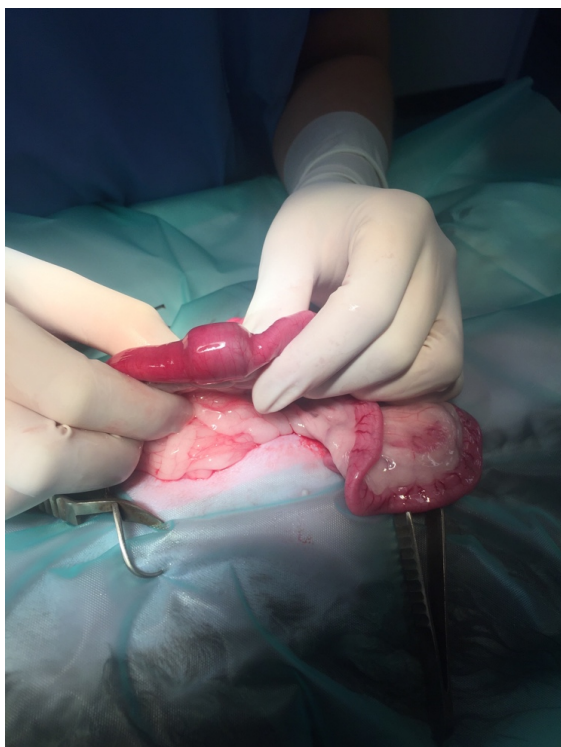


Figura 1 - Enterectomia em um gato, ingestão de corpo estranho.
Fonte: Original do auto

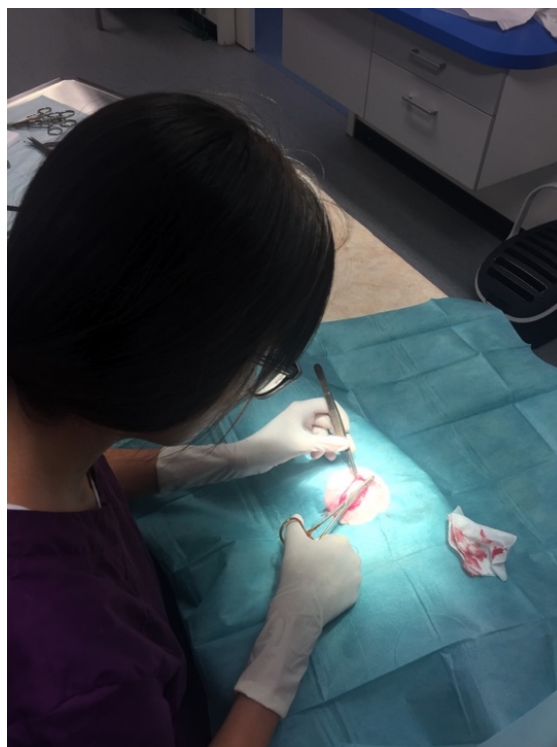


Figura 2 - Retirada de um abscesso em um gato
Fonte: Original do auto

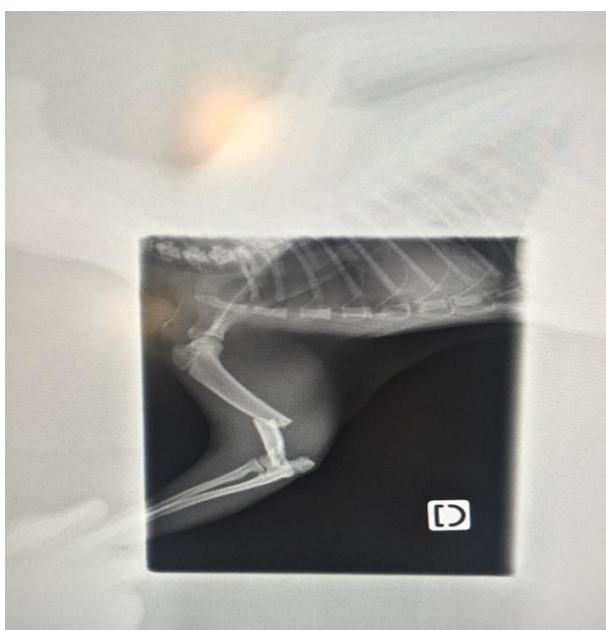


Figura 3 - Radiografia fratura úmero de um gato
Fonte: Original do autor



Figura 4 - Ecografia abdominal de um furão
Fonte: Original do autor

Clínica Veterinária Moillebeau

A segunda fase do estágio decorreu entre o dia 13 de novembro de 2017 até o dia 13 de janeiro de 2018 na Clínica Veterinária Moillebeau sob a orientação do Dr. Pierre-Alain Beaud.

A clínica está localizada na cidade de Genebra, Suíça e possui uma equipe de 3 veterinários e 2 assistentes.

Disponibilizam aos clientes os serviços de medicina interna, diagnóstico por imagem, exames complementares, fisioterapia (Figura 5), consultas domiciliares, cirurgias e hospitalização.

Durante o período de estágio foi possível acompanhar todas as atividades desenvolvidas na clínica. Nesta clínica, pelo contato diário com as actividades de rotina, me possibilitou vivenciar a melhor maneira de abordar os diferentes perfis de tutores.

Os caninos e felinos também apresentaram maior prevalência nos atendimentos (Gráfico 3).

As atividades executadas durante o estágio curricular na clínica Moillebaeu foram semelhantes às realizadas na clínica Le Colomby, tendo a mais consultas em domicílio e um maior número de consultas e procedimentos dos novos animais de companhia (NAC) coelhos, porquinho-da-índia e gerbilo.

As ações de profilaxia foram as mais frequentes nas consultas durante o período do estágio, seguidas de dermatologia, problemas relacionados ao sistema digestivo e cirurgias (Gráfico 4).

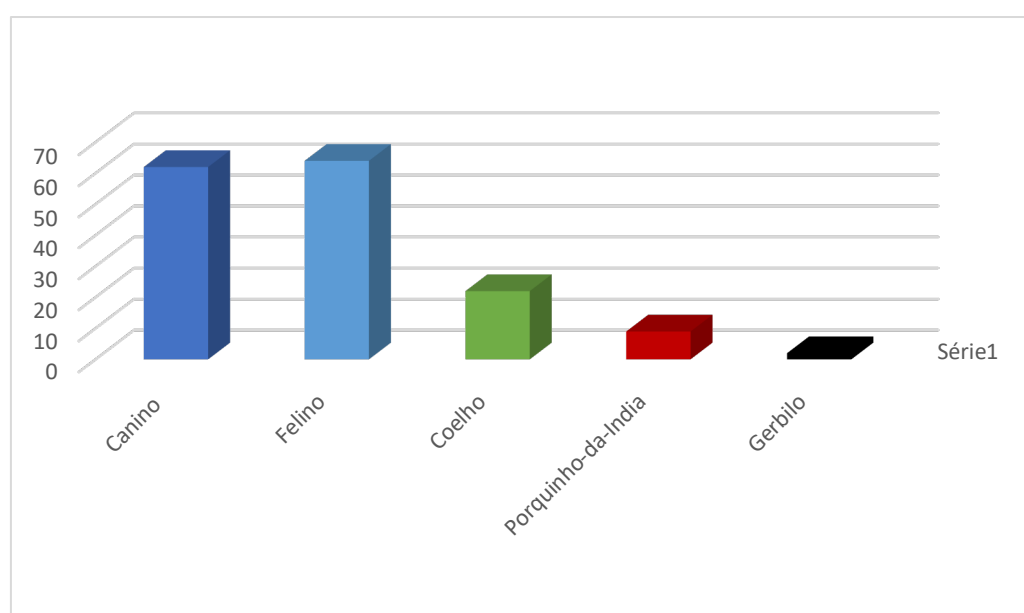


Gráfico 3 - Animais acompanhados durante o estágio curricular na Clínica Moillebeau

O acompanhamento das consultas e cirurgias dos novos animais de companhia (NAC) como coelhos, porquinho-da-índia (Figura 6) e gerbilo (Figura 7), foram de grande ajuda na familiarização com estas espécies de companhia que estão em grande crescimento nas actividades médico-veterinárias.

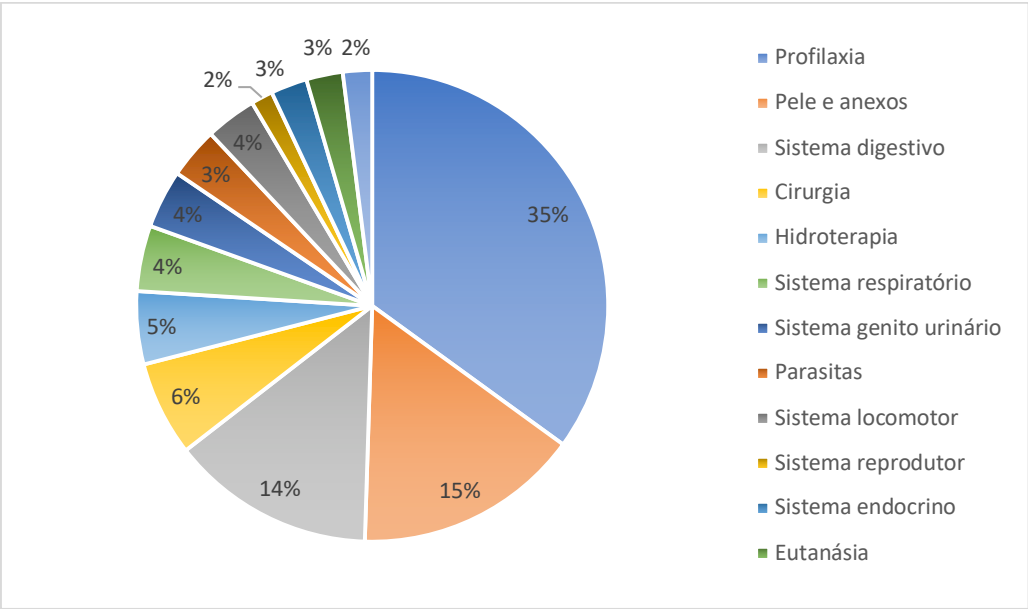


Gráfico 4 - Casuística Clínica Moillebeau



Figure 5 - Hidroterapia em um cão Pastor Alemão com mielopatia degenerativa

Fonte: Original do autor



Figure 6 - Abscesso em um porquinho-da-índia

Fonte original do autor



Figure 7 - Narcose em um gerbilo

Fonte: Original do autor

CAPÍTULO 2

2. INTRODUÇÃO

A relação entre o homem e os animais domésticos data de milhares de anos (Baever, 2001). Os cães e os gatos estão assumindo grande importância na manutenção da saúde mental e física das pessoas (Barker & Dawson, 1998), entretanto, existe a possibilidade da transmissão de agentes com potenciais zoonóticos (Matos, 2013), dentre estes, destacando-se o protozoário gastrointestinal do género *Giardia*.

O protozoário *Giardia* spp. é um parasita de distribuição mundial que infecta vários hospedeiros, entre os quais mamíferos domésticos, silvestres e o homem (Pitães *et al.*, 2015). É considerado um dos dez parasitas mais comuns no homem e uma das principais causas de diarreia não viral em humanos e animais (Thompson *et al.*, 2000). O seu maior impacto clínico em humanos, está relacionado às crianças nos seus primeiros anos de vida (Pitães *et al.*, 2015).

Sua prevalência apresenta índices variáveis, dependendo da localização geográfica, do método de diagnóstico e da população estudada (Bouzig *et al.*, 2015).

Estudos moleculares mostraram que o parasita *Giardia* spp. compreende oito genótipos (A-H) (Monis *et al.*, 2009; Fava *et al.*, 2016; Saleh *et al.*, 2016). O genótipo A foi identificado em humanos e mamíferos incluindo cães e gatos, o genótipo B foi encontrado em humanos e cães (Thompson *et al.*, 2008).

Devido às suas características de possuir ciclo monoxeno, ter a capacidade de se manter no ambiente durante várias semanas, ser infectante logo após a sua excreção (Pitães *et al.*, 2015), excretar os quistos de maneira intermitente, possuir a capacidade de causar ou não sintomatologia clínica, infectar diferentes tipos de hospedeiros, ser de difícil tratamento (Cacciò & Ryan, 2008; ESCCAP, 2015) e a pouca importância dada ao parasita pelos médicos veterinários, torna-se relevante o seu estudo.

O principal objetivo deste trabalho foi determinar a prevalência do parasita *Giardia* spp. em cães e gatos atendidos em duas clínicas localizadas na França e na Suíça.

CAPÍTULO 3

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 HISTÓRICO

O protozoário *Giardia* spp. foi descrito pouco tempo após a invenção do microscópio em 1681 pelo cientista Anton van Leeuwenhoek (Ivalov, 2010). Leeuwenhoek verificou estar ele próprio infectado pelo parasita e ao observar no microscópio as suas fezes diarreicas, verificou que continham “animalúnculos” móveis (Pessoa, 1967; Adam, 1991; Thompson & Monis, 2004).

Em 1859 o médico tcheco Vilém Dusan Lambl apresentou a primeira descrição morfológica (Ivalov, 2010). Ele descreveu detalhadamente o protozoário que encontrou ao analisar fezes de crianças que apresentavam sintomas de diarreia (Faust, Russell & Jung 1970). Pensando tratar-se de um organismo não patogênico, Lambl o denominou *Cercomas intestinalis* (Wenyon, 1965).

Giovanni Batista Grassi, em 1879, relatou pela primeira vez a ocorrência do parasita em animais. Ele observou o protozoário em roedores, sugerindo o nome de *Dimorphus muris*, sem ter ciência da descrição já feita por Lambl (Adam, 2001). Grassi, também verificou que a forma do parasita encontrada no homem era idêntica a outras descobertas em animais domésticos (Wenyon, 1965).

Entretanto, foi Kunstler em 1882, que usou pela primeira vez o nome *Giardia* ao descrever um parasita flagelado no intestino de girinos de anfíbios anuros, criando assim o género *Giardia* (Adam, 2001; Ali & Hill, 2003).

Ao longo das pesquisas, vários nomes foram propostos por diferentes cientistas: *Lamblia intestinalis*, *G. duodenalis*, *G. enterica* (Adam, 2001). Em 1915, a equipe do zoólogo Charles Stiles criou o nome *Giardia lamblia* para homenagear o professor Alfred Mathieu Giard de Paris e o doutor Vilém Dusan Lambl de Praga (Faust *et al.*, 1970).

A descrição morfológica do género foi publicada por Francis Filici em 1952 que classificou as espécies em três grupos distintos: *G. lamblia*, *G. muris* e *G. agilis* (Figura 8) (Monis *et al.*, 2009; Cacciò & Sprong, 2010).

Com o advento da microscopia eletrônica, foi possível distinguir novas espécies que até então pensavam ser *G. lamblia*. Foram elas *G. psittaci*, *G. ardeae* e *G. microti*.

Um dos primeiros estudos a evidenciar a capacidade de infecção no cão foi publicado por Hewlett *et al.* (1982).

A Organização Mundial de Saúde (OMS), em 1979 reconhece o potencial zoonótico da *Giardia* spp. (Thompson *et al.*, 2008) e no ano de 2004 foi incluída pela OMS como parte da “Iniciativa das Doenças Negligenciadas” (Ankarklev *et al.*, 2010).

Nos dias atuais, *Giardia lamblia* também recebe as denominações de *G. intestinalis* e *G. duodenalis* (Pitães *et al.*, 2015).

Carvalho (2009), apresentou um resumo do II International Giardia and Cryptosporidium Conference, em Morelia, no México, no qual fez um resumo das palestras proferidas e os trabalhos apresentados, onde observou que 21 trabalhos adotaram o nome *G. lamblia*, 21 nomearam *G. duodenalis*, 16 referiram-se a *G. intestinalis* e 2 referiram-se apenas ao género *Giardia*. A partir de então, sentiu-se a necessidade de uniformizar a nomenclatura e de denominar corretamente a espécie com base no Código Internacional de Nomenclatura Zoológica (ICZN).

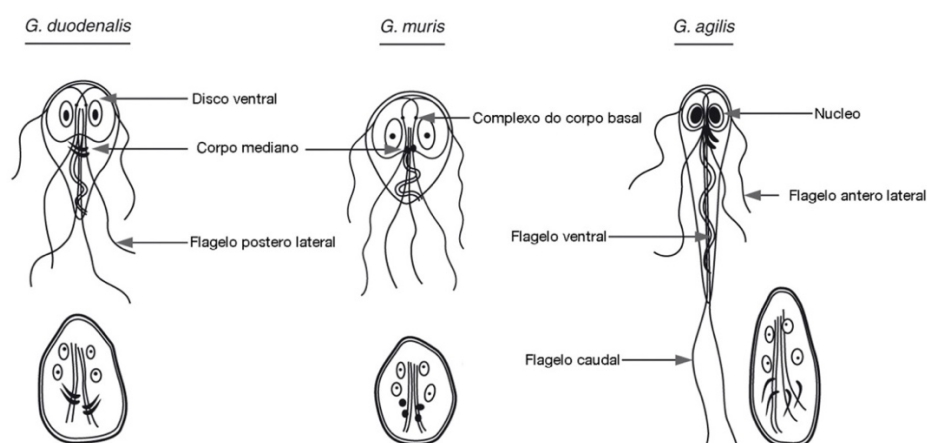


Figura 8 - 3 espécies de *Giardia* : *G. duodenalis*, *G. muris* e *G. agilis*. (Thompson & Monis, 2004)

3.2 ESPÉCIES

As espécies de *Giardia* ao longo dos anos foram descritas com base nos hospedeiros, o que levou a descrição de mais de cinquenta espécies (Thompson *et al.*, 2000).

No entanto, em 1952, Filice propôs uma nova avaliação baseada nas características morfológicas, pondo de lado o critério relativo ao hospedeiro (Thompson & Monis, 2004).

Seis espécies de *Giardia* (Figura 9) foram distinguidas e caracterizadas com base na microscopia ótica, por observação da forma do trofozoíto e do corpo mediano, e igualmente pela microscopia eletrônica em relação aos flagelos e disco ventral (Adam, 2001).

Cinco destas espécies referem-se a isolados obtidos a partir de anfíbios (*G. agilis*), aves (*G. ardeae*, *G. psittaci*), roedores (*G. muris*) e murganhos (*G. microti*). A outra espécie, *G. duodenalis* (Tabela 1) infecta o homem, assim como cães, gatos, bovinos, porcos, ovelhas e equinos (Thompson & Monis, 2004).

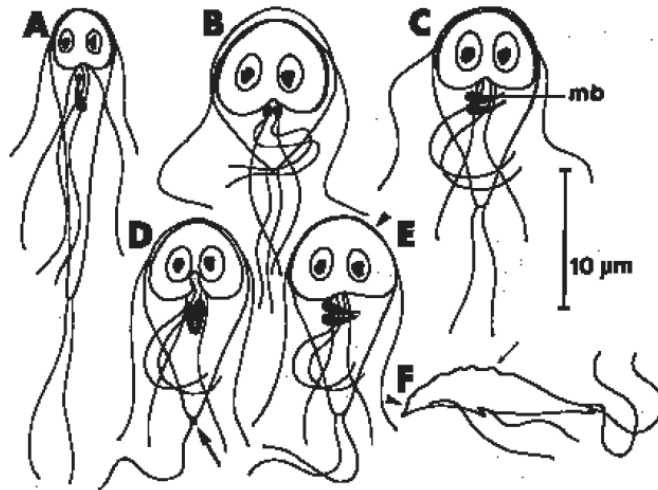


Figura 9 - Espécies de *Giardia* A) *G. agilis* B) *G. muris* C) *G. duodenalis* D) *G. ardeae* E - F) *G. psittaci* (Samuel *et al.*, 2001)

Tabela 1 - Espécies de *Giardia* spp. e seus hospedeiros (Adaptado de Monis *et al.*, 2009).

Espécies	Hospedeiros	Características morfológicas	Dimensões do trofozoíto
<i>G. duodenalis</i>	Mamíferos domésticos, silvestres e o homem	Trofozoíto em forma de pera com corpos medianos em forma de gancho.	12-15µm 6-8µm
<i>G. agilis</i>	Anfíbios	Trofozoíto longo e esguio com corpos medianos em forma de gota alongada.	20-30µm 4-5µm
<i>G. muris</i>	Roedores	Trofozoíto arredondado com corpos medianos pequenos e arredondados.	9-12µm 5-7µm
<i>G. ardeae</i>	Aves	Trofozoíto arredondado, com entalhe proeminente no disco ventral e flagelo caudal rudimentar. corpos medianos ovais em forma de garra.	10µm 6,5µm
<i>G. psittaci</i>	Aves	Trofozoíto em forma de pera e corpos medianos em forma de garra.	14µm 6µm
<i>G. microti</i>	Roedores	Trofozoíto semelhante a <i>G. duodenalis</i> . O quisto contém trofozoítos totalmente diferenciados.	12-15µm 6-8µm

3.3 GRUPOS GENÉTICOS OU ASSEMBLAGES

Foram descritos 7 distintos assemblages (A-G) baseados em análises genéticas (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

Entretanto, outros estudos identificaram 8 assemblages (A-H) (Tabela 2) que foram diferenciados com base nas proteínas ou no polimorfismo do DNA (Monis *et al.*, 2009; Fava *et al.*, 2016; Saleh *et al.*, 2016).

Os grupos A e B são os que apresentam um maior número de hospedeiros, em particular humanos e outros primatas, além dos animais domésticos e selvagens, o que destaca o seu potencial zoonótico (Pitães *et al.*, 2015). Thompson *et al.* (2008), relataram a presença do assamblage A em humanos e em muitos outros mamíferos, incluindo cães e gatos, já o grupo B, foi identificado em humanos e cães.

Os assamblages C, D, E, F, G e H são definidos como hospedeiros restritos, encontrados em cães (C e D), ungulados (E), gatos (F), ratos (G) e mamíferos marinhos (H) (Lasek-Nesselquist *et al.*, 2010; Pallant *et al.*, 2015).

Num estudo realizado em 2009, Sprong e colaboradores, apresentaram a distribuição geográfica e genética de *G. duodenalis* em humanos e animais. Estes autores encontraram sub-assemblages, defendendo assim a divisão em vários subgrupos (Sprong *et al.*, 2009).

O assemblage A foi subclassificado de AI a AIV, sendo AI ligado a infecção em humanos e animais, AII exclusivo aos humanos; AIII e AIV aos animais (Ballweber *et al.*, 2010).

O assemblage B inclui os subgrupos BIII e BIV (Ivanov, 2010).

O assemblage H foi descoberto recentemente e conjectura-se que tenha origem marinha, o que pode representar uma ameaça à saúde dos animais marinhos e terrestres (Lasek-Nesselquist *et al.*, 2010).

Acredita-se que as gaivotas e focas sejam os principais vetores na disseminação da doença, entretando sugere-se que as gaivotas sejam os intervenientes principais na propagação do assemblage H, devido ao fato de percorrerem grandes distâncias, e assim transportar este parasita entre diferentes locais (Lasek-Nesselquist *et al.*, 2010).

Pesquisadores analisaram as fezes de focas e gaivotas, em águas marinhas no interior do estado de Washington, nos Estados Unidos e concluíram que os genótipos isolados apresentavam uma sequência homóloga aos assemblages caninos C e D. Admitiram assim, a possibilidade de que o assemblage H, tenha evoluído a partir dos assemblages C e D (Gaydos *et al.*, 2008).

Lasek-Nesselquist e colaboradores (2010) observaram que a caracterização de um novo assemblage de *G. duodenalis*, sugere que a diversidade do parasita entre os animais

selvagens é maior do que se acreditava anteriormente e os efeitos da infecção requerem maiores investigações, para que se possa entender com maior clareza o novo assemblage H. (Lasek-Nesselquist *et al.*, 2010).

Tabela 2 - Assemblages de *Giardia* e seus hospedeiros (Adaptado de Monis *et al.*, 2009 e Lasek-Nesselquist *et al.*, 2010).

Assemblage	Nomenclatura	Hospedeiro
Assemblage A	<i>G. duodenalis</i>	Primatas incluindo o homem, cães, gatos, ungulados, roedores e mamíferos selvagens.
Assemblage B	<i>G. entérica</i>	Primatas incluindo o homem, cães, bovinos, caprinos e equinos e alguns mamíferos selvagens.
Assemblage C e D	<i>G. canis</i>	Canídeos
Assemblage E	<i>G. bovis</i>	Bovinos, caprinos e suínos
Assemblage F	<i>G. felis</i>	Gatos
Assemblage G	<i>G. simondi</i>	Roedores domésticos
Assemblage H	xxxxxxx	Vertebrados Marinhos

3.4 TAXONOMIA E CLASSIFICAÇÃO

Durante muito tempo, o género *Giardia* era classificado baseando-se em sua morfologia, que o incluía como parte do Filo Sarcomastigophora, Subfilo Mastigophora (flagelados), Classe Zoomastigophorea, Ordem Diplomonadida e Família Hexamitidae (Thompson & Monis, 2004).

Entretanto Plutzer *et al.* (2010), relatou uma nova nomenclatura baseada em dados genéticos, estruturais e bioquímicos com uma nova classificação: ao Filo Metamonada, Subfilo Trichozoa, Superclasse Eophanryngia, Classe Trepomonadea, Subclasse Diplozoa, Ordem Giardiida e Família Giardiidae.

Este peculiar parasita tem atraído atenção não somente pela sua importância médica e veterinária, mas também devido à sua “natureza primitiva”, tendo sido descrito como um fóssil biológico, pelo facto de ser um verdadeiro eucariota que, no entanto, reteve peculiaridades dos ancestrais procariotas (Cacciò & Sprong, 2010) tais como ausência de mitocôndrias, peroxissomas e um aparelho de Golgi tradicional (Cacciò & Sprong, 2010; Plutzer *et al.*, 2010).

O género *Giardia* mantém-se assim como um organismo chave na tentativa de entender a evolução das células eucarióticas (Thompson & Monis, 2004).

3.5 MORFOLOGIA GERAL

Os protozoários do gênero *Giardia* são eucariotas, unicelulares, binucleados, flagelados e anaeróbios facultativos, tolerantes a pequenas quantidades de oxigênio (Cacciò & Sprong, 2010).

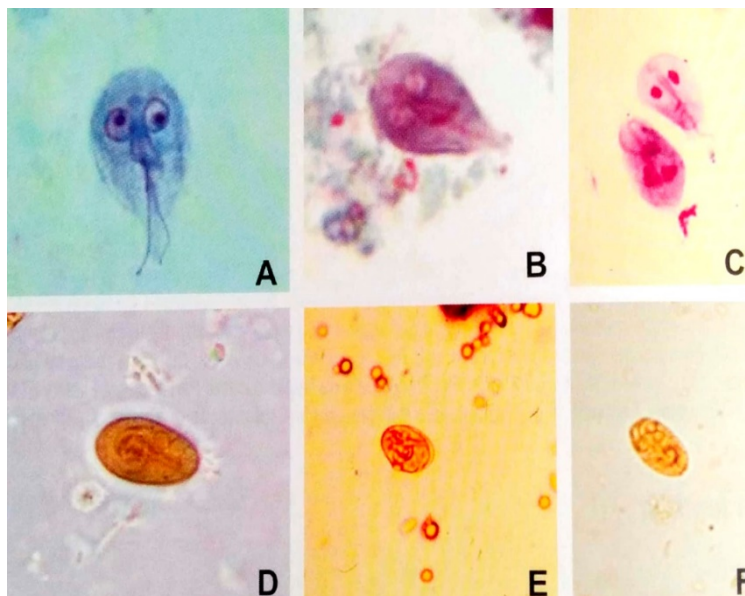
Contudo, foram identificados genes de proteínas consideradas marcadoras mitocondriais. Essas proteínas, IscU e IscS foram encontradas em organelas denominadas mitossomos, consideradas mitocôndrias remanescentes (Tovar *et al.*, 2003).

O ciclo de vida do microrganismo apresenta dois estágios (Figura 10 e 11): trofozoíto, forma vegetativa que adere às microvilosidades intestinais e o quisto, forma infectante, capaz de persistir no ambiente sob diversas condições (Adam, 2001).

Este parasita apresenta um complexo citoesqueleto estruturado por microtúbulos, composto por tubulinas, com a função de conferir a manutenção da forma, a organização da célula, o transporte citoplasmático, a motilidade e a divisão celular (Campanati *et al.*, 2002).

O citoesqueleto de *Giardia* spp. é representado, principalmente, pelo disco adesivo ventral, flagelos, funis, núcleos e pelos corpos medianos (Frasson *et al.*, 2010).

O complexo de Golgi apenas é visível durante a fase de enquistamento, não estando confirmada a sua presença no trofozoíto, embora a observação de membranas empilhadas sugiram a sua existência (Adam, 2001).



A e B - Trofozoítos corados pelo tricrômio;
C - Trofozoítos corados pelo Giemsa;
D, E e F - Quistos corados pela solução de iodo

Figura 10 - Trofozoítos e quistos de *Giardia lamblia* visto ao microscópio (De Carli,2007).

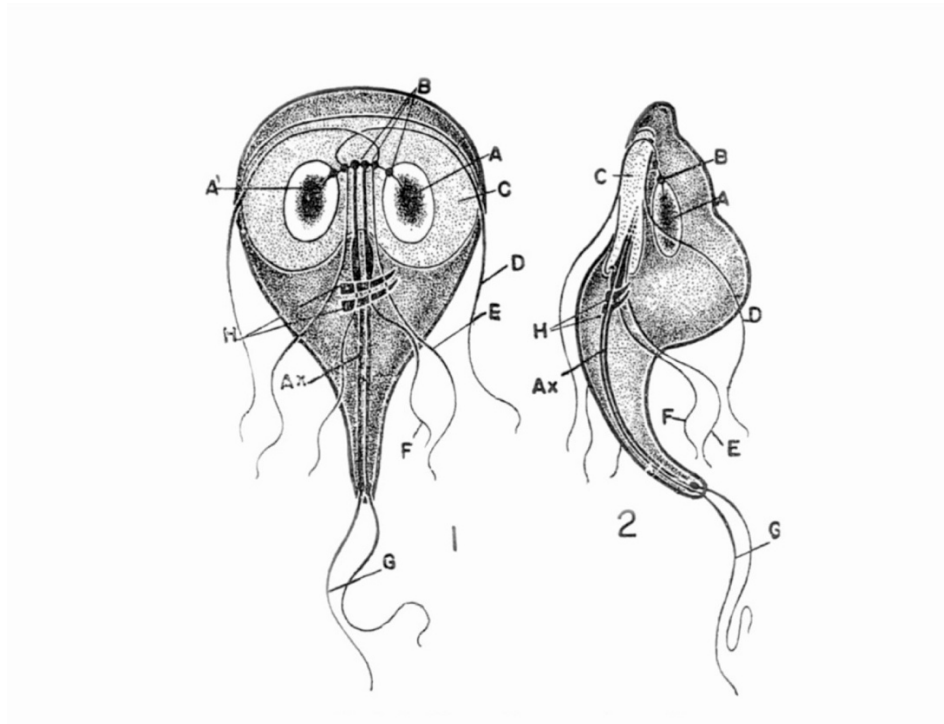


Figura 11 - Diversas estruturas do trofozoíto da *Giardia lamblia*

1-Vista de frente 2- Vista de lado A e A'- Núcleos B- Blefaroplastos
C - Disco ventral D - Flagelo anterior E- Flagelo mediano F- Flagelo ventral
G - Flagelo caudal H - Corpos parabasais Ax- Axonemas (Pessoa, 1967).

3.5.1 Trofozoítos

Os trofozoítos (Figura 11) são a forma ativa do parasita, são móveis e adaptados à fixação nas células epiteliais da mucosa do intestino delgado (Bowman *et al.*, 2006; Ivanov, 2010).

Estão associados à apresentação clínica da doença e ocasionalmente são encontrado nas fezes, principalmente se estas forem diarreicas e que, devido ao aumento do peristaltismo, são expelidos antes de enquistar. Não sobrevive por muito tempo fora do hospedeiro e, por isso, não provocam infecção (Carlin *et al.*, 2006).

Os trofozoítos usualmente dão origem aos quistos infectantes antes de serem eliminados nas fezes (Bowman *et al.*, 2006).

Possuem forma de lágrima, com uma face comprimida formando o disco adesivo. Dentro da célula há dois núcleos, cada um com um grande endossoma, o que faz o organismo parecer a uma raquete de tênis com olhos, quando visto de cima, sob um microscópio (Bowman *et al.*, 2006).

Pessoa (1967), descreveu o corpo de *Giardia* spp. como tendo forma de uma pera, arredondado anteriormente e delgado posteriormente.

De acordo com Ivanov (2010), este protozoário é piriforme, com simetria bilateral e suas dimensões variam de 12 a 15µm de comprimento por 6 a 8µm de largura.

A superfície dorsal flexível pode ser levantada para cima em direção à superfície convexa (Taylor *et al.*, 2010).

Na superfície ventral encontra-se, de cada lado, um disco, em forma de ventosa que permite o flagelado se fixar nas células epiteliais (Pessoa, 1967).

A percepção das diferenças entre espécies é detetável a nível molecular e morfológico. Em particular através da forma do trofozoíto, dos corpos medianos e do tamanho do disco ventral (Monis *et al.*, 2003).

3.5.2 Disco adesivo ventral

É uma estrutura rígida e indispensável para a sobrevivência do parasita uma vez que o mesmo permite a sua aderência às vilosidades intestinais (Figura 12 e 13) (Dawson, 2010).

O disco ventral é específico de *G. lamblia* e é muito importante para a constituição do citoesqueleto. Apresenta um formato côncavo que cobre a totalidade da superfície ventral com uma profundidade máxima de 0,4 mm (Adam, 2001). Formado por um arranjo espiral de microtúbulos interligados por pequenos filamentos/fitas (Crossley & Holberton, 1983).

Cada microtúbulo tem três estruturas acessórias: dois filamentos laterais curtos conectando-o à membrana ventral e uma projeção com aspecto de faixa (denominada ribbon) que se estende até a região dorsal do citoplasma do disco (Holberton, 1973).

O centro do disco adesivo apresenta uma região que não possui proteínas do citoesqueleto, chamada de área descoberta ou zona nua. Ocasionalmente, uma protrusão é vista na zona nua, contendo glicogénio e proteínas do citoesqueleto, mas sem função conhecida (Ringqvist, 2009).

Em 1981, Holberton e Ward, identificaram as proteínas que faziam parte do disco, tendo sido designadas como giardinas (Crossley & Holberton, 1983).

Nos ribbons dorsais dos microtúbulos são encontradas as giardinas (a, b e g). Segundo Adam (2001), já foram identificadas 23 formas de giardinas e algumas delas como a1, a2, b e g foram submetidas à clonagem e sequenciamento do genoma. O conhecimento dos genes, que codificam estas proteínas, possibilitou o desenvolvimento de técnicas fundamentadas em biologia molecular (PCR, Reação em Cadeia da Polimerase) para detecção específica do protozoário *Giardia*, presente em fezes de humanos, de animais e na água (Mahbubani *et al.*, 1992).

Somente nos microtúbulos do disco ventral são encontradas outras proteínas denominadas tubulinas, mas não nos ribbons nem nos flagelos. Suspeita-se que drogas

usadas para tratamento da giardiose, reagem com estas proteínas tubulinas e giardinas impedindo a aderência do parasita à mucosa e causando rompimento do disco ventral (Adam, 2001).

O disco possui forma de ferradura (figura 13), tendo em sua extremidade externa uma estrutura fibrosa densa denominada crista lateral. Durante a adesão do parasita, os flagelos ventrais batem rápido e retiram líquido debaixo do disco ventral. A crista lateral sela esse conjunto no substrato, criando uma zona de baixa pressão, o que ocasionaria a adesão do parasita ao epitélio intestinal (Holberton, 1973).

Palm e colaboradores (2005) identificaram proteínas da família da giardina (Alpha-1, Beta, Delta e Gamma) e duas isoformas de tubulina (Alpha-2 tubulina e Beta-tubulina), além de uma nova proteína, a SALP-1, que fazem parte da constituição do disco ventral.

Terra (2008), em sua tese de mestrado identificou 13 proteínas no disco ventral por espectrometria de massas. Destas 13 proteínas, 9 apresentam função e localização conhecidas, o que indica a importância dos estudos relacionados ao parasita.

Durante o processo de enquistamento o disco ventral sofre algumas modificações. Observou-se que o disco ventral sofre uma quebra, formando um conjunto com quatro fragmentos que ficam estocados dentro do quisto (Palm *et al.*, 2005).

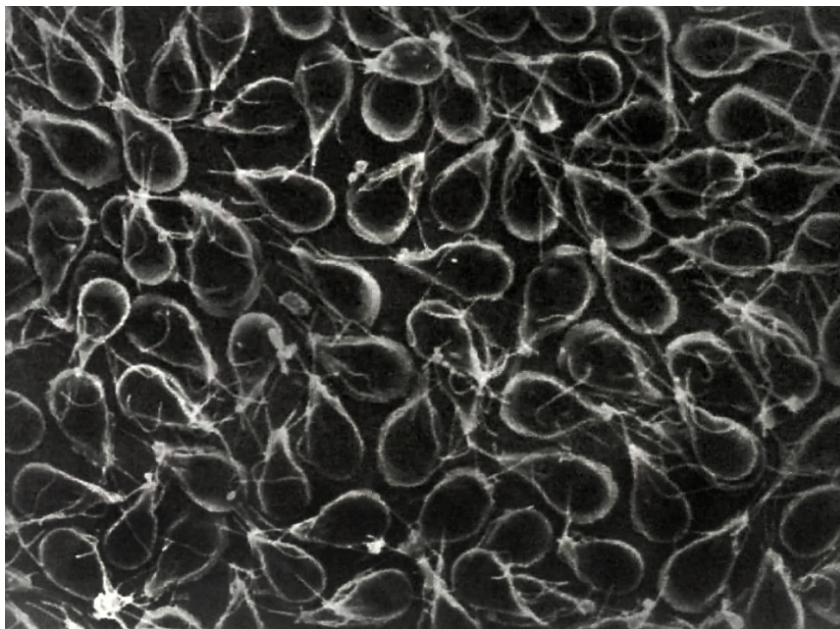
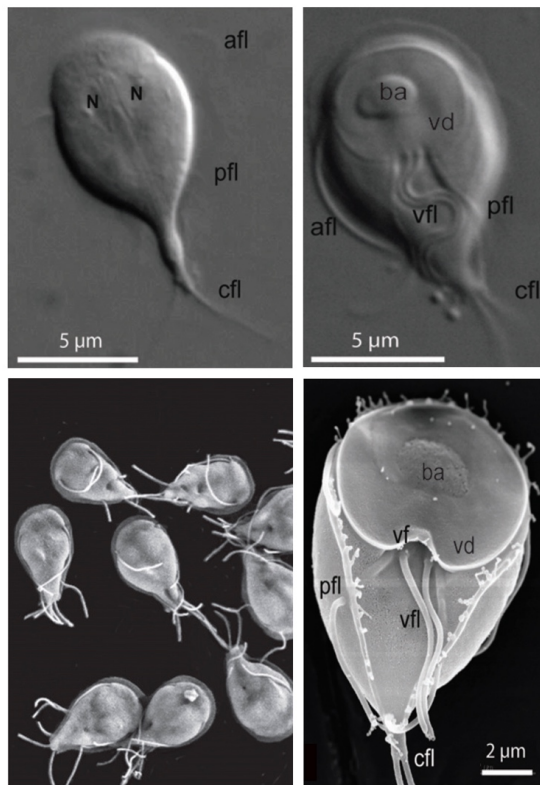


Figura 12 - População de *G. duodenalis* cultivada sob um substrato de colágeno, onde os trofozoítos se fixam por meio do disco ventral (Rey, 2008).



vd = disco ventral, **ba** = área descoberta (região localizada no centro do disco ventral que não possui microtúbulos.) O microtúbulo do citoesqueleto é composto por 5 elementos: 8 flagelos organizados em pares (**afl** = flagelo anterior, **pfl** = flagelo postero lateral, **cfl** = flagelo caudal, e **vfl** = flagelo ventral), o disco ventral (**vd**), o corpo mediano (**mb**), e o funil (**fn**). Os trofozoítos aderem às surfaces via **vd**. O disco ventral ocupa a parte anterior e porção ventral da célula: composto por microtúbulos em forma de espiral, área circular com vesículas e área descoberta (**ba**).

Figura 13 - Citoesqueleto estruturado por microtúbulos e o disco ventral da *Giardia lamblia* (Adaptado de Dawson, 2010).

3.5.3 Núcleos

Os núcleos estão localizados no interior do citoplasma, em que as estruturas são quase sempre duplas e simétricas (Rey, 2008).

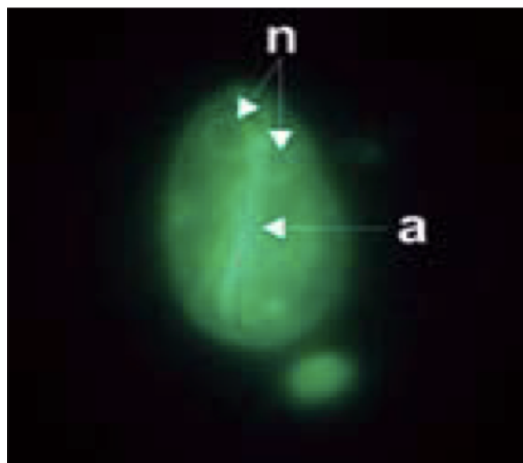
Os trofozoítos possuem dois núcleos ovais, tendo um grande cariossoma central, que pode se apresentar como uma massa de grânulos ou como uma massa sólida e oval (Pessoa, 1967; Faust *et al.*, 1970; Rey, 2008).

Há dois axonemas paralelos (Figura 14), que se originam a uma certa distância da extremidade anterior e terminam na extremidade posterior em dois blefaroplastos, enquanto a extremidade anterior desses axonemas apresenta (cada uma) um blefaroplasto, em conexão com uma estrutura chamada centróssoma, no polo anterior do núcleo (Pessoa, 1967).

A membrana nuclear é dupla, perfurada por poros nucleares que permitem o transporte entre membranas (Benchimol, 2004).

Os filamentos de actina do citoesqueleto parecem importantes para a rigidez espacial, para a posição dos núcleos e possivelmente também pela sua segregação sobre a divisão celular (Benchimol, 2005).

Cada núcleo contém cinco cromossomas, com iguais quantidades de DNA, que se replicam quase ao mesmo tempo (Yu *et al.*, 2002; Benchimol, 2005). Além disso, os núcleos diploides apresentam a atividade transcricional praticamente idêntica (Yu *et al.*, 2002).



Visualização dos microtúbulos marcados com FLUTAX-2 nos cistos de *G. lamblia*. n indica núcleo; a, axonemas. Uma levedura é observada abaixo da estrutura cística. Ampliação original 1.000x.

Figura 14 - Quisto de *G. lamblia* com seus núcleos e axonemas (Frasson *et al.*, 2010).

3.5.4 Flagelos

Os flagelos, em número de oito, originam-se dos corpos basais situados próximos aos núcleos e emergem das regiões anterior, posterior, ventral e caudal do trofozoíto (Adam, 2001).

A sua função está relacionada com a mobilidade, mas também podem impedir que os trofozoítos sejam arrastados pelos movimentos peristálticos intestinais (Frasson *et al.*, 2010), entretanto, não estão envolvidos na adesão ao intestino do hospedeiro (Adam, 2001).

A atividade do flagelo imprime-lhes um deslocamento rápido e irregular, porém, aderem-se em grande quantidade à superfície da mucosa, graças ao disco adesivo ventral, chegando a formar um revestimento extenso, podendo assim interferir na absorção de gorduras e vitaminas lipossolúveis, especialmente vitamina A (Rey, 2008).

Assume-se que os flagelos possam ter um papel importante na fase de desenquistamento, pelo facto de surgirem precocemente neste processo (Adam, 2001).

3.5.5 Corpos Medianos

Os corpos medianos são componentes do citoesqueleto, sendo estruturas exclusivas da *Giardia* spp., razão pela qual têm sido utilizados como ferramenta taxonômica. Sua morfologia ajuda a definir as características das diferentes espécies. Estão situados no meio do corpo e dorsalmente aos flagelos caudais (Pessôa, 1967; Adam, 2001).

Eles são constituídos de um feixe de microtúbulos (Adam, 2001), cuja função dessa estrutura ainda é pouco esclarecida, mas alguns autores acreditam que o corpo mediano seja o local de estoque de microtúbulos pré-polimerizados que serão usados no disco ventral (Feely *et al.*, 1990).

3.5.6 Funis

Os funis são estruturas que fazem parte do complexo microtubular do género *Giardia*, sendo responsável pela ancoragem dos flagelos posteriores e pelos movimentos da região caudal do trofozoíto (Benchimol *et al.*, 2004).

3.5.7 Quisto

O quisto (Figura 15 e 16) é o estágio de resistência ambiental e a forma de transmissão do parasita. É imediatamente infectante para o hospedeiro suscetível e geralmente está presente em fezes normais dos cães assintomáticos (Carlin *et al.*, 2006).

Poucos quistos (10-100) podem iniciar uma infecção (Ballweber, 2010; Gruffydd-Jones *et al.*, 2013).

O quisto apresenta uma forma elíptica ou oval, medindo cerca de 8-12µm por 7-10µm, protegido por uma parede espessa e rígida (Wenyon, 1965), sendo o principal constituinte um glicídio (β -1,3-N-acetyl-D-galactosamina), possuindo ainda mais duas membranas internas (Ringqvist, 2009).

Estas membranas são responsáveis pela sobrevivência em águas superficiais a baixas temperaturas durante semanas ou meses e pela resistência à cloração e ao ácido gástrico do hospedeiro. A elevada resistência dos quistos de *Giardia* spp. assume uma importância determinante na capacidade de transmissão hídrica do parasita (Huang & White, 2006).

Os quistos possuem uma taxa metabólica de 10 a 20% daquela encontrada nos trofozoítos, o que contribui para sua viabilidade no meio ambiente (Adam, 2001).

Podem conservar sua vitalidade no meio exterior durante aproximadamente 60 dias e morrem a uma temperatura de 64 °C (Pessoa, 1967).

No seu interior existem corpos medianos, axonemas lineares, e de acordo com o seu estado de maturidade pode ter dois núcleos (imaturo) ou quatro núcleos (maduros), sendo uma célula tetraplóide (Faust, 1970).

Nas preparações coradas pelo Lugol, e melhor ainda, nas coradas pela hematoxilina, veem-se as estruturas internas que estão duplicadas em relação ao trofozoíto. Apresenta quatro núcleos pequenos, aproximadamente circulares com um cariossomo central, axóstilos

e corpos basais. A disposição dos núcleos, entretanto, pode ser irregular, estando os quatro agrupados próximos a um dos pólos ou divididos entre os dois extremos (Figura 16) (Rey, 2008).

O quisto maduro contendo dois trofozoítos potenciais é a forma mais frequente encontrada nas fezes dos hospedeiros infectados (Bowman *et al.*, 2006).

As estruturas que são observadas nos trofozoítos estão contidas de forma desordenada nos quistos (Silva, 2010).

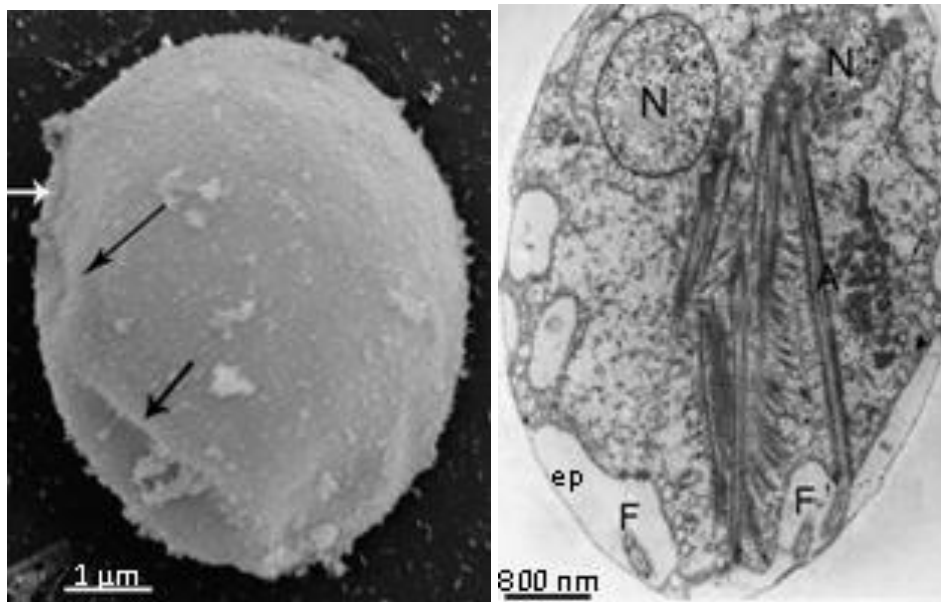


Figura 15 - Quisto de *Giardia duodenalis* (Adaptado de Midlej & Benchimol, 2009).
Setas, fenda de encerramento; **N**, núcleos; **F**, flagelos; **A**, axonemas; **ep**, espaço peritrófico.

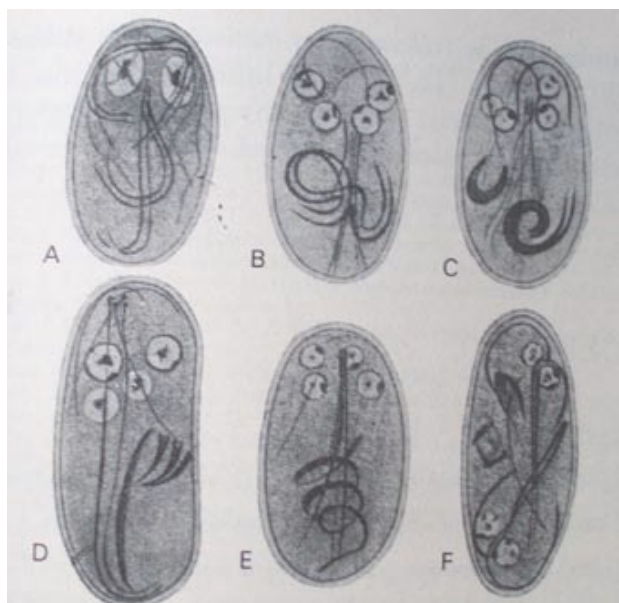


Figura 16 - ilustração das diferentes formas do quisto de *Giardia* (Wenyon, 1965).
A) Forma com dois núcleos; **B-E)** Forma com quatro núcleos; **F)** Forma com dois núcleos em cada pólo.

3.6 BIOLOGIA

O protozoário alimenta-se das substâncias líquidas do meio intestinal, mas possivelmente pode ingerir o conteúdo de células epiteliais por meio do seu disco adesivo ventral (Pessoa, 1967; Rey, 2008). O poder de adesão das ventosas é suficiente para impedir que sejam arrastadas pelos movimentos peristálticos. Sendo assim, os trofozoítos são encontrados praticamente, em fezes líquidas ou semilíquidas e os quistos em fezes formadas (Pessoa, 1967).

Seu desenvolvimento é favorecido em pH compreendido entre 6,38 a 7,02 (Rey, 2008).

O Metabolismo de carboidratos da *G. duodenalis* é similar ao de outros parasitas anaeróbios do intestino e ao de *Trichomonas*. Todas as enzimas do metabolismo glicolítico estão no citossol, não existindo hidrogenossomos. Formam-se ácido acético, CO_2 e etanol (Figura 17) (Rey, 2008).

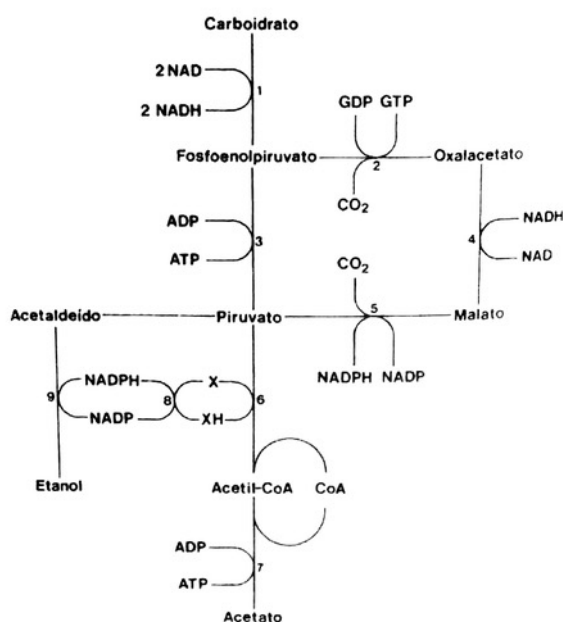


Figura 17 - Metabolismo dos carboidratos em *Giardia duodenalis* dando como produtos finais etanol, ácido acético e CO_2 (Rey, 2008). As enzimas envolvidas são: 1- glicolíticas; 2- carboxiquinase do fosfoenolpiruvato; 3- piruvatoquinase; 4 e 5 - desidrogenase metálica; 6 - piruvato-sintase; 7- acetil-CoA; 8 - desidrogenase; 9 - óxido-reductase.

3.7 CICLO BIOLÓGICO

O ciclo de *Giardia* é monoxeno (Figura 19), European Scientific Companion Animal Parasites (ESCCAP) (2015), e se inicia pela ingestão de quistos presentes na água, alimentos contaminados ou fezes infectadas (Thompson & Monis, 2004). No entanto, sabe-se que a

transmissão direta através da via fecal-oral, de animal para animal ou de animal para o homem também pode ocorrer (Adam, 2001).

Mediante à exposição ao suco gástrico, pH ácido e enzimas pancreáticas, o quisto se rompe. Este processo é conhecido como desenquistamento e ocorre na região anterior do intestino delgado. Um quisto se transforma em dois trofozoítos (Adam, 2001; Thompson *et al.*, 2008, Ringqvist, 2009).

Os trofozoítos aderem-se e colonizam a superfície da mucosa do intestino delgado causando a doença que muitas vezes pode ser assintomática. Neste momento se multiplicam assexuadamente por divisão binária (Wenyon, 1965; Adam, 2001; Gruffydd-Jones *et al.*, 2013; ESCCAP, 2015).

Existem fatores que influenciam na fixação do trofozoíto, podendo ser inibida por temperaturas abaixo de 37°C, aumento dos níveis de oxigênio ou diminuição da concentração de cisteína. Estudos *in vitro*, demonstraram que o pH ótimo é de 4,0 e que as proteases pancreáticas facilitam o processo, ocorrendo de forma rápida e demorando cerca de 10 a 15 minutos (Adam, 2001).

A ação dos sais biliares e dos mecanismos de resposta imunológica do hospedeiro, responsáveis pelo descolamento dos trofozoítos das mucosas, induzem o enquistamento (Figura 18) possibilitando assim a liberação dos quistos juntamente com as fezes no meio ambiente (Ortega & Adam, 1997).

Quando o processo de enquistamento está completo, a porção exterior dos trofozoítos torna-se arredondada e filamentosa, estes perdem a mobilidade e deixam de estar fixos à mucosa intestinal (Adam, 2001).

A eliminação dos quistos por um hospedeiro infectado não é constante, podendo desaparecer das fezes por períodos de 7 a 10 dias. O número de quistos presente nas fezes infectadas, variam de 300 milhões a 14 bilhões (Pessoa, 1967).

Em caso de diarreia intensa, os trofozoítos são liberados junto com os quistos no ambiente através das fezes. Contudo, os trofozoítos não sobrevivem no meio externo. (Adam, 2001).

Os quistos encontrados nas fezes podem contaminar água, alimentos, pessoas e animais, fechando assim o ciclo.

O período pré patente da *Giardia* em cães e gatos é de 5-16 dias, 7-8 dias em bovinos, 6-10 dias em caprinos e 10-21 em ovinos, sendo a liberação dos quistos cíclica (Thompson *et al.*, 2008).

A temperatura interfere no ciclo biológico do protozoário, onde a maior incidência é observada em estações do ano em que a temperatura é mais fria. As variações sazonais são um dos fatores mais comuns para a prevalência de parasitas em cães (Silva *et al.*, 2007).

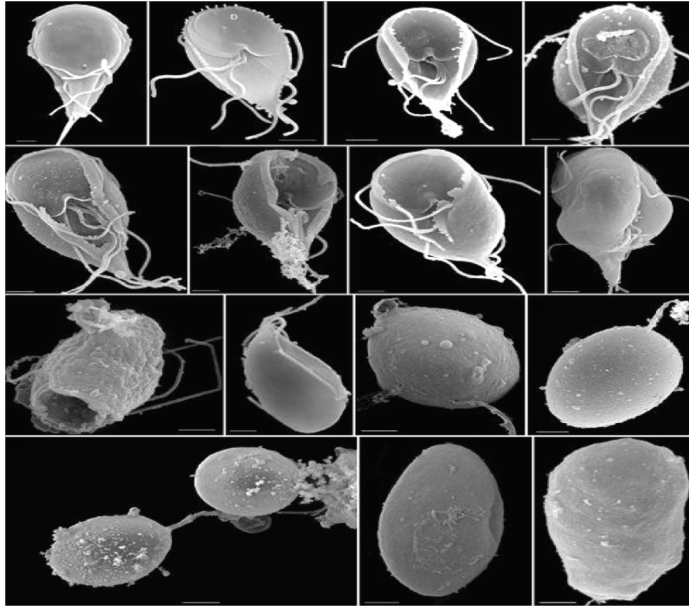


Figura 18 - Enquistamento de trofozoíto de *G. duodenalis* (Midlej & Benchimol, 2009).

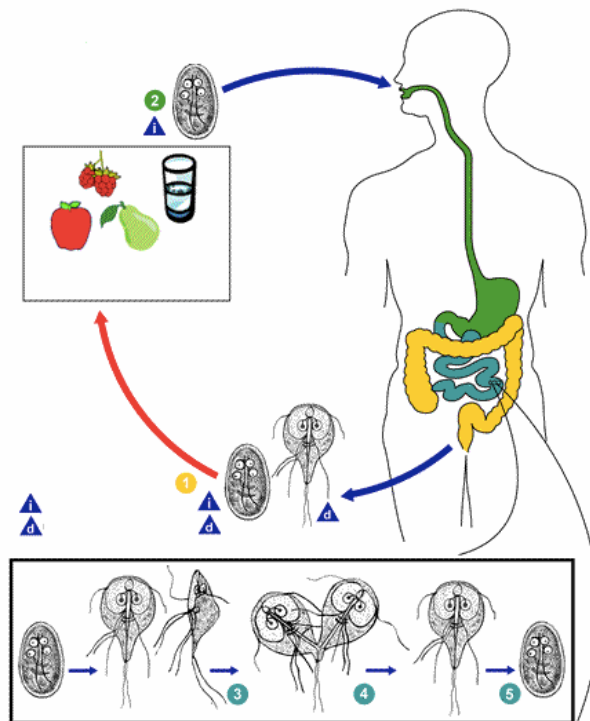


Figura 19 - Ciclo *Giardia duodenalis* (Adaptado de: CDC-USA Center for Disease Control)

<https://www.cdc.gov/parasites/giardia/pathogen.html> Acessado 25.11.2017

(1). Os quistos são resistentes e podem sobreviver vários meses em água gelada. A infecção ocorre pela ingestão dos quistos via água, alimento contaminado ou contaminação fecal-oral (2). No intestino delgado ocorre o processo de desenquistamento em que cada quisto produz dois trofozoítos (3). Os trofozoítos se multiplicam por divisão longitudinal binária e permanecem no lúmen do intestino delgado proximal, onde se aderem à mucosa através do disco ventral (4). A criptogamia ocorre quando os parasitas transitam para o cólon. O quisto é o estágio mais comum em fezes não diarreicas, sendo o estágio infectante (5).

3.8 EPIDEMIOLOGIA

Os protozoários intestinais do género *Giardia* são parasitas de distribuição mundial, sendo considerado um dos dez parasitas mais comuns no homem e uma das principais causas de diarreia não viral em humanos e animais (Thompson *et al.*, 2000). Aproximadamente 200 milhões de pessoas na Ásia, África e América Latina têm giardiose sintomática e todos os anos são descritos cerca de 500.000 novos casos (Cacciò & Ryan, 2008).

Sua prevalência apresenta índices variáveis, dependendo da localização geográfica, da população estudada e do método utilizado para o diagnóstico (Bouزيد *et al.*, 2015). A possibilidade de os moluscos bivalves poderem acumular quistos também já foi demonstrada, indicando que o seu consumo sem tratamento térmico prévio possa levar a casos de doença (Plutzer *et al.*, 2010).

Em países desenvolvidos a prevalência de *Giardia* em pacientes apresentando diarreia varia de 3% a 7%, e nos países em desenvolvimento cerca de 20% (WHO, 2002).

Ballweber *et al.* (2010) relataram que a giardiose é uma doença de notificação obrigatória em diferentes países industrializados, tais como Canadá, Japão, Estados Unidos e Nova Zelândia.

O seu maior impacto clínico em humanos está ligado à crianças em seus primeiros anos de vida (Pitães *et al.*, 2015). As crianças e os animais jovens são particularmente susceptíveis às infecções pelo protozoário devido ao sistema imunológico não completamente desenvolvido (Guerden *et al.*, 2010).

Alguns estudos indicam que há maior sensibilidade em animais com menos de um ano de idade do que em adultos, sugerindo o desenvolvimento de certo grau de resistência com o aumento da idade. Os animais que tem maior contacto com a rua estão mais expostos, devido ao maior contato com água, alimentos e fezes de animais ou de pessoas contaminadas (Kirkpatrick, 1987).

Bouزيد *et al.* (2015) encontraram valores de 15,2% para cães e 12% para gatos em uma análise da prevalência da *Giardia* no mundo. Sendo em gatos um maior número em animais jovens. As regiões industriais do norte da Europa e da América do Norte apresentaram menor prevalência do que o resto do mundo.

O protozoário tem sido relatado nas fezes de cães e gatos em diferentes países da Europa. Epe *et al.* (2010), em um estudo realizado em 377 clínicas de 7 países da União Europeia, mostrou que *Giardia* é um agente entérico comum em cães e gatos (Tabela 3).

Estudos realizados na Bélgica e em Portugal para avaliar a prevalência de *Giardia* spp. em canis municipais e abrigos, revelaram prevalências de 43,9% (Claerebout *et al.*, 2009) e 61,1% respectivamente (Lebre, 2011), sendo superiores ao valor global europeu.

Em Portugal, observou-se uma preocupação com o parasita em humanos, sendo encontrado alguns estudos referentes a *Giardia duodenalis*. A infecção em crianças assintomáticas no distrito de Lisboa foi de 6,8% e o autor mostrou uma associação positiva entre a prevalência do parasita e o contato com animais de companhia, especialmente cães (Julio *et al.*, 2012).

Tabela 3 - Prevalência da *G.duodenalis* em cães e gatos na Europa (Adaptado de Epe *et al.*, 2010)

País	Cães	Gatos
<i>Bélgica</i>	28,47 %	26,32 %
Alemanha	23,75 %	24,59 %
Espanha	25,10 %	14,59 %
França	27,53 %	15,31 %
Holanda	24,62 %	13,20 %
Inglaterra	14,62 %	11,54 %
Itália	25,89%	17,71%

Pitães *et al.* (2015), ao estudar dois canis na região de Viseu, com base em três métodos diagnóstico: Speed Giardia, coprologia através do método de flutuação com sulfato de zinco e esfregaços fecais com coloração pela técnica Ziehl-Neelsen, observou as seguintes prevalências: 21,6%, 19,6% e 17,6%. Parâmetros como sexo, idade e raça foram também avaliados, não sendo descrita nenhuma associação entre os mesmos. Resultados descritos por Epe *et al.* (2010) em países europeus (Tabela 3) vão ao encontro ao valor descrito por Pitães *et al.* (2015).

Entretanto, estes valores são relativamente superiores aos de outros estudos efetuados em várias regiões e populações caninas de Portugal, apresentando uma prevalência de 23 % em Évora (Ferreira *et al.*, 2011) e 61,1% em Lisboa (Lebre, 2011).

O valor de 9% de animais positivos foi obtido em um estudo realizado em gatos na região de Lisboa, a partir da deteção de *Giardia duodenalis* pelo método de imunocromatografia (Morais, 2016). Este valor está abaixo dos resultados obtidos em estudos feitos em Portugal em cães, onde as prevalências foram de 15,5 % e 17,5% (Neves *et al.*, 2014; Maia *et al.*, 2013).

Braga (2017), observou a prevalência de 33% para *Giardia* spp. em canídeos da região de Beja, ressaltando que ambientes de canil conjugam características ideais para a infecção contínua por parasitas com ciclo de vida direto, alguns dos quais com potencial zoonótico.

Enquanto Carvalho (2017), em um rastreio de parasitas gastrointestinais e pulmonares, em gatos de gatis nos distritos de Lisboa e Setúbal, encontrou o valor de 3,9% para a *Giardia* spp.

As prevalências de infecções em gatos errantes na região de Évora variaram entre 5% para gatos em liberdade e 50% para os animais em gatis (Ferreira *et al.*, 2011).

Correia (2017), apresentou prevalência de 62,5% para o parasita gastrointestinal *Giardia duodenalis*, através de questionários direcionados a tutores de gatos e médicos veterinários, em Portugal. Este valor é concordante com estudos publicados por diversos autores que destacam este protozoário como um dos agentes etiológicos de diarreias de origem parasitária mais comum a nível global (Ali & Hill, 2003).

Em bovinos leiteiros, na região de Entre Douro e Minho, quistos de *Giardia duodenalis* foram encontrados em 18% das amostras fecais analisadas (Silva, 2017).

3.9 PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS

A presença da *Giardia lamblia* na mucosa duodeno-jejunal, inseridas nas células por meio de seus discos adesivos ventrais, podem induzir irritação ou agravar condições inflamatórias existentes, ocasionando assim, diarreia crônica (Pessoa, 1967; Faust, 1970; Halliez & Buret, 2013).

Quando os trofozoítos ou quistos de *Giardia* spp. estão presentes em pequenos números, não produzem doença clínica, no entanto, em grande quantidade ou em um hospedeiro com baixa resistência imunológica, pode ocorrer quadros de diarreia (Carlton & McGavin, 1998).

O número de quistos ingeridos desempenha um papel importante na patogênese da doença. Em seres humanos, 10 a 100 quistos são necessários para estabelecer uma infecção, já em animais a ingestão de somente 10 quistos é capaz de causar a infecção (Payne & Artzer, 2009).

Objetos inanimados, como tigelas de alimentos e gaiolas em gatis e em canis podem servir como reservatório de quistos infectantes (Brincker *et al.*, 2009).

Acredita-se que a patofisiologia envolve a apoptose dos enterócitos, atrofia das vilosidades, disfunção da barreira intestinal e ativação dos linfócitos o que leva a uma má

absorção dos nutrientes no intestino delgado e aumento do trânsito intestinal (Halliez & Buret, 2013).

As perturbações mecânicas, determinadas por um grande número de parasitas, na mucosa duodenal interferem na absorção de gorduras, levando o paciente a desenvolver deficiência de vitaminas, principalmente as lipossolúveis e o aparecimento de diarreia com esteatorreia, cólicas abdominais, evacuações frequentes e emagrecimento (Pessoa, 1967; Rey, 2008).

A esteatorreia deve-se a diminuição da atividade da lipase, ao aumento da produção de mucina e à diminuição da absorção intestinal (Guerden *et al.*, 2010).

Devido à redução de absorção intestinal, são também comuns alguns sinais dermatológicos provocados por deficiência de vitaminas lipossolúveis (Ettinger, 1992).

Os parasitas em grande número inibem a absorção de açúcares simples e dissacarídeos que são fermentados pela flora bacteriana, criando gás intestinal. Os açúcares têm efeito osmótico e atraem água para a luz do intestino. O resultado é a distensão do intestino delgado por líquidos e gases (Carlton & McGavin, 1998).

Troeger¹ *et al.* (2007), relatou que a infecção por *Giardia* pode causar hipersecreção de íons clorídricos. Esta mudança é causada pela combinação do parasita, toxinas e fatores imunológicos do hospedeiro como células linfocitárias CD8 + (Thompson *et al.*, 2008 p.21).

Os sinais clínicos de giardiose variam de discreto a grave, podendo ser persistentes, intermitentes ou auto limitantes (Nelson & Couto, 2008).

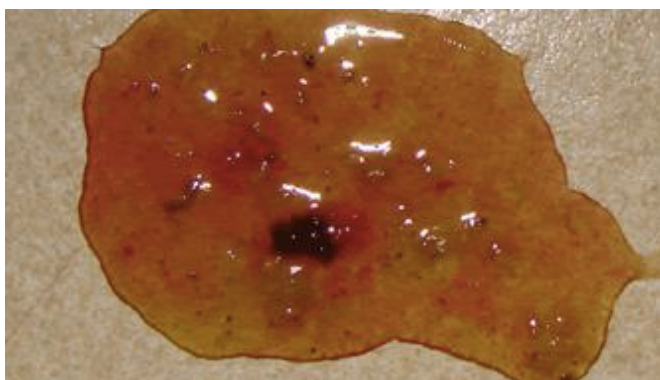


Figura 20 - Diarreia causada por *Giardia* (Cavalini & Zapa, 2011).

Podem ser confundidos com outras infecções gastrointestinais parasitárias, virais ou bacterianas. Também se assemelham às alergias de origem alimentar, à enfermidade da má absorção, à gastroenterite induzida por fármacos e às enfermidades alérgicas (Samuel *et al.*, 2001).

¹ Troeger, H., Eppler, H.J., Schneider, T., Wahnschaffe, U., Ullrich, R., Burchard, G.D., et al. (2007). Effect of chronic *Giardia lamblia* infection on epithelial transport and barrier function in human duodenum. *Gut* 56, 316–317

A giardiose é considerada a principal causa de diarreia em animais de produção jovens, com mais de 30 dias de idade, levando à diminuição da eficiência alimentar e do desenvolvimento do animal com repercussão no peso da carcaça, tendo um grande impacto econômico nos sistemas de produção (Ivanov, 2010)

A sintomatologia nos Humanos difere de indivíduo para indivíduo, podendo depender de vários fatores, tais como o tamanho do inóculo, duração da infecção, fatores individuais do hospedeiros e interferência de fatores relacionados ao parasita (Wolfe, 1992).

A doença pode apresenta-se subclínica, principalmente em ruminantes, cães e gatos. A infecção em animais como chinchilas e aves já foram reportados casos fatais (Samuel *et al.*, 2001).

Taylor *et al.* (2010), descreveram como principais sinais clínicos de animais infectados com o parasita, diarreia pastosa crônica, perda de peso, letargia e desenvolvimento insuficiente em filhotes.

Em cães a diarreia pode iniciar antes de cinco dias após a exposição ao agente (Bowman *et al.*, 2006). Sendo aguda ou crônica, ocasionando letargia, perda ou diminuição no ganho de peso apesar destes manterem o apetite normal (Pitães *et al.*, 2015).

Em gatos, os trofozoítos são geralmente encontrados no jejuno e no íleo em vez do duodeno. O principal sinal clínico é a diarreia persistente que resulta em má absorção intestinal. As fezes são mucoides, pálidas, moles e fetidas (Figura 20). Em um relato de caso de um gato infectado por *Giardia* spp., os autores concluíram que a giardiose felina é uma doença que pode ocasionar diferentes manifestações clínicas, dentre estas a diarreia hemorrágica (Silva *et al.*, 2017).

Em vitelos, foi associada a diarreia crônica marcada por alta morbidade. Já em borregos, os animais infectados apresentam uma demora para atingirem o peso de abate (Bwoman *et al.*, 2006).

Os sinais clínicos estão presentes, principalmente em animais jovens, enquanto que nos adultos a doença pode ser subclínica, a não ser que existam condições como sobrepopulação, aumento de stress e problemas dietéticos (Barr, 2006).

No exame físico os animais podem apresentar-se normais ou revelar evidência de diarreia, desidratação e perda de peso (Kirkpatrick, 1987).

3.10 DIAGNÓSTICO

A detecção da *Giardia* spp. não é importante somente sob o ponto de vista para o tratamento clínico da doença, mas também para limitar a infecção pelos quistos e prevenir a zoonose (Costa *et al.*, 2016; Olson, 2010).

O diagnóstico é geralmente subestimado, apesar do género *Giardia* ser um dos parasitas de grande prevalência em cães e gatos (Tams, 2005; Olson *et al.*, 2010). A falha ao desconsiderá-lo como diagnóstico diferencial, erro ao reconhecer o microrganismo, o uso de métodos inapropriados para análises fecais e a excreção intermitente dos protozoários nas fezes de hospedeiros infectados, são fatores que dificultam o diagnóstico (Sogoyar, 2001).

Existem elementos que interferem no resultado dos exames coprológicos e por esta razão, devem ser levados em consideração no momento da análise das amostras. Estes fatores são: a consistência das fezes, o padrão de excreção dos quistos, o uso de conservantes nas fezes e produtos que podem mascarar o resultado das análises (Sogoyar, 2001).

Em fezes formadas tem-se normalmente a presença de quistos e em fezes de consistência pastosa ou líquida a presença de trofozoítos, que não permanecem por mais de 30 minutos no meio ambiente (Sogoyar, 2001; Tams, 2005).

Existem hospedeiros com padrões diferentes de eliminação dos quistos. Alguns com frequência mais alta do que outros, podendo assim ser uma barreira no diagnóstico. (Sogoyar, 2001; Pitães *et al.*, 2015). Muitos autores indicam a necessidade de se realizar o exame coprológico com três amostras fecais em dias consecutivos ou alternados (Sogoyar, 2001; Tams, 2005; Costa *et al.*, 2016).

Muitas vezes não é possível examinar as fezes recém eliminadas, por esta razão, algumas substâncias são usadas com o objetivo de preservar as estruturas do parasita. Entre elas estão a formalina, o álcool polivinílico e o merthiolate-iodo-formol. Alguns produtos podem mascarar o resultado das análises. Sogoyar (2001) citou antiácidos, antibióticos, óleos laxativos ou preparações para enema como potenciais causadores de alterações morfológicas ou o desaparecimento do parasita nas fezes.

O diagnóstico tem como base a confirmação da presença do parasita através da visualização do quisto, do trofozoíto ou de ambos os elementos. Outra forma de diagnóstico é a identificação do seu material genético ou antigénios utilizando amostras fecais ou intestinais do hospedeiro (Levine, 1973; Samuel *et al.*, 2001; Taylor *et al.*, 2010).

A ausência do quisto ou do trofozoíto nas amostras fecais, não exclui a giardiose (Tangtrongsup, 2010).

Segundo Tams (2005), todos os cães e gatos apresentando diarreia e ou vômito devem ser avaliados quanto à presença de parasitas, incluindo a *Giardia* spp..

Existem diferentes métodos de diagnóstico, que apresentam vantagens e desvantagens que podem ser observados na Tabela 4.

Os exames diagnósticos padrões usados em qualquer situação clínica, devem incluir esfregaços frescos com solução salina e flutuação com sulfato de zinco (Tams, 2005).

O esfregaço fecal direto pode ser utilizado na clínica para avaliar a presença de trofozoítos de *Giardia*. Deve-se utilizar a camada superficial das fezes ou o muco se presente pois os trofozoítos encontram-se normalmente nestas áreas. A aplicação de solução de Lugol ou azul-de-metileno nos esfregaços ajuda a visualizar as estruturas internas dos trofozoítos. Uma amostra refrigerada ou uma amostra que seja analisada várias horas depois da recolha, provavelmente não terá organismos vivos (Tangtrongsup & Scorza, 2010).

Tabela 4 - Vantagens e desvantagens de cada método de diagnóstico (Samuel *et al.*, 2001)

Amostra	Método	Comentário
Fezes	Esfregaço fecal, exame directo	Econômico, pouco sensível
Fezes	Esfregaço fecal corado com Lugol ou tricrômio	Econômico, os quistos podem estar ocultos no sedimento
Fezes	Flutuação com sacarose e corado com Lugol	Econômico, remove sedimento
Fezes	Flutuação com sulfato de zinco e corado com Lugol	Econômico, remove sedimento
Fezes	Flutuação seguida de imunofluorescência	Mais sensível, mais dispendiosa, maior especificidade
Fezes	ELISA	Rápido, maior especificidade, dispendioso
Fluído duodenal	String test	Impraticável em animais
Biopsia duodenal	Exame direto ou corado com giemsa	Requer endoscopia
Soro	Só funciona em giardiose crónica, útil para seroprevalência	
Teste cutâneos	Imunoreactividade a proteínas da <i>Giardia</i> intradérmicas	Nunca feito em animais, útil em giardiose crônica, invasivo.
Histologia	Demonstração de trofozoítos em tecido fixado	Bom em caso de biopsia e exame post-mortem

A técnica de flutuação com sulfato de zinco é descrita na Tabela 5. É o teste coprológico mais confiável para a demonstração de quistos de *Giardia* spp. em uma amostra fecal, sendo usado como o exame padrão na triagem de parasitas intestinais em universidades e clínicas veterinárias. No caso de canídeos, 70% dos animais positivos podem ser identificados com um único exame de flutuação com sulfato de zinco, em oposição a 40% dos cães após serem realizados três esfregaços com solução salina (Tams, 2005).

É importante que a densidade da solução usada no exame de flutuação com sulfato de zinco seja de 1,18 pois o protozoário tende a retrair e tornar-se contorcido, impedindo a sua identificação (Tangtrongsup, 2010).

Devido ao fato dos animais eliminarem os quistos de modo intermitente, diversos autores recomendam que vários exames de concentração com sulfato de zinco sejam efetuados durante 3 a 5 dias, para maximizar as possibilidades do diagnóstico ou excluir a doença. Um resultado positivo justifica o tratamento (Tams, 2005; Tangtrongsup, 2010; Washabau & Day, 2013).

Tabela 5 - Técnica de flutuação com sulfato de zinco (Adaptado de Tams, 2005)

1. Misturar 2g de fezes com 15 ml de solução de sulfato de zinco a 33%(33g de sulfato de zinco completando para 100 ml de água destilada; gravidade 1,18)
2. Coar a solução com gaze ou coador de chá.
3. Despejar a solução em um tubo de centrifuga de 15 ml.
4. Colocar o tubo em uma centrífuga e adicione uma lamela.
5. Centrifugar o tubo aproximadamente 1.500rpm por 3-5 minutos.
6. Remover a lamela com o substrato aderente e colocar sobre uma lâmina de microscópio. Quando não for utilizada uma lamela, recolher com uma pipeta a camada superficial do tubo de centrifuga, colocar sobre uma lâmina e sobre este uma lamela; pode-se adicionar o iodeto de Lugol, para corar os organismos.

O esfregaço fecal a fresco com solução salina é feito por meio da mistura de uma gota de fezes líquidas com uma gota da solução. Ao visualizar no microscópio, os trofozoítos têm formato de pera, possuem um disco ventral côncavo e mostram uma movimentação oscilante. É de suma importância diferenciar o parasita *Trichomonas* de *Giardia*. Esta diferenciação é baseada no padrão de movimentação. O parasita *Trichomonas* possui uma movimentação direcionada para frente e ausência de um disco côncavo (Tams, 2005).

A vantagem destes métodos como esfregaço fecal direto, esfregaço fresco com solução salina e flutuação com sulfato de zinco, baseiam-se no baixo custo dos consumíveis utilizados e por serem métodos não invasivos na colheita da amostra. Contudo, o sucesso do diagnóstico depende da experiência e capacidades do técnico de microscopia (Geurden *et al.*, 2010).

A detecção de antígenos nas fezes pode ser realizada através de três técnicas diferentes: imunofluorescência indireta, ELISA e imunocromatografia, utilizando-se em todas elas anticorpos monoclonais contra proteínas da parede do quisto e do trofozoíto (Tams, 2005; Geurden *et al.*, 2010).

Segundo ESCCAP (2015), o método de referência para diagnóstico é a detecção de antígenos fecais específicos para *Giardia*. Para isso, inúmeros Kits estão disponíveis no mercado. A vantagem deste teste em relação a microscopia para observação dos quistos, resulta na possibilidade de diagnóstico, mesmo havendo interrupção da excreção dos mesmos.

O teste de imunocromatografia segundo Pitães *et al.* (2015) que utiliza anticorpos monoclonais direcionados contra proteínas específicas da parede dos quistos e trofozoítos, são de rápida preparação e leitura, e podem ser utilizados tanto para animais de companhia quanto para animais de produção.

O teste ELISA fecal deteta o antígeno do parasita *Giardia* produzido pelos trofozoítos em divisão. É muito sensível em humanos, sendo relatado 30% mais casos de *Giardia* que quando se utiliza o método da flutuação com sulfato de zinco. Por identificar os antígenos nas fezes, este método evita o problema de se obter falsos negativos devido à excreção intermitente dos quistos, podendo ser realizado na própria clínica ou em um laboratório (Tams, 2005).

Um estudo realizado por Oslon *et al.* (2010), com objetivo de determinar a prevalência em cães e gatos sintomáticos para o protozoário *Giardia* através do teste Snap Test Kit ELISA e esfregaço de fezes frescas, concluíram que o ELISA foi o método de referência com melhor sensibilidade e especificidade. A sensibilidade deste teste é de 95% e a especificidade de 99% comparado a imunofluorescência direta e de 85% e 100 % quando comparado com o método da flutuação com sulfato de zinco (Mekaru *et al.*, 2007). Este demonstra ser um método simples, de fácil e clara interpretação e acima de tudo rápido, quando comparado com outros métodos (Pitães *et al.*, 2015).

A pesquisa de anticorpos séricos de *Giardia* spp. pode ainda ser feita com recurso da imunofluorescência indireta. No entanto, o seu valor de diagnóstico é limitado, sendo mais vantajoso em estudos epidemiológicos uma vez que não permite distinguir entre uma infecção recente de uma já estabelecida (Samuel *et al.*, 2001).

A biópsia duodenal é indicada em casos de exames coprológicos negativos em que os animais continuam a manifestar sinais clínicos que afetam a saúde. É um método dispendioso, necessita de um equipamento específico e a duração do procedimento é geralmente longa, o que o torna impraticável na rotina clínica (Samuel *et al.*, 2001).

A utilização do PCR, fornece informações sobre o genótipo, permitindo a identificação das diferentes espécies, sendo útil para estudos epidemiológicos e taxonômicos. A maior vantagem é a fácil execução e interpretação dos resultados. A sua rapidez propicia a análise de inúmeras amostras ao mesmo tempo (Ivanov, 2010). Este método apresenta uma elevada sensibilidade e é necessário se ter em conta os inibidores presentes nas amostras fecais que podem interferir com as técnicas moleculares (Geurden *et al.*, 2010).

Métodos de PCR são cada vez mais utilizados para o controle da qualidade da água com o objetivo de identificar a fonte de contaminação (Thompson, 2004).

Frasson e colaboradores utilizaram um derivado fluorescente do Taxol para investigar a distribuição dos microtúbulos no citoesqueleto de *G. lamblia* e consequentemente, identificaram trofozoítos e quistos. Os resultados obtidos neste trabalho mostram que a constituição do citoesqueleto deste parasita pode ser pesquisada com o uso de FLUTAX-2 e

indicam perspectivas para o desenvolvimento de um novo método diagnóstico para a doença (Frasson *et al.*, 2010).

3.11 TRATAMENTO

O tratamento de cães, gatos e outros animais infectados, doentes ou clinicamente saudáveis é fortemente recomendado devido ao possível risco zoonótico (Thompson *et al.*, 2008).

O primeiro objetivo do tratamento é interromper a diarreia e em seguida eliminar a infecção (Tangtrongsup & Scorza, 2010; Washabau & Day, 2013).

Diferentes drogas foram usadas para o tratamento da *Giardia* spp. incluindo metronidazol, tinidazol, ipronidazol, ronidazol, febendazol, albendazol, associação de pirantel/praziquantel/febantel, quinacrina, furozolidona e nitazoxanide (Tabela 6).

Tabela 6 - Medicamentos usadas para o tratamento de *Giardia* spp. em cães e gatos (Adaptado de Tangtrongsup & Scorza, 2010; Washabau & Day, 2013).

Medicamentos	Espécie	Dose
Metronidazol	B	15 - 20 mg/kg, 12 - 24 horas por 7 dias
Tinidazol	D	44 mg/kg, VO, 24 horas por 6 dias
Ipronidazol	D	126 mg/L, VO, por 7 dias
Fenbendazol	B	50 mg/kg, VO, 24 horas por 3 dias
Albenazol	B	25 mg/kg, VO, 12 horas por 2 dias
Pirantel	D	Label dose VO por 3-5 dias 56 mg/kg baseado no
Praziquantel	C	febantel VO, 24 horas por dia
Febantel		
Quinacrina	D	9 mg/kg, VO, 24 horas por 6 dias
	C	11 mg/kg, VO, 24 horas por 12 dias
Furozolidone	C	4 mg/kg, VO, 12 horas por 7-10 dias
Abreviaturas: B - cães e gatos; C - gatos; D - cães; VO - via oral.		

Os fármacos do grupo dos nitroimidazóis e dos benzimidazóis são eficientes no tratamento da infecção em humanos e em alguns animais de estimação (Ivanov, 2010). Os nitroimidazóis são um grupo de drogas com atividade antibacteriana e antiprotozoária. Fazem parte deste grupo o metronidazol e o tinidazol que são, frequentemente, empregados no tratamento de animais positivos para *Giardia* (Andrade, 2002; Hajek *et al.*, 2017) e o ronidazol usado para tratamento de *Giardia* em humanos nos Estados Unidos (Fiechter *et al.*, 2012).

O composto mais conhecido deste grupo é o metronidazol, sendo o mais utilizado na medicina veterinária (Andrade, 2002; Ural *et al.*, 2017). Apesar deste medicamento não ser aprovada por várias agências reguladoras como a Food and Drug Administration (FDA), o

metronidazol é um dos medicamentos mais usados no tratamento da giardiose em cães (Ansell *et al.*, 2015). Contudo, os efeitos carcinogênicos e teratogênicos indesejados associados a uma elevada toxicidade restringe o seu uso, tendo sido, também, descritos casos de resistência (Samuel *et al.*, 2001; Hajek *et al.*, 2017).

Foi descrita a resistência desta droga em humanos que possivelmente ocorre devido ao mecanismo que permite o protozoário tolerar o estress oxidativo causado por este medicamento (Ansell *et al.*, 2015).

O metronidazol possui sua ação resultante na associação de produtos intermediários, originários de sua ligação intracelular com o DNA, formando-se um complexo que inibe a replicação e inativa o DNA (Andrade, 2002). Segundo Chon & Kim (2005), o mecanismo bactericida do metronidazol não está completamente entendido. Acredita-se que o metronidazol age diretamente na topoisomerase do DNA bacteriano e na síntese de ácidos nucleicos. Atua contra bactérias anaeróbias obrigatórias e protozoários, como *Trichomonas*, *Entamoeba* e *Giardia* (Andrade, 2002; Chon & Kim, 2005).

Doses altas ou tratamentos prolongados podem provocar neurotoxicidade (nistagmo, ataxia e tremores) (Plumb, 1999; Andrade, 2002; Hajek *et al.*, 2017).

Plumb em seu livro recomendou a dose de 10 mg/kg, via oral, duas a três vezes ao dia para tratamentos prolongados (Plumb, 1999).

Um relato de caso de intoxicação por metronidazol em um cão de seis anos e meio foi descrita por Hajek e colaboradores (2017). Neste estudo o animal apresentava ataxia, tremores, nistagmo e fraqueza dos membros posteriores e foi tratado durante 5 semanas o metronidazol (Hajek *et al.*, 2017), em uma dose maior que a indicada pela literatura 15-20 mg/kg, 12 - 24 horas por 7 dias (Washabau & Day, 2013).

O nitroimidazol não deve ser usado em gestantes, devido a sua teratogenicidade (Andrade, 2002; Tams, 2005). Pode também causar inapetência, náusea, vômito e neutropenia reversível. Gatos apresentam sialorréia ao tomar metronidazol, principalmente na forma de suspensão (Andrade, 2002; Hajek *et al.*, 2017).

Andrade (2002), realizou um estudo em que o tratamento da giardiose em cães e gatos foi utilizada a dose de 22-25 mg/kg, via oral, BID, durante 5 dias. Enquanto Tangtrongsup, (2010) e Washabau & Day, (2013) indicaram a dose de 15-20 mg/kg, via oral, SID ou BID, durante 5 a 7 dias. European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (ESCCAP, 2011), propôs a dose de 25 mg/Kg, via oral, BID durante cinco dias.

A silimarina, que na prática clínica é usada para o tratamento de doenças do fígado, possui efeito tanto em humanos quanto em animais, sendo um potente antioxidante, anti-

flamatório e agente anti-fibrogénico para o fígado. Um estudo avaliou o efeito da silimarina no tratamento da giardiose em cães assintomáticos que recebiam o antimicrobiano metronidazol. Os resultados mostram que a silimarina não apresentou efeito direto no tratamento da doença, porém os animais tratados com o metronidazol associado à silimarina, apresentaram menor perda de peso e melhor estado clínico do que aqueles tratados somente com metronidazol (Chon & Kim, 2005).

A administração de probióticos por via oral pode ser benéfica no controle da *Giardia* e associada ao tratamento (Washabau & Day, 2013). A utilização de *Lactobacillus casei* dificulta a adesão dos trofozoítos na parede intestinal (Shukla *et al*, 2008)

Shukla² *et al*. (2013), verificaram que a co-administração do albedazol com o probiótico exerce um sinergismo inibindo a fixação e crescimento do parasita levando assim a uma redução a excreção de quistos e trofozoítos. (Escobedo *et al.*, 2016, p.199).

Boreham³ *et al*. (1985), demonstrou a eficácia do ronidazol in vitro comparado ao metronidazol. Esta droga apresentou um efeito cinco vezes maior que o metronidazol (Fiechter *et al.*, 2012, p.94).

Um outro estudo realizado na faculdade de veterinária da universidade de Zurique, na Suíça, confirmou o efeito positivo do ronidazol contra a *Giardia* spp. em cães. O ronidazol foi usado na dose de 30-50 mg/kg Bid, durante 7 dias, associada à banhos à base de clorexidina no início e no fim do tratamento, que auxiliou na diminuição e reinfecção pelos quistos, sendo assim, uma nova opção de droga para o tratamento da *Giardia* (Fiechter *et al*, 2012).

Outro princípio ativo derivado dos nitroimidazóis é o secnidazol, usado no tratamento de giárdia em humanos. O secnidazol foi testado em gatos infectados naturalmente pelo protozoário, apresentando uma eficácia de 100%. Uma das razões deste medicamento não ser usado para o tratamento em animais é o fato do mesmo ser comercializada somente para humanos (Da Silva *et al.*, 2011).

A quinacrina foi uma droga frequentemente usada em casos de cães e gatos resistentes ao metronidazol. Embora a quinacrina seja mais eficaz que o metronidazol, ela causa mais efeitos colaterais, não sendo assim mais utilizada nos dias atuais (Tams, 2005).

A cloroquina é um antigo medicamento, mas promissor para o tratamento da *Giardia*. É um composto sintético, modificado da quinacrina, no qual houve a substituição do seu anel de acridina por um anel de quinolina (Escobedo *et al.*, 2015). Durante muitos anos, a

²Shukla, G., Kaur, H., & Sharma, L., 2013. Comparative therapeutic effect of probiotic *Lactobacillus casei* alone and in conjunction with antiprotozoal drugs in murine giardiasis. *Parasitol. Res*, 112, 2143–2149.

³Boreham, P.F., Phillips, R.E., & Shepherd, R.W. (1985). A comparison of the invitro activity of some 5-nitroimidazoles and other compounds against *Giardia intestinalis*. *J. Antimicrob. Chemother*, 16, 589–595.

cloroquina foi utilizada como primeira opção para a grande maioria dos tratamentos da malária em humanos (Ural *et al.*, 2017).

Um recente estudo em cães infectados por *Giardia* spp. e tratados com cloroquina na dose de 2,5 mg/kg, via oral, BID, durante 5 dias, associado a desinfecção do ambiente reduziu significativamente a excreção dos quistos para 99,8% no dia 3 e 99,9% nos dias 7 e 10, sendo mais uma opção com baixo custo para o tratamento da doença em cães (Ural *et al.*, 2017).

O fenbendazol é um benzimidazol amplamente utilizado na medicina humana e veterinária para o controle de nematodes e *Giardia* spp. (Andrade, 2002). É uma droga segura e não possui efeito teratogênico, sendo assim a droga de escolha para o tratamento da *Giardia* em animais prenhes e gatos (Tams, 2005). O seu uso combinado com o metronidazol parece diminuir a diarreia (Fiechter *et al.*, 2012).

A ESCCAP (2011, 2015) recomenda como tratamento Fenbendazol na dose de 50 mg/Kg, via oral, SID durante três a cinco dias, podendo ser repetida se os sintomas ou excreção de quistos persistirem. Também ESCCAP (2015) indica a associação ao tratamento, uma alimentação pobre em hidrato de carbono.

Saleh *et al.* (2016) realizou um estudo em que desenvolveu um protocolo para o tratamento de *Giardia duodenalis* em um grupo de cães de uma faculdade de medicina veterinária na Virginia, Estados Unidos, onde 34 cães foram tratados com fenbendazol na dose de 50 mg/kg, BID, por via oral durante 10 dias, associado ao banho no quinto dia tratamento e desinfecção dos alojamentos com amônia quartenária. Ao final do estudo, todos os animais positivos apresentaram resultado negativo.

Outra opção de tratamento recomendado pela ESCCAP (2011) é a associação de 15 mg/Kg de febantel, 14,4 mg/Kg de pamoato de pirantel e 5 mg/Kg de praziquantel, SID durante três dias.

O albendazol apresenta eficácia semelhante ao fenbendazol (Chon & Kim, 2005) mas não é recomendado devido aos efeitos secundários: leucopenia e letargia (Tams, 2005).

Em um relato de caso de um cão de 8 meses, apresentando quistos de *Giardia* nas fezes e tratado com azitromicina na dose de 10 mg/kg/dia durante 5 dias, apresentou resultado satisfatório. Para a avaliação da eficácia do tratamento foram realizados esfregaços direto das fezes nos dias 2,4 e 6 com resultados negativos e confirmados pela PCR. Este princípio ativo, pode ser considerado como um antibiótico promissor para o tratamento da *Giardia* em cães (Zygner *et al.*, 2008).

Recente pesquisa onde se utilizou nitazoxanide mostrou a eficácia na dose de 75 mg/kg a cada 14 dias em cães infectados com *Giardia*. Este estudo ajuda no desenvolvimento de novos tratamentos para a doença, principalmente em abrigos (Moron-Soto *et al.*, 2017).

3.12 MEDIDAS PROFILÁTICAS

O controlo da infecção por *Giardia* envolve não somente o tratamento terapêutico, mas também a prevenção da contaminação dos alimentos e da água por fezes infectadas através do saneamento e a desinfecção do ambiente (Bowman *et al.*, 2006).

A maneira mais eficaz de prevenir a infecção é evitar a ingestão dos quistos que contaminam o meio ambiente e levam a uma possível reinfecção (Tangtrongsup, 2010).

A prevenção envolve ferver ou filtrar a água usada no consumo humano e animal. As fezes dos animais infectados devem ser removidas prontamente do meio ambiente, seguido de limpeza minuciosa a vapor (> 65°C) ou desinfecção com compostos de amônia quaternária por 1 minuto de tempo de contato (Bowman *et al.*, 2006; Washabau & Day, 2013; ESCCAP, 2015).

Em um estudo realizado em Portugal, por Correia (2017), através de questionários, constatou-se que 8,1% dos inquiridos, assumiram não recolher as fezes dos gatos das liteiras periodicamente.

Também como medidas profiláticas, os comedouros, bebedouros e brinquedos devem ser lavados todos os dias com água fervendo ou colocadas na lava louça a uma temperatura superior a 65°C. Recomenda-se ainda a limpeza a uma temperatura mínima de 65°C de todos os cobertores, travesseiros e camas que o animal utilize. As liteiras dos gatos devem ser desinfetadas diariamente com água fervendo e em seguida secas, assim como os arranhadores dos gatos limpos com aspirador de pó (ESCCAP, 2015).

Os animais devem ser tratados, sendo recomendado banhos nos animais doentes e em todos que estão no mesmo ambiente e que poderiam ser possivelmente infectados (Bowman *et al.*, 2006; ESCCAP, 2015) e também corte dos pelos da região anal (ESCCAP, 2015).

Outros estudos mostram a importância dos banhos nos animais doentes e a desinfecção do ambiente com o objetivo de evitar a reinfecção pelos quistos da *Giardia*. (Fiechter *et al.*, 2012; Coron *et al.*, 2013; Ural *et al.*, 2017).

São recomendações suplementares dadas pela ESCCAP (20015) a serem seguidas em canis e gatis tais como informação aos funcionários que lidam diretamente com animais infectados do risco de zoonose, realizar testes para identificação de portadores em todos

animais que chegam, examinar os animais que apresentam diarreia, se necessário estabelecer quarentena e manter secos todos os locais húmidos.

3.12.1 Vacinação

Nos Estados Unidos, está disponível desde 1999 uma vacina para cães e gatos, contra a *G. duodenalis*, produzida a partir de trofozoítos isolados de ovelhas (Tams, 2005; Thompson *et al.*, 2008; Gruffydd-Jones *et al.*, 2013).

Esta vacina é também indicada para estimular a imunidade em pacientes com infecções crônicas (Tams, 2005), bem como tratar e prevenir a doença (Gruffydd-Jones *et al.*, 2013).

Estudos clínicos desenvolvidos para demonstrar a efetividade desta vacina, demonstraram que a administração subcutânea em animais jovens diminui os quistos nas fezes, elimina ou reduz os trofozoítos no intestino, previne a doença clínica e leva ao ganho de peso. Contudo, outras pesquisas falharam ao demonstrar o efeito da vacina em animais infectados (Thompson *et al.*, 2008).

Em um estudo recente realizado por Serradell *et al.* (2016), uma vacina oral foi testada como forma de prevenção de *Giardia* em cães e gatos. A mesma apresentou resultados positivos, tanto em infecções experimentais quanto em infecções naturais. Como resultado foi observado a redução de casos de animais com giardiose crônica e evitou novas infecções em cães e gatos jovens. Notavelmente, a imunização dos animais em uma área altamente endêmica diminuiu a percentagem de crianças infectadas, sugerindo que esta vacina bloquearia a transmissão zoonótica da doença (Serradell *et al.*, 2016).

A vacinação para animais contra *Giardia* spp. não está disponível na Europa (Gruffydd-Jones *et al.*, 2013).

CAPÍTULO 4

4. OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivo principal a realização de uma análise retrospectiva, com base na casuística de duas clínicas veterinárias localizadas em Cessy, França e Genebra, Suíça e determinar a prevalência de *Giardia* spp. em cães e gatos atendidos com sinais clínicos gastrointestinais, no período de 2015 a 2017.

Os objetivos específicos foram relacionar os fatores como raça, gênero e idade com a prevalência do parasita e determinou-se possíveis causas de recidiva da parasitose.

CAPÍTULO 5

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 AMOSTRAS

Foi utilizada a base de dados das clínicas Le Colomby, França e Moillebeau, Suíça no período de 2015 a 2017. Dentro deste período, selecionou-se as fichas clínicas dos animais presentes às consultas onde a principal queixa apresentada pelos proprietários era a diarreia e que havia suspeita de infecção por *Giardia* spp..

As fichas clínicas de 52 animais passaram por uma avaliação, sendo 29 cães, 22 gatos e 1 furão.

Na clínica Le Colomby, França das 22 amostras, 11 eram cães, sendo 5 machos e 6 fêmeas, 10 eram gatos, sendo 7 machos e 3 fêmeas e 1 furão do sexo feminino, foram realizados 16 testes de imunocromatografia, KitVia (Anexo 1), com objetivo de detetar antígenos solúveis de *Giardia duodenalis* em amostras fecais. O número de 3 amostras foram enviadas para laboratório com o objetivo de realizar o teste PCR (Reação da Cadeia da Polimerase), que consiste na análise biomolecular para detecção e replicação de fragmentos do material genético do agente, permitindo um diagnóstico definitivo. Realizou-se o tratamento clínico sem nenhum exame diagnóstico prévio em 3 amostras (Gráfico 5).

Na clínica Moillebeau, Suíça das 30 amostras, 18 eram cães, sendo 8 machos e 10 fêmeas, 12 eram gatos, sendo 6 machos e 6 fêmeas. O teste de imunocromatografia, Speed Giardia, (Anexos 2,3 e 4) foi realizado em 29 amostras e 1 amostra foi encaminhada para laboratório com o objetivo de realizar o teste PCR (Gráfico 5).

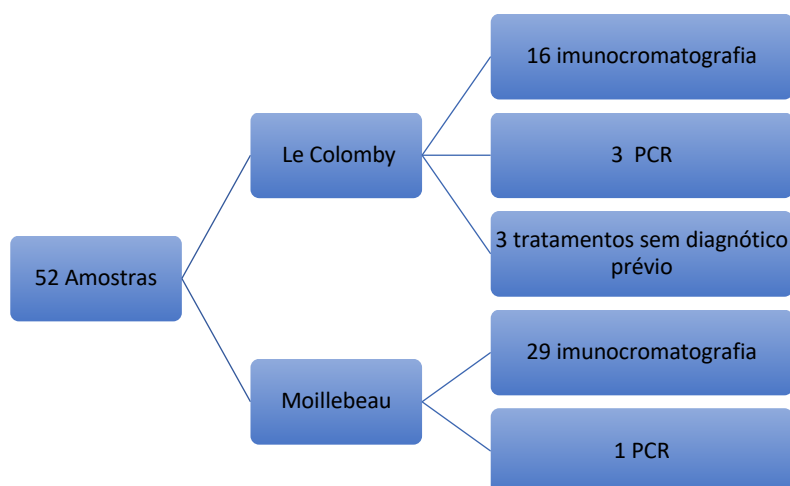


Gráfico 5 - Amostras das clínicas Le Colomby e Moillebeau 2015 a 2017.

5.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados analisados foram registados em Microsoft Office Excel versão 16.9, 2017 e utilizou-se uma análise estatística descritiva.

CAPÍTULO 6

6. RESULTADOS

Das 52 amostras analisadas nas clínicas Le Colomby, Cessy, França e Moillebeau, Genebra, Suíça 29 eram cães, 22 gatos e 1 era furão.

Os testes diagnósticos utilizados nas duas clínicas foram imunocromatografia e PCR.

A prevalência total encontrada nas duas clínicas foi de 59,6% (31/52), na qual 52% (16/31) eram cães, 45% eram gatos (14/31) e 4% furão (1/31).

Na clínica Le Colomby (FR) o percentual de animais positivos foi de 50% (11/22); destes, 45% eram cães (5/11), 45% eram gatos (5/11) e 10% foi representado por 1 furão (1/11) (Gráfico 6).

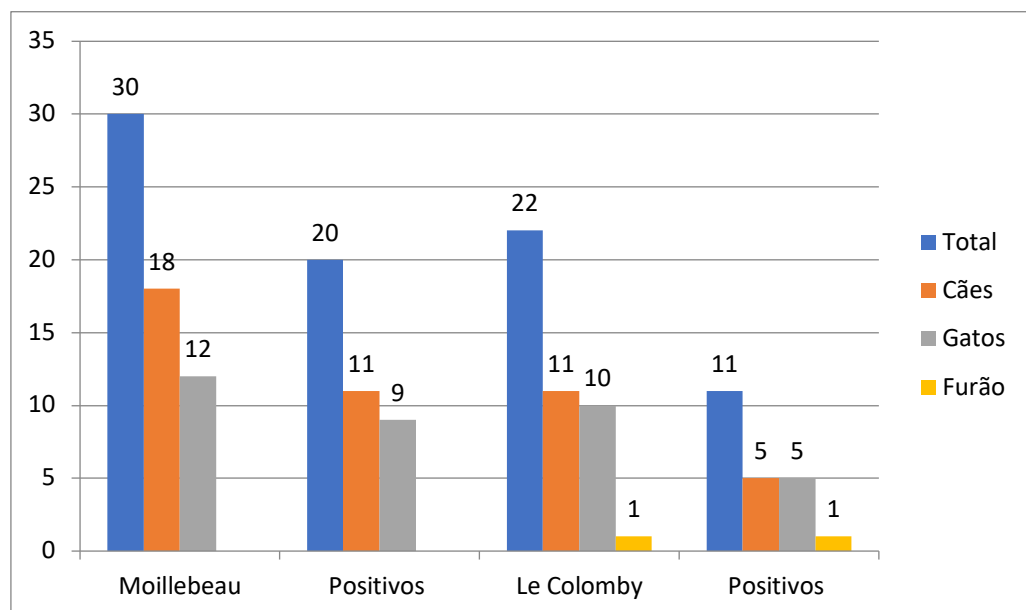


Gráfico 6 - Dados dos animais com suspeita de infecção por *Giardia* spp. em duas clínicas veterinárias

O valor de 73% (16/22) representa as amostras que foram submetidas ao exame de imunocromatografia, sendo 63% (10/16) positivos para o parasita *Giardia* (Gráfico 7). Os testes realizados pelo método diagnóstico PCR, representaram 13,5% (3/22), sendo 33% (1/3) positivos para o parasita *Giardia*. O número de 3 amostras, foram os animais tratados apenas pela sintomatologia clínica representando 13,5% (3/22).

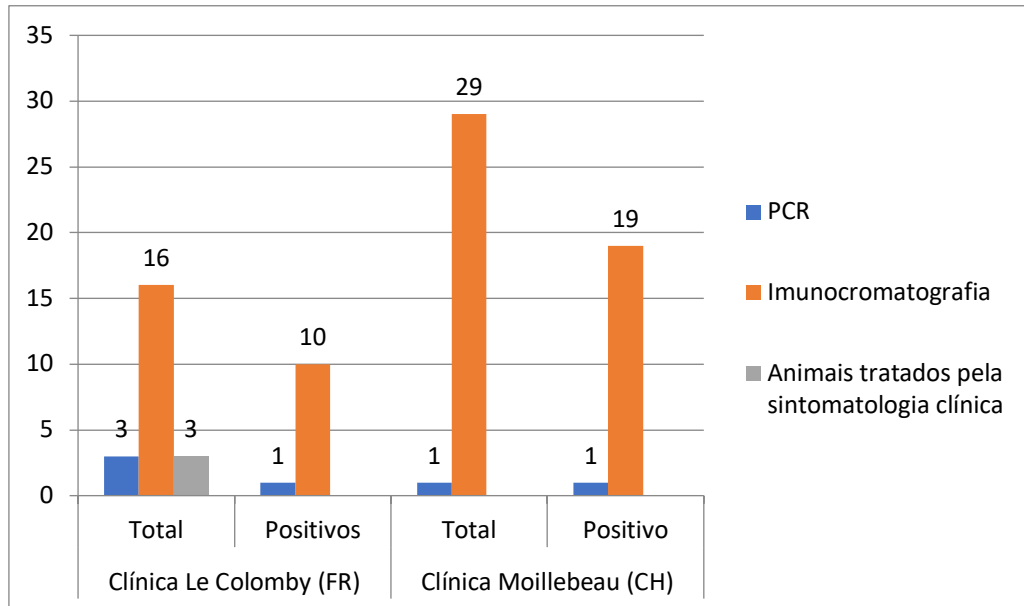


Gráfico 7 - Exames realizados para detecção de *Giardia* spp. em animais em duas clínicas veterinárias

Das 11 amostras positivas, 5 eram cães, sendo 3 fêmeas (60%) e 2 machos (40%). Dos 5 gatos, 3 eram fêmeas (60%) e 2 eram machos (40%). O furão era do sexo feminino.

As fêmeas apresentaram um maior número de resultados positivos, 64% (7/11) tanto para os cães quanto para os gatos (Gráfico 8).

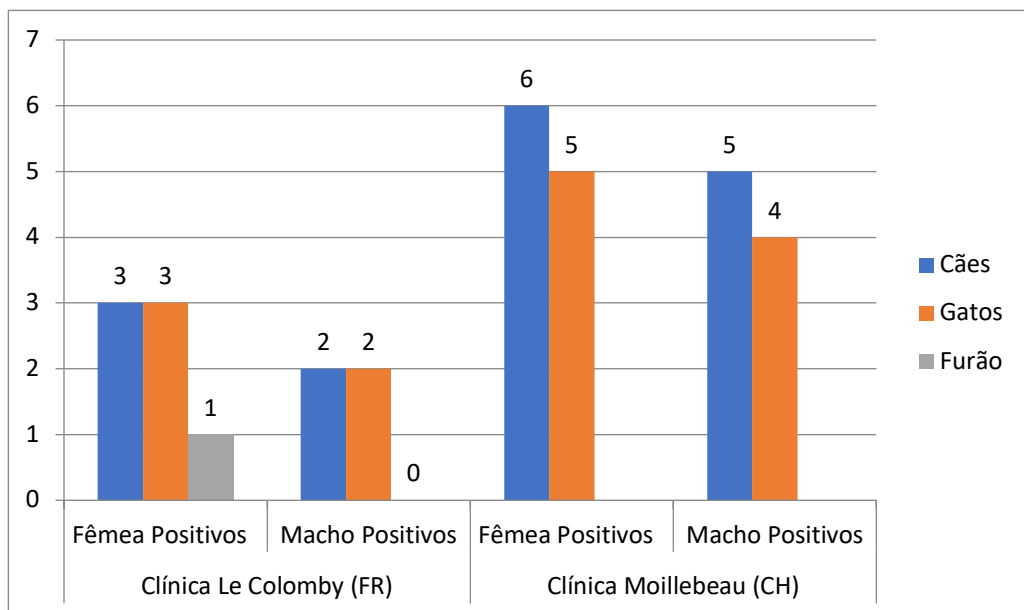


Gráfico 8 - Distribuição de gênero e espécie dos animais infectados por *Giardia* spp. em duas clínicas veterinárias

As raças de cães e gatos que possuíram resultado positivo foram: Pastor Alemão 18% (2/11), Bouldoque Francês 18% (2/11), Husky Siberiano 14% (1/11); Gato Europeu 18% (2/11), Gato da Birmania 18% (2/11) e British Shorthair 14% (1/11).

A prevalência da infecção foi significativamente superior nos animais com idade entre 0-9 meses 91% (10/11), em relação aos animais com idade superior a 12 meses 9% (1/11) (Gráfico 9).

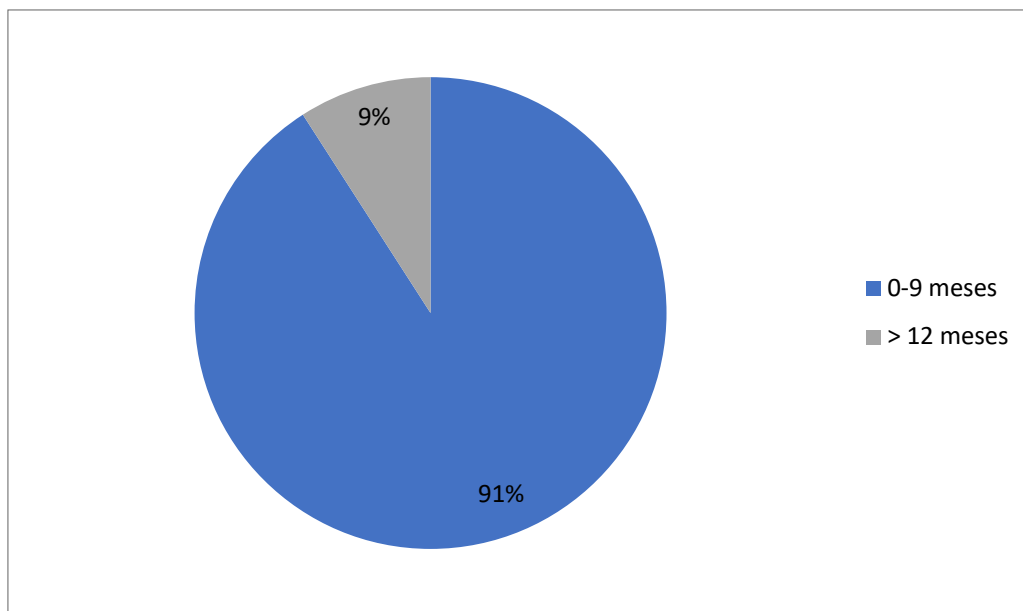


Gráfico 9 - Distribuição da idade dos animais infectados por *Giardia* spp. na Clínica Le Colomby (FR)

Todos animais positivos foram tratados. O percentual de 82% (9/11) receberam o medicamento metronidazol e 18% (2/11) o medicamento fenbendazol.

Não houve relato de recidiva nos animais positivos para *Giardia* spp. e tratados na clínica Le Colomby (FR).

Das amostras negativas 50% (11/22), 9% (1/11) foram tratados com metronidazol, 37% (4/11) com o fenbendazol e 54% (6/11) com outras drogas.

Na clínica Moillebeau (CH), a prevalência foi maior do que o valor encontrado na clínica Le Colomby (FR). O percentual de amostras positivas foi 67% (20/30) (Gráfico 6), sendo 55% cães (11/20) e 45% gatos (9/20).

As amostras que foram submetidas ao exame de imunocromatografia representaram 97% (29/30), com o valor de 66% (19/29) positivos para o parasita *Giardia*. (Gráfico 7). As amostras testadas pelo método diagnóstico PCR, representaram 3% (1/30), sendo 100% (1/1) positivos para o parasita *Giardia*.

Das amostras positivas, 11 eram cães, sendo 6 fêmeas (55%) e 5 machos (45%). Dos 9 gatos, 5 eram fêmeas (56%) e 4 eram machos (44%).

As fêmeas, também apresentaram maior positividade 55% (11/20) (Gráfico 8).

As raças de cães que apresentaram resultado positivo foram Pastor Australiano 5% (1/ 20), Bouldogue Francês 5% (1/20), Husky Siberiano 5% (1/20), Shiba Indu 5% (1/ 20), Yorkshire 5% (1/ 20), West Highland 5% (1/20), Pastor Suíço 5% (1/20), Labrador 5% (1/ 20), Dálmata 5% (1/ 20) e Spitz Alemão 5% (1/ 20). Enquanto as raças de gatos foram Gato Europeu 15 % (3/20), Ragdol 15% (3/20), Balinês 5% (1/20), Schottish Fold 5% (1/20) e Oriental 5% (1/20).

A prevalência da infecção dos animais com idade entre 0-9 meses foi 60% (12/20), enquanto o valor de 10% (2/20) encontrou-se para os animais com idade entre 10 e 12 meses e 30 % (6/20) para animais com idade superior a 12 meses (Gráfico 10).

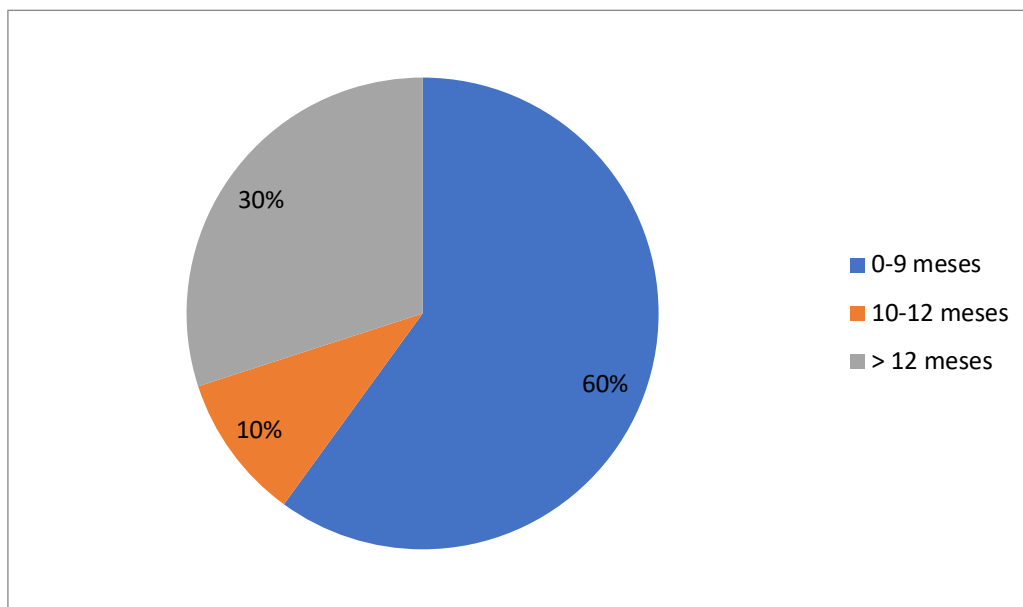


Gráfico 10 - Distribuição da idade dos animais infectados por *Giardia* spp. na Clínica Moillebeau (CH)

Todos animais positivos foram tratados. O tratamento efetuado com o medicamento metronidazol representou 20% (4/20) e 80% (16/20) foram tratados com o fenbendazol.

O valor de 40% (8/20) dos animais positivos para *Giardia* spp. tratados na clínica Moillebeau (CH), apresentaram recidivas.

Todas as amostras negativas 33% (10/30) foram tratadas com outras drogas.

CAPÍTULO 7

7. DISCUSSÃO

A prevalência observada na região em que se encontram as duas clínicas veterinárias foi de 59,6%. Este resultado vai ao encontro do valor relatado por Lebre, (2011) onde obteve a prevalência de 61,1% em cães na região de Lisboa. Correia (2017) observou através de questionários feitos à médicos veterinários de várias regiões de Portugal, a prevalência de 62,5%. Os valores encontrados por Lebre, (2011) e Correia (2017) estão próximos ao valor obtido no presente estudo. No entanto, os resultados apresentados por Epe *et al.* (2010), em um estudo realizado em 377 clínicas de 7 países da União Europeia, são inferiores aos apresentados anteriormente.

O parasita *Giardia* tem sido detetado nas fezes de cães e gatos em todo o mundo (Thompson *et al.*, 2000; Bouzid *et al.*, 2015). Entretanto, sua prevalência apresenta índices variáveis, dependendo da localização geográfica, do método utilizado para o diagnóstico e da população estudada (Bouzid *et al.*, 2015).

Os valores de prevalência encontrados nas duas clínicas Le Colomby, (FR) e Moillebeau, (CH) foram respectivamente 50% (11/22) e 67% (20/30) obtidos por meios das técnicas de imunocromatografia e PCR.

As características do parasita: I) Ciclo monóxeno em que o hospedeiro elimina grande quantidade da forma infectante nas fezes; II) Necessidade de um número reduzido de quistos para que haja infecção; III) Os quistos serem imediatamente infecciosos após excreção nas fezes; IV) Capacidade de infectar um grande número de hospedeiros (Cacciò & Ryan, 2008), podem ser fatores que facilitam à infecção do hospedeiro.

O resultado de prevalência na clínica Moillebeau (CH), apresentou-se ligeiramente maior do que o encontrado na clínica Le Colomby, (FR).

As prevalências de *Giardia* spp. obtidas no presente estudo em duas clínicas localizadas em diferentes países, foram maiores que aquelas determinadas por Bouzid *et al.* (2015), 15,2% para cães e 12% para gatos em uma análise da prevalência da *Giardia* no mundo e superiores aos resultados obtidos em estudos feitos em Portugal em cães, onde as prevalências foram de 15,5%, 16,7% e 17,5% (Neves *et al.*, 2014; Ferreira *et al.*, 2011; Maia *et al.*, 2013).

Estudos recentes efetuados em Portugal, apresentaram valores inferiores aqueles encontrados no presente estudo: 9%, 33% e 3,9% (Morais, 2016; Braga, 2017 e Carvalho, 2017).

Dentre as análises efetuadas destaca-se uma maior utilização do teste de imunocromatografia (Gráfico 7). Na clínica Moillebeau, (CH) das 30 amostras, 29 foram testadas pelo referido exame, enquanto na clínica Le Colomby (FR) das 22 amostras, 16 utilizaram a imunocromatografia. O mesmo demonstrou ser um método simples de aplicar, de fácil, rápida e clara interpretação dos resultados (Pitães *et al.*, 2015), o que permite reduzir a possibilidade de erros por parte do operador e consequentemente uma menor possibilidade de equívocos dos resultados. Apresenta também, um menor custo se comparado ao PCR e outra vantagem, é a possibilidade de o diagnóstico ser realizado mesmo se a excreção dos quistos estiverem interrompidas (ESCCAP, 2013; ESCCAP, 2015).

Muitos autores, recomendam a necessidade da coleta de fezes durante 3-5 dias consecutivos, a fim de evitar falsos negativos, originários da excreção intermitente dos quistos (Thompson *et al.*, 2008; Epe *et al.*, 2010; ESCCAP, 2015). Contudo, no presente estudo foi feita uma única recolha.

Thompson *et al.* (2008), relataram a infecção da *Giardia* em cães, gatos e em outros mamíferos. Na clínica Le Colomby, (FR) 10% (1/11) dos animais positivos, 1 era furão, o que confirma a possibilidade de outros mamíferos serem infectados pelo protozoário.

Lasek-Nesselquist e colaboradores (2010), identificaram um novo assemblage H, que acredita-se ser de origem marinha. Plutzer *et al.* (2010), relataram a possibilidade de os moluscos bivalves acumularem quistos, podendo assim causar infecção em animais e humanos. É de suma importância que novos estudos sejam feitos no âmbito marinho e terrestre, para melhor compreender a presença do parasita e encontrar novas possibilidades de tratamentos e prevenção.

Na clínica Le Colomby, (FR) 13,5% (3/22) dos animais foram tratados apenas pela sintomatologia clínica o mesmo não aconteceu na clínica Moillebeau, (CH). Acredita-se que todos os animais apresentando sintomatologia compatível à giardiose sejam efetuados exames complementares para se chegar a um diagnóstico laboratorial antes da prescrição de um tratamento. Esta medida poderá diminuir as recidivas e possíveis resistência a antibióticos.

Considerando os resultados apresentados, foi observado uma maior percentagem de fêmeas susceptíveis à infecção: Le Colomby, (FR) 64% (7/11) e Moillebeau, (CH) 55% (11/20). Devido ao pequeno número de amostras, não há como comparar a prevalência de animais positivos em relação ao sexo.

Foram representadas neste estudo as raças de cães e gatos infectadas pelo parasita nas duas clínicas veterinárias (Gráficos 11, 12, 13, 14).

Os cães que apresentaram resultado positivo para o parasita *Giardia*, 100% eram de raças puras. O trabalho de Fontanarrosa *et al.* (2006), salienta que nas prevalências globais,

três espécies de protozoários (onde se inclui a *Giardia duodenalis*), foram mais frequentes em raças puras.

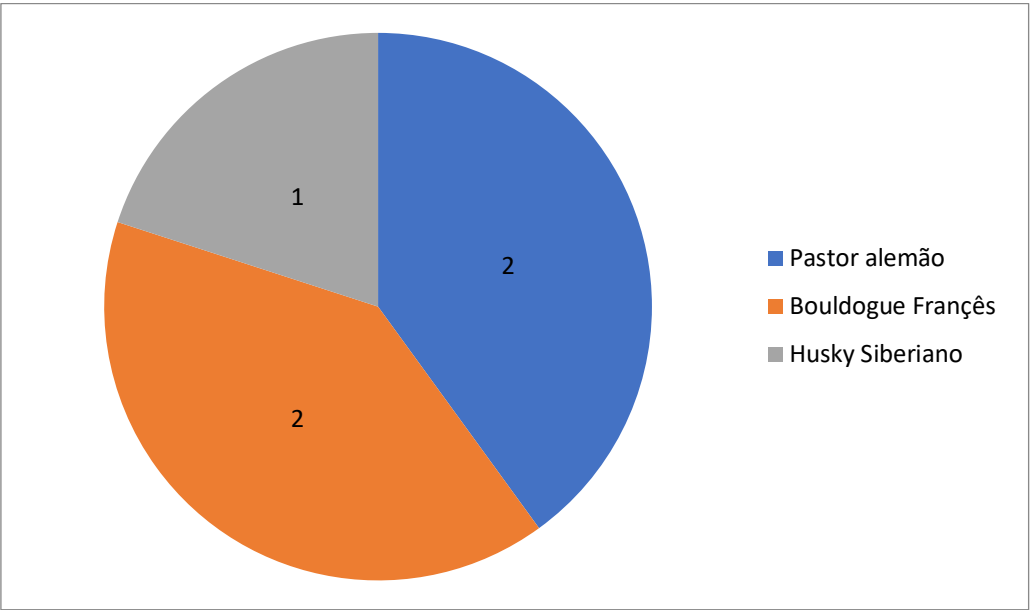


Gráfico 11 - Raças dos cães clínica Le Colomby (FR)

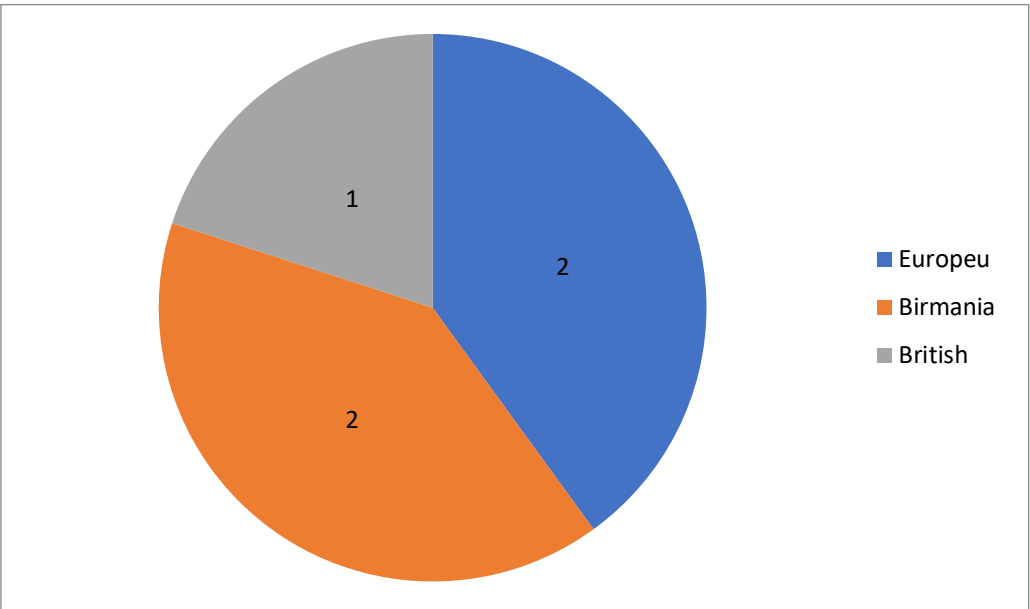


Gráfico 12 - Raças dos gatos na Clínica Le Colomby (FR)

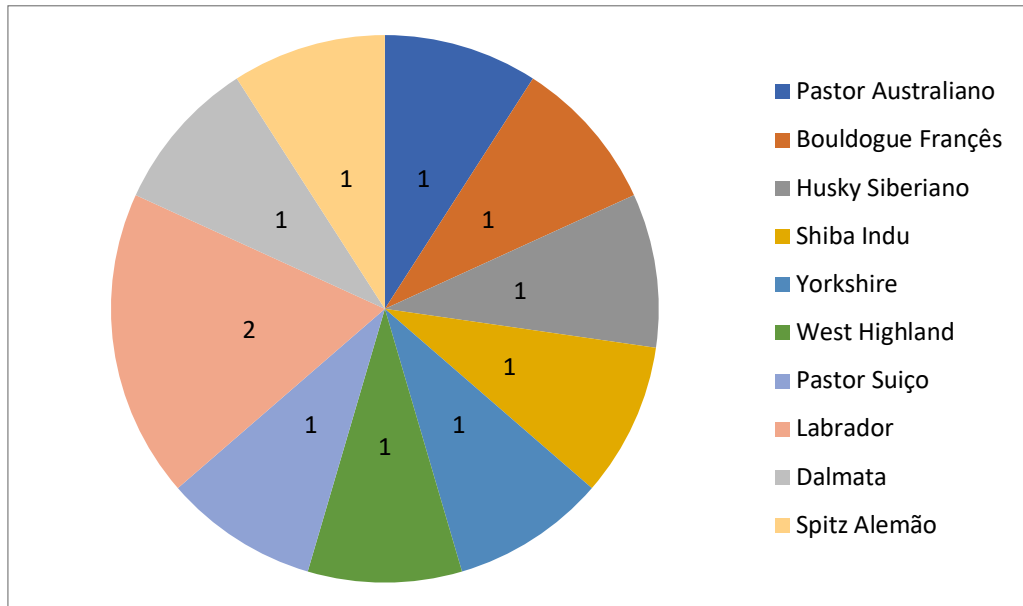


Gráfico 13 - Raças dos cães clínica Moillebeau (CH)

A associação entre a idade dos animais e a prevalência da *Giardia* tem sido descrita por diferentes autores, sendo que animais jovens, com idade inferior a 12 meses tem maior representatividade (Kirkpatrick, 1987; Mundin *et al*, 2003., Mircean *et al.*, 2012; Pallant *et al.*, 2015), o que confirma os valores encontrados no presente estudo (Gráficos 3 e 4).

A prevalência da infecção para os animais com idade entre 0-9 meses nas clínicas Le Colomby (FR) e Moillebeau (CH) foram de 91% (10/11) e 60% (12/20) respectivamente. Somente na clínica Moillebeau (CH) encontrou-se resultados positivos para animais entre 10-12 meses, representando 10% (2/20).

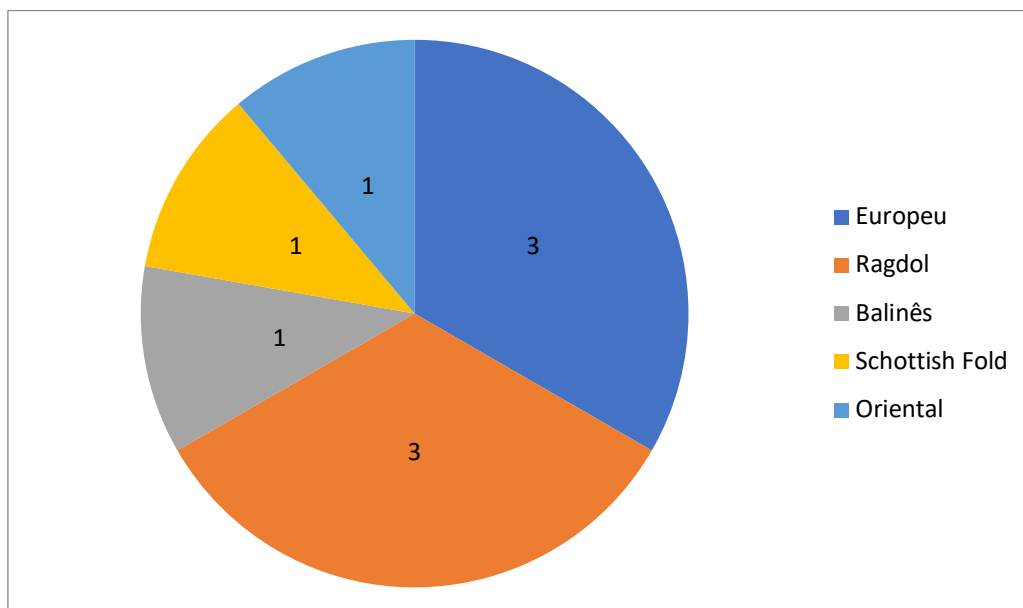


Gráfico 14 - Raças dos Gatos na clínica Moillebeau (CH)

Bouزيد *et al.* (2015), em uma análise da prevalência da *Giardia* no mundo, obteve como resultado uma maior infecção em gatos jovens.

As crianças e os animais jovens são particularmente susceptíveis às infecções pelo protozoário devido ao sistema imunológico não completamente desenvolvido (Guerden *et al.*, 2010). Estes animais muitas vezes vieram de criações, com um aglomerado de população, o que propicia um maior risco de infecção pelo protozoário.

Os animais maiores de 12 meses apresentaram menor prevalência: Le Colomby (FR) 9% (1/11) e Moillebeau (CH) 30% (6/20). Com o aumento da idade há o desenvolvimento de certo grau de resistência (Kirkpatrick, 1987).

Todos os animais infectados receberam tratamento para combater o parasita gastrointestinal *Giardia* (Gráfico 15).

Na França ESCCAP (2013), recomenda a utilização do fenbendazol 50 mg/kg SID, durante 3 a 5 dias, podendo o mesmo ser renovado ou a duração do tratamento prolongada, em caso de sinais clínicos e ou excreção persistente dos quistos. O Metronidazol é eficaz contra o parasita em questão na dose 25 mg/kg BID, durante 5 a 10 dias, entretanto não possui autorização veterinária para o uso do mesmo.

Na clínica Le Colomby (FR) 82% (9/11) receberam o medicamento metronidazol, mesmo não sendo o tratamento recomendado pela ESCCAP (2013). E 18% (2/11) foram tratados com o medicamento fenbendazol.

Na Suíça ESCCAP (2015), uma única substância é disponível para o tratamento da giardiose em cães e gatos: fenbendazol 50 mg/kg SID, durante 3 dias. Esta dose é infelizmente insuficiente devido a recidiva, recomenda-se repetir o tratamento após duas semanas.

Na Clínica Moillebeau (CH), 80% (16/20) foram tratados com o fenbendazol, seguindo assim as recomendações da ESCCAP (2015), e 20% (4/20) receberam o medicamento metronidazol.

Muitas drogas já foram testadas contra a infecção de *Giardia duodenalis* em cães e gatos (Barr *et al.*, 1998; Chon & Kim, 2005; Zygner *et al.*, 2008; Fiechter *et al.*, 2012; Ural *et al.*, 2017; Moron-Soto *et al.*, 2017). Mas o metronidazol ainda é bastante usado na rotina clínica para o tratamento desta doença (Fiechter *et al.*, 2012) mesmo podendo causar resistência (Coron *et al.*, 2013). Contudo, estudos tem sido realizado para avaliar o efeito tóxico desta droga (Hajek *et al.*, 2017). Portanto é prudente sugerir a necessidade de novos tratamentos tanto em seres humanos quanto para os animais.

Recidivas foram relatadas na clínica Moillebeau (CH) com valor de 40% (8/20), sendo 100% (8/8) na idade entre 0-9 meses (Gráfico 16).

Apesar do tratamento com o auxílio dos medicamentos indicadas para esta doença, falhas terapêuticas são frequentes. Estas falhas podem ocorrer por uma reinfecção causada pelo ambiente contaminado e pela persistência da doença em razão da resistência ao medicamento. A resistência contra os Nitroimidazóis foi descrita em medicina humana (ESCCAP, 2015). As frequentes falhas terapêuticas provavelmente se relacionam à dificuldade da administração correta dos medicamentos.

Vários autores, recomendam a realização de banhos com champô a base de clorexidina, corte dos pelos da região anal, desinfecção do ambiente e utensílios e a retirada das fezes do ambiente com o objetivo de evitar a reinfecção pelos quistos de *Giardia* (Bowman *et al.*, 2006; Washabau & Day, 2013; ESCCAP, 2015; Saleh *et al.*, 2016; Ural *et al.*, 2017). Neste estudo, não foi observado por parte dos veterinários estas recomendações aos proprietários em nenhum dos tratamentos para os animais positivos. A ausência destes procedimentos podem ser as possíveis causas de reinfecção do hospedeiro pelos quistos, dificultando o sucesso no tratamento.

No presente trabalho não foi executada análise que permitisse identificar os genótipos de *Giardia duodenalis* presentes nas amostras positivas.

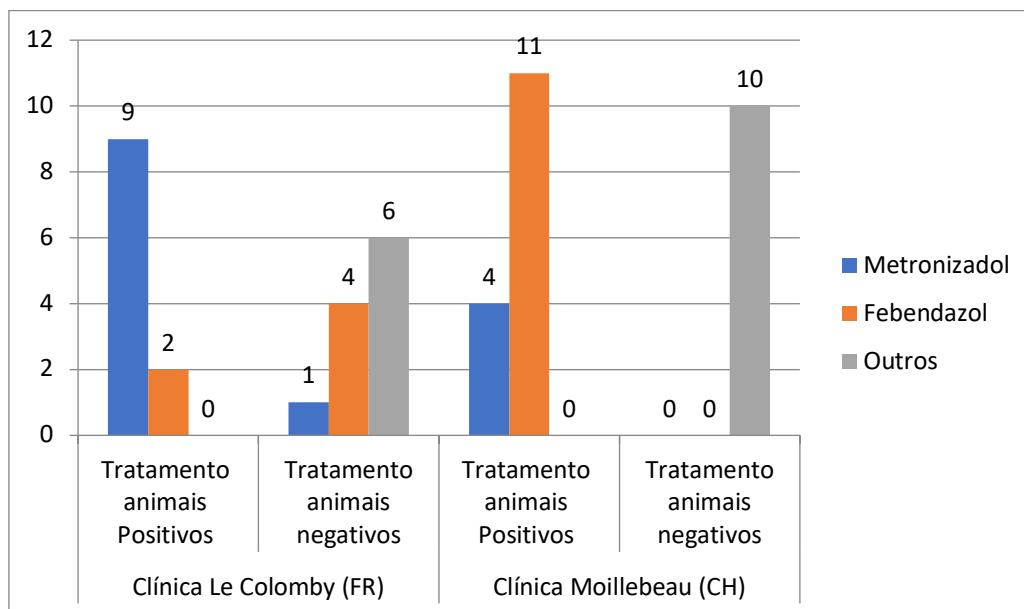


Gráfico 15 - Tratamentos utilizados em animais infectados por *Giardia* spp. em duas clínicas veterinárias

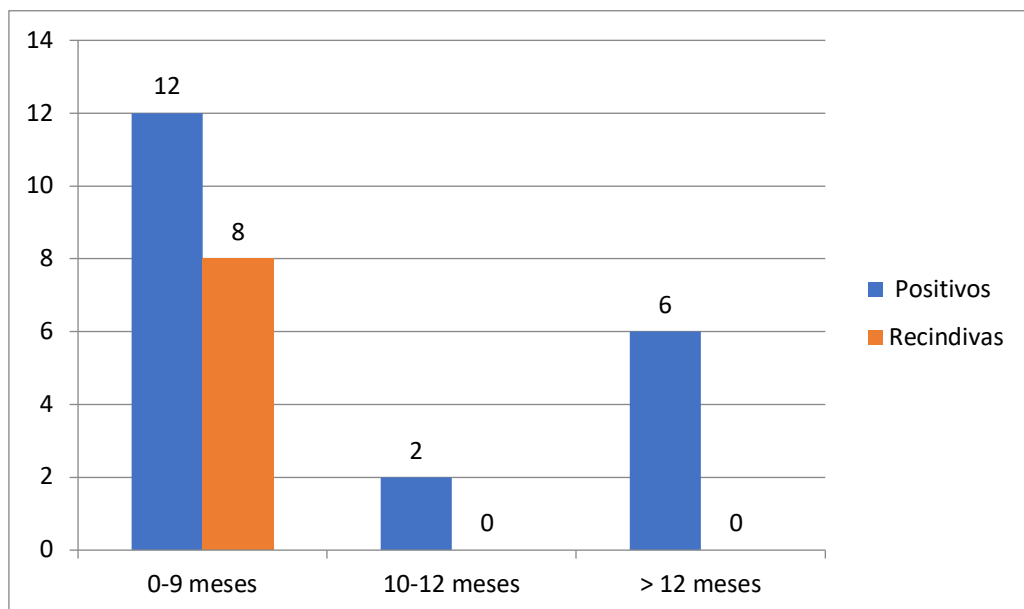


Gráfico 16 - Recidiva dos animais positivos para *Giardia* spp. na Clínica Moillebeau (CH) por faixa etária

CAPÍTULO 8

8. CONCLUSÃO

No presente estudo, a prevalência da infecção pelo parasita *Giardia* encontrado nas duas clínicas veterinárias Le Colomby, (FR) e Moillebeau, (CH) foram respectivamente 50% (11/22) e 67% (20/30), sendo assim superior à media europeia encontrada na literatura pesquisada. Estes valores mostram a presença do protozoário na rotina clínica e o risco de infecção de animais e pessoas.

Na clínica Le Moillebeau (CH), 73% (16/22) das amostras foram submetidas ao teste de imunocromatografia enquanto na clínica Le Colomby (FR) as amostras submetidas ao mesmo exame alcançou o valor de 97% (29/30). Este teste foi o mais utilizado por ser eficaz e de fácil execução, o que facilitava a triagem clínica e o diagnóstico imediato dos animais infectados.

A relação entre raça, sexo e prevalência não foi determinada, devido ao pequeno número de amostras. Para efetuar esta análise, seria necessário ampliar o número de animais estudados, entretanto, o número de animais do sexo feminino e cães de raças puras apresentaram maior incidência de infecção.

Animais de 0-9 meses apresentaram maior prevalência e recidiva da doença. Podendo assim, ser a idade um fator de risco para infecção.

Foi observado também, que as orientações feitas por diversos autores e pela ESCCAP 2013 e 2015 (banhos com champô a base de clorexidina, corte dos pelos da região anal, desinfecção do ambiente e dos utensílios e a retirada das fezes do ambiente), não são incluídas pelos médicos veterinários nos protocolos de tratamento de *Giardia*, aumentando a probabilidade de reinfecção e falha no tratamento.

Mesmo não sendo realizadas análises que permitam identificar os genótipos de *Giardia*, o risco zoonótico não está descartado. Por esta razão, é de suma importância que o diagnóstico, as orientações dadas aos proprietários pelo médico veterinário quanto às medidas profiláticas, a efetiva administração dos medicamentos e um acompanhamento clínico do animal durante o processo sejam feitos de maneira adequada para alcançar sucesso no tratamento.

Este estudo vem ressaltar a importância mundial desta parasitose nos humanos e animais e a relevância de novas pesquisas que visem avanços como o objetivo de sanar as lacunas existentes na prevenção e tratamento da doença.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adam, R.D. (2001). Biology of *Giardia lamblia*. Rev. Clin. Microbiol. Rev. 14(3). 447- 475.

Ali, A. S., & Hill, D. R. (2003). *Giardia intestinalis*. Current opinion in infectious diseases. 16(5), 453-460.

Andrade, S.F. (2002). Manual de terapêutica veterinária. (2ª Ed., 697 pp). São Paulo, Roca.

Ankarklev, J., Jerlström-Hultqvist, J., Ringqvist, E., Troell .K., & Svärd., S.G. (2010). Behind the smile: Cell biology and disease mechanisms of *Giardia* species. Nature Reviews Microbiology, 8, 413-422.

Ansell, B. R., McConville, M. J., Ma'ayeh, S. Y., Dagley, M. J., Gasser, R. B., Svärd, S. G., Jex, A.R. (2015). Drug resistance in *Giardia duodenalis*. Biotechnol Adv, 33, 888-901.

Ballweber, L. R., Xiao, L., Bowman, D. D., Kanh, G., & Cama, V.A. (2010). Giardiasis in dogs and cats: update on epidemiology and public health significance. Trends in Parasitology, 24(4), 180-189.

Barker, S.B., & Dawson, K.S. (1998) The Effects of Animal-Assisted Therapy on Anxiety Ratings of Hospitalized Psychiatric Patients. Psychiatric Services, 49 (6),797-801.

Barr, S. C., & Bowman, D. D (2006). The 5-minute veterinary consult clinical companion: canine and feline infectious diseases and parasitology. 1ª edição, pp. 259-264, Iowa, EUA: Blackwell Publishing.

Beaver, B. V. (2001). Comportamento canino: um guia para veterinários. São Paulo: Roca.

Benchimol, M. (2004). Mitosis in *Giardia lamblia*: multiple modes of cytokinesis. Protist. 155, 33-44.

Benchimol, M. (2005). The nuclei of *Giardia lamblia* - new ultrastructural observations. Archives of Microbiology, 183(3), 160-168.

Bouزيد, M., Halai, K., Jeffreys, D., & Hunter, P. R. (2015). The prevalence of *Giardia* infection in dogs and cats, asystematic review and meta-analysis of prevalence studies from stool samples. *Veterinary Parasitology*, 207, 181-202.

Bowman, D. D., Lynn, R. C., Eberhard., M. L., & Alcatraz. A. (2006). *Parasitologia Veterinária de Georgis*. (8ªEd., pp. 87-88). Barueri, São Paulo, Manole.

Braga, M. I. F. L. (2017). Prevalência e sazonalidade de parasitoses gastrointestinais, cardiovasculares e hemáticas em cães do distrito de Beja, Lisboa, Portugal (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa. Disponível em <http://hdl.handle.net/10400.5/13687>

Brincker, J. C., Teixeira, M. C.; & Araújo, F. A. P. (2009). Ocorrência de *Giardia* sp. em cães e gatos no município de Caxias do Sul/RS. *Revista da FZVA*, 16 (1), 333-334.

Cacciò, S. M., & Ryan, U. (2008). Molecular epidemiology of giardiasis. *Molecular and Biochemical Parasitology Journal*, 160, 75-80.

Cacciò, S. M., & Sprong, H. (2010). *Giardia duodenalis*: Genetic recombination and its implications for taxonomy and molecular epidemiology. *Experimental Parasitology*, 124, 107-112.

Campanati, L., Holloschi. A., Troster, H, Spring H., DE Souza, W. E., & Monteiro-Leal, L. H. (2002). Video-Microscopy observations of fast dynamic processes in the protozoon *Giardia lamblia*. *Cytoskeleton*, 51(4), 213-224.

Carlin, E. P., Bowman, D. D., & Scarlett, J. M. (2006). Prevalence of *Giardia* in symptomatic dogs and cats in the United States. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*, 28(11A), 1-12.

Carlton. W. W., & McGavin. M. D. (1998). *Patologia Veterinária especial de Thomson*. (2ª Ed., pp.58-59). Porto Alegre, Art. Med.

Carvalho, T. T. R. (2009). Estado atual do conhecimento de *Cryptosporidium* e *Giardia*, atualização. *Revista Brasileira de Patologia Tropical*, 38(1), 1-16.

Carvalho, I. T. (2017). Rastreio de parasitas gastrointestinais e pulmonares em gatos de gatis nos distritos de Lisboa e Setubal, Portugal (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa. Disponível em : <http://hdl.handle.net/10400.5/13937>

Cavalini, P. P., & Zappa, V. (2011). Giardíase Felina. Revisão de Literatura. Revista científica eletrônica de Medicina Veterinária, 16(9). Acedido em 06 de dezembro de 2017 http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/SQPBNAqBpoH7XPY_2013-6-26-11-8-48.pdf.

Chon. S. K; & Kim. N. S. (2005). Evaluation os silimarin in the treatement on asymptomatic Giardia infections in dogs. Parasitol Res, 97(6), 445-451.

Claerebout. E., Casaert, S., Dalemans. A.C., De Wilde. N., Levecke, B., Vercruysse, J., Geurden, T. (2009) Giardia and other intestinal parasites in different dog populations in Northern Belgium. Vet Parasitol, 161(1-2), 41-46.

Correia, J.P.B. (2017). Protozoários como agentes etiológicos de diarreias em gatos domésticos (*felis catus*): perceções numa amostra de tutores e médicos veterinários. (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. Disponível em <http://hdl.handle.net/10437/8596>.

Coron, Y., Paluch, C., & Losson, B. (2013). Giardiose récidivante chez un chien. Acedido em 01 de dezembro de 2017 em http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2013_157_2_03.pdf.

Crossley, R., Holberton, D. V. (1983). Characterization of proteins from the cytoskeleton of *Giardia lamblia*. Journal of Cell Science, 59, 81-103.

Costa, M., Clarke, C., Mitchell, S., & Papasoulitis. k. (2016). Diagnostic accuracy of two point-of-care kits for diagnosis os *Giardia* species infection in dogs. Journal of small animal practice. 57(6), 318-322.

Da Silva, A. S., Castro, V. S. P., Tonin, A. A., Brendler, S., Costa, M. M., Jaques, J. A., Bertoletti, B., Zanette, R. A., Raiser, A.G., Mazzanti, C.M., Lopes, S.T., Monteiro, S.G. (2011). Secnidazole for the treatment of giardiasis in naturally infected cats. Parasitol; 60(4):429-432.

Dawson, S. C., & House, S. A., (2010). Life with eight flagella: flagellar assembly and division in *Giardia*. *Current Opinion in Microbiology*,13(4), 480-490.

De Carli, G. A. (2007). *Parasitologia clínica: seleção de métodos de laboratórios para o diagnóstico das parasitoses humanas*. São Paulo. Editora Atheneu.

Epe, C., Rehker, G., Schnieder, T., Lorentzen, L., & Kreienbrock, L. (2010). *Giardia* in symptomatic dogs and cats in Europe-Results of a European study. *Veterinary Parasitology*, 173(1-2), 32-38.

Escobedo, A. A., Almirall P., Cimerman S., Lalle M., Pacheco F., Acanda C. Z., Sánchez, N. (2015). Chloroquine: an old drug with new perspective against *Giardiasis*. *Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov.* 10(2), 134-141.

Ettinger, S. J. (1992). *Tratado de medicina interna veterinária: moléstias do cão e gato*. (3ª edição, pp.573) Barueri, São Paulo, Manole.

European Scientific Counsel Companion Animal Parasites.(2011).Control of intestinal protozoa in dogs and cats. ESCCAP Guidelines 06 First Edition,1-24. Worcestershire, UK.

European Scientific Counsel Companion Animal Parasites. (2013).Traitement et prévention des parasitoses des carnivores domestiques. ESCCAP Guidelines 05, 1-15. France, FR.

European Scientific Counsel Companion Animal Parasites. (2015).Lutte contre les protozoaires intestinaux du chien et du chat. ESCCAP Guidelines , 1-32. Suisse, CH.

Fava, N. M., Soares, R. M., Scalia, L. A., Cunha, M. J., Faria, E. S., & Cury, M. C. (2016). Molecular typing of canine *Giardia duodenalis* isolates from Minas Gerais, Brazil. *Experimental Parasitology*,161 ,1-5.

Faust, E. C., Russell, P. F. & Jung R.C. (1970). *Craig and Faust's Clinical Parasitology*. (8ª Ed., pp. 63-67). La Febiger, Philadelphia.

Feely, D. E., Erlandsen S. L., & Chase, D. G. (1990). The biology of *Giardia*. In: *Human parasitic diseases*. Elsevier.

Ferreira, F. S., Pereira-Baltasar, P., Parreira, R., Padre, L., Vilhena, M., Tavora Távira, L., Atouquia, J., Centeno-Lima, S.(2011). Intestinal parasites in dogs and cats from the district of Évora, Portugal. *Veterinary Parasitology*, 179(1-3), 242-245.

Fiechter, R., Deplazes, P., & Schnyder, M. (2012). Control of giardia infections with ronidazole and intensive hygiene management in a dog kennel. *Veterinary Parasitology*, 187(1-2), 93-98.

Fontanarrosa, M. F., Vezzani, D., Basabe J., & Eiras, D. F. (2006). An epidemiological study of gastrointestinal parasites of dogs from Southern Greater Buenos Aires (Argentina): age, gender, breed, mixed infections, and seasonal and spatial patterns. *Vet Parasitol*, 136(3-4), 283-295.

Frasson, A. P., Vieira, P. B., De Carli, G. A., & Tasca, T. (2010). *Giardia lamblia*: Distribuição de microtúbulos no citoesqueleto de trofozoítos e cistos utilizando taxóide fluorescente. *Revista de Patologia Tropical*. 39 (1), 21-32.

Gaydos, J. K., Miller, W. A., Johnson, C., Zornetzer, H., Melli, A., Packham, A., Jeffries, S.J., Lance, M. M., Conrad, P. A. (2008). Novel and canine genotypes of *Giardia duodenalis* in harbor seals (*Phoca vitulina richardsi*). *The Journal of Parasitology*, 94(6), 1264-1268.

Geurden, T., Vercruysse, J., & Claerebout, E. (2010). Is *Giardia* a significant pathogen in production animals?. *Experimental Parasitology*, 124(1), 98 -106.

Gruffydd-Jones. T; Addie.D; & Belak. S. (2013). Giardiasis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15, 650-652. Acedido em 28 de novembro de 2017 em <http://jfm.sagepub.com/content/15/7/650>.

Hajek, I., Simerdova, V., Vavra, M., & Agudelo, C. F. (2017). Toxic encephalopathy associated with high-dose metronidazole therapy in a dog: a case report. *Veterinari Medicina*, 62 (02),105-110. Acedido em 01 de dezembro de 2017 em https://www.researchgate.net/profile/Ivo_Hajek2/publication/313685003_Toxic_encephalopathy_associated_with_highdose_metronidazole_therapy_in_a_dog_a_case_report/links/58ae9f78a6fdcc6f03f02073/Toxic-encephalopathy-associated-with-high-dose-metronidazole-therapy-in-a-dog-a-case-report.pdf.

Halliez, M. C., & Buret, A. G. (2013). Extra-intestinal and longterm consequences of *Giardia duodenalis* infections. *World Journal of Gastroenterology*, 19 (47), 8974-8985.

Hewlett, E., Andrews, J.J., Ruffier, J. & Schaefer, F. (1982). Experimental infection of mongrel dogs with *Giardia lamblia* cysts and cultured trophozoites. *Journal of Infectious Disease*, 145(1), 89.

Holberton, D.V. (1973). Fine structure of the ventral disk apparatus and the mechanism of attachment in the flagellate *Giardia muris*. *J Cell Sci*, 13, 11-41.

Huang, D.B; & White, A.C. (2006). An updated review on *Cryptosporidium* and *Giardia*, *Gastroenterology*. *Clinics of North America*, 35(2), 291-314.

Ivanov, A.I. (2010). *Giardia* and Giardiasis. *Boulgarian Journal of Veterinary Medicine* .13 (2), 65-80.

Júlio, C., Vilares, A., Oleastro, M., Ferreira, I., Gomes, S., Monteiro, L., Nunes, B., Tenreiro, R., Ângelo, H. (2012). Prevalence and risk factors for *Giardia duodenalis* infection among children: a case study in Portugal. *Parasit Vectors*, 22(5). Acedido em 29 novembro de 2017 em <https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-5-22>.

Kirkpatrick, C.E. (1987). Giardiasis. *Clin. North Am.: Small Anim. Pract.*, 17(6), 1377-1387.

Lebre, F. L. M. C. R. (2011). Rastreio de Parasitas Gastrintestinais e seu Impacto Zoonótico em Cães de Canil da Cidade de Lisboa (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa. Disponível em <http://hdl.handle.net/10400.5/3073>.

Levine, N. D. (1973). Protozoan parasites of domestic animals and mand. (3ª edição, pp., 118-122), Minneapolis, Minnesota, Burgess Publ.Co.

Lasek - Nesselquist, E., Welch, D. M, & Sogin, M. L. (2010). The identification of a new *Giardia duodenalis* assemblage in marine vertebrates and a preliminary analysis of *G. duodenalis* population biology in marine systems. *International Journal for Parasitology*, 40(9), 1063-1074.

Mahbubani, M. H., Bej, A. K., Perlin, M. H., Schaefer, F. W., Jakubowski, W., & Atlas, R. M. (1992). Differentiation of *Giardia duodenalis* from other *Giardia* spp. by using polymerase chain reaction and gene probes. *J. Clin. Microbiol*, 30(1), 74-78.

Maia, C., Nogueira, J., Mendão, C., & Cardoso, L. (2013). Giardiose canina em Portugal – Prevalência de infecção por *Giardia duodenalis* em cachorros com alterações gastrointestinais. *Veterinary Medicine*, 51-55.

Matos, M. (2013). Hábitos de desparasitação em animais de companhia: Inquérito a proprietários de cães e gatos, da região de Lisboa, Portugal (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa. Disponível em <http://hdl.handle.net/10400.5/6099>.

Mekaru S. R., Marks S.L., Felley, A.J., Chouicha N, & Kass P. H. (2007). Comparison of direct immunofluorescence, immunoassays, and fecal flotation for detection of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in naturally exposed cats in 4 northern California animal shelters. *J Vet Int Med*, 21(5), 959-965.

Midlej, V. & Benchimol, M. (2009). *Giardia lamblia* behavior during encystment: How morphological changes in shape occur. *Parasitology International*, 58(1), 72-80.

Mircean, V., Györke, A., Cozma, V. (2012). Prevalence and risk factors of *Giardia duodenalis* in dogs from Romania. *Vet Parasitol*, 184(2-4), 325-329.

Monis, P. T., Andrews. R. H., Mayrhofer, G., & Ey, P. L. (2003). Genetic diversity within the morphological species *Giardia intestinalis* and its relationship to host origin. *Infec Genet*, 3(1), 29-38.

Monis, P. T., Cacciò, S. M., & Thompson, R. C. A. (2009). Variation in *Giardia*: towards a taxonomic revision of the genus. *Trends in Parasitology*, 25(2), 93-100.

Morais, P. A. R. (2016). Detecção de coproantígenos de *Giardia duodenalis* em gatos de rua na região de Lisboa (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias. Disponível em <http://hdl.handle.net/10437/7110>.

Moron-Soto, M., Gutierrez, L., Sumano, H., Tapia, G., & Alcala-Canto, Y. (2017). Efficacy of nitazoxanide to treat natural *Giardia* infections of dog. *Parasites & Vectors*, 10 (52) ,1-9.

Mundim, M. J. S., Souza, S. Z., Hortêncio, S. M., & Cury, M. C. (2003). Frequência de *Giardia* spp. por duas técnicas de diagnóstico em fezes de cães. *Arquivo Bras. Vet. Zootec.*55, (6).
Acedido em 6 de dezembro de 2017 em http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-09352003000600016.

Nelson. R. W., & Couto. C. G. *Medicina interna de pequenos animais*. (1998). (2ªEd., pp. 351-355). Rio de Janeiro, Brasil, Guanabara Koogan.

Neves, D., Lobo, L., Simões, P. B., & Cardoso, L. (2014). Frequency of intestinal parasites in pet dogs from an urban area (Greater Oporto, northern Portugal) *Veterinary Parasitology*, 200(3-4), 295-298.

Olson, M. E., Leonard, N. J., & Strout, J. (2010). Prevalence and diagnosis of *Giardia* infection in dogs and cats using a fecal antigen test and fecal smear. *Can Vet J*, 51(6), 640-642.

Ortega, Y. R., & Adam, R. D. (1997). *Giardia*: Overview and update. *Clinical Infectious Diseases*, 25(3), 545-550.

Pallant, L., Barutzki, D., Schaper. R., & Thompson, R. C. (2015). The epidemiology of infections with *Giardia* species and genotypes in well cared for dogs and cats in Germany. *Parasites & Vectors*, 8(2), 2-14.

Palm, D., Weiland. M., Mcarthur, A. G., Winiecka-Krusnell, J., & Cipriano, M. J. (2005). Developmental changes in the adhesive disk during *Giardia* differentiation. *Mol Biochm Parasitol*, 141, 199-207.

Payne, P. A.; & Artzer, M. (2009). The Biology and Control of *Giardia* spp and *Tritrichomonas foetus*. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 39 (6), 993-1007.

Pessôa, S. B. (1967). *Parasitologia Médica*. (7ªEd., pp. 122-126). Rio de Janeiro, Brasil, Guanabara Koogan.

Plump, D. C. (1999). Plump's veterinary drug handbook. (3ªEd., pp. 522-524). Iowa State University Press, Ames.

Plutzer, J., Ongerth, J. & Karanis, P. (2010). *Giardia* Taxonomy, phylogeny and epidemiology: Facts and open questions. International Journal of Hygiene and Environmental Health, 213(5), 321-333.

Pitães, A., Nunes, T., Fernandes, A., & Madeira de Carvalho, L. M. (2015). Papel do parasitismo por *Giardia* sp. em sistemas de produção canina – Resultados em canis de criação na região de Viseu, Portugal. Acedido em 10 de dezembro de 2017 em <https://www.researchgate.net/publication/275100527>.

Rey, L. (2008). Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem, nos trópicos ocidentais. (4ªEd., pp. 417-420). Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S.A.

Ringqvist, E. (2009). Host-Pathogen responses during *Giardia* infections. Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology. Acedido em 01 de dezembro de 2017 em <https://www.diva-portal.org/smash/get/diva2:274455/FULLTEXT01.pdf>.

Saleh, M. N., Gilley, A. D., Byrnes, M. K., & Zajac, A. M. (2016). Developement and evaluation of a protocol for control of *Giardia duodenalis* in a colony of group-housed dogs at a veterinary medical college. Journal of the American Veterinary Medical Association, 249 (6), 644-649.

Samuel, W. M., Pybus, M. J., & Kocan, A. A. (2001). Parasitic Diseases of Wild Mammals (2ªedição, pp. 399-412). USA: Iowa State University Press/ Ames.

Serradell, M. C., Saura. A., Rupil, L. L., Gargantini, P. R., Faya, M. I., Furlan, P. J., Lujan, H.D.(2016). Vaccination of domestic animals with a novel oral vaccine prevents *Giardia* infections, alleviates signs of giardiasis and reduces transmission to humans. Nature Partner Journals. Acedido em 04 de dezembro de 2017 em <https://www.nature.com/articles/npjvaccines201618>.

Shukla, G., Devi, P., & Sehgal, R. (2008). Effect of *Lactobacillus casei* as a probiotic on modulation of giardiasis. Dig. Dis. Sci, 53(10), 2671-2679.

Silva, P. L., Santos, M. T., Antos, T. L., Bezerra, B. L., Campos, S., Piedade, G. C., Santos, J.P., Lima, V.F.S. (2017). Diarreia hemorrágica em um gato (*Felis catus* LINNAEUS, 1758) com Giardíase. Acedido em 27 novembro de 2017 em [http://www.infoteca.inf.br/anclivepa/smarty/templates/arquivos_template/upload_arquivos/do cs/ANC17612.pdf](http://www.infoteca.inf.br/anclivepa/smarty/templates/arquivos_template/upload_arquivos/do_cs/ANC17612.pdf).

Silva, A. F. B. F. (2017). Monitorização de *Cryptosporidium* spp. e *Giardia duodenalis* em explorações de Bovinos de Leite do Norte de Portugal (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade do Porto. Disponível em <http://hdl.handle.net/10216/104690>.

Silva, S. M. (2010). Prevalência de *Giardia* e *Cryptosporidium* em populações de cães de diferentes regiões do município de Porto Alegre, RS, Brasil (Dissertação de Mestrado). Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em <http://hdl.handle.net/10183/28634>.

Silva, A.S., Ceolin, L.V., Cargnelutti, J.F., Pessoa, G.A., Oliveira, C.A., Quintal, A.P.N., Monteiro, S.G. (2007). Prevalência de parasitismo em cães domiciliados em um bairro de Santa Maria –RS. Saúde, Santa Maria, 33 (1), 27-31.

Sogogayar, R. (2001). Giardíase. In: Ferreira, A. W., Ávila, S. L. M. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes. (2ªEd., pp. 250-254). Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan.

Sprong, H., Cacciò, S., & Giessen, J. (2009). Identification of zoonotic genotypes of *Giardia duodenalis*. PLOS Neglected Tropical Diseases, 3(12), 1-12.

Tams, T. R. (2005). Gastroenterologia de pequenos animais. (2ªEd., pp. 200-212). São Paulo, Roca.

Tangtrongsup, S., & Scorza, V. (2010). Update on the diagnosis and management of *Giardia* spp infections in dogs and cats. Top Companion Anim Med, 25(3), 155-162.

Taylor, M. A., Coop, R. L., & Wall, R. L. (2010). Parasitologia Veterinária. (3ªEd., pp. 331-332). Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan S.A.

Terra, L. L. (2008). O citoesqueleto de *Giardia lamblia*: efeito do herbicida orizalina, organização estrutural e composição protéica do disco ventral (Dissertação de Mestrado). Faculdade Federal do Rio de Janeiro – Ciências Biológicas. Disponível em <http://livros01.livrosgratis.com.br/cp057533.pdf>.

Thompson, R. C. A., Hopkins, R. M., & Homan, W. L. (2000). Nomenclature and genetic groupings of *Giardia* infecting mammals. *Parasitol. Today*, 16 (5),210-213.

Thompson, R. C. A., & Monis, P. T. (2004). Variation in *Giardia*: Implications for taxonomy and epidemiology. *Adv. Parasitol.* 58, 69-137.

Thompson, R. C. A., Palmer, C. S. & O’Handley, R. (2008). The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. *The Veterinary Journal*, 177, 18-25.

Tovar, J., Leon-Avila, G., Sánchez., L. B., Sutak. R., Tachezy. J., Giezen, M., Hernández, M., Müller., Lucocq, J.M. (2003). Mitochondrial remnant organ *Giardia* function in iron- Sulphur protein maturation. *Nature*, 426, 712-716.

Ural, K., Gultekin, M., Pasa, S., Aysul, N., & Ayan, A. (2017). Chloroquine treatment against naturally occurring *Giardia duodenalis* infection in dogs. *Med.Weter*, 73 (5), 280-283.

Yu, L. Z., Birky, C. W. J. R., & Adam, R. D. (2002). The two nuclei of *Giardia* each have complete copies of genome and partitioned equationally at cytokinesis. *Eukaryot Cell*, 1(2), 191-199.

Washabau, R. J., & Day, M. J. (2013). Canine end Feline gastroenterology. (Eds., pp 666-689. Elsevier, St. Louis.

Wenyon, C. M. (1965). Protozoology: a manual for medical men, veterinarians and zoologists. (v. 1., pp. 691-710). London, Baillière, Tindall and Cassel Ltd.

Wolfe, M. S. (1992). Giardiasis. *Clin Microbiol Reviews.*, 5(1), 93-100.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (2002) – Protozoan parasites (*Cryptosporium*, *Giardia*, *Cyclospora*). In: Guidelines for drinking-water quality. Geneva, p. 70-118. Acedido 23 de julho

de 2018 em
http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42361/9241545356_eng.pdf?sequence=1.

Zygner, W., Jaros.D., Zygner-Gójska, O., & Wedrychowicz, H. (2008). Azithromycin in the treatment of a dog infected with *Giardia intestinalis*. Polish Journal of Veterinary Sciences. V. 11 (3)., pp. 231-234.

ANEXOS

Anexo 1 - Teste de imunocromatografia para detecção de antígenos solúveis de *Giardia duodenalis* em amostras fecais, KITVIA, usado na clínica Le Colomby, França.



TEST RAPIDE

Détection facile de la
Giardiose en 10 minutes

GIARDIA

Test immunochromatographique pour la détection qualitative de l'antigène de *Giardia* dans les fèces animales

Données

La giardiose est une parasitose responsable de diarrhées chez les animaux. Elle est causée par un protozoaire qui infeste l'intestin grêle. Ce pathogène se fixe aux microvillosités épithéliales de l'intestin et se multiplie par division binaire. Les jeunes animaux sont particulièrement touchés, notamment lorsqu'ils sont en groupes (chenils, élevages). Si les adultes porteurs ne présentent parfois aucun signe clinique, les animaux en bas âge peuvent, en cas d'infestation, être victimes de diarrhées aqueuses malodorantes, dues à une mauvaise absorption de l'intestin.

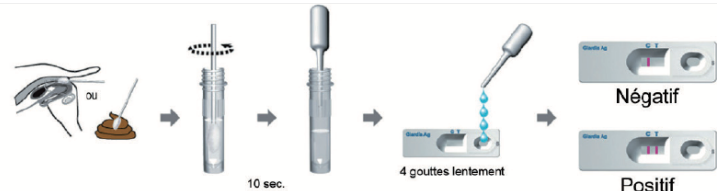
Avantages du produit

- Echantillons: fèces
- Temps de lecture: 5-10 minutes
- Conservation à température ambiante (2-30°C)
- Pas de réactions croisées avec d'autres agents pathogènes (*Parvovirus*, *Maladie de Carré*, *Coronavirus*, *Hépatite*)
- Excellent outil de pronostic vital
- Un seul test pour tous les animaux

Sensibilité	Spécificité
100%	100%

Etude effectuée sur 151 échantillons via la méthode Microscopie électronique

Procédure de test



Référence	Désignation	Condit.
B7TRRG1804U	Test rapide Giardia	1x1
B7TRRG1804	Test rapide Giardia	1x10

KITVIA SAS
16 zone Perbost
31800 LABARTHE-INARD
+33 561 888 854
+33 561 888 855
contact@kitvia.fr
www.kitvia.com

Anexo 2 - Indicação de utilização do teste Speed Giardia de imunocromatografia para detecção de antígenos solúveis de *Giardia duodenalis* em amostras fecais, Speed Giardia, usado na clínica Moillebeau. Suíça.

PARA UTILIZAÇÃO EXCLUSIVA IN VITRO PORTUGUÊS

■ APLICAÇÃO CLÍNICA

A *Giardia* é um protozoário que contamina várias espécies diferentes, incluindo cães, gatos e gado. A *Giardia duodenalis* (também conhecida como *Giardia lamblia*) é um parasita flagelado com duas fases morfológicas distintas: uma forma intestinal reprodutivamente activa, ou trofozoíto, e uma forma cística inactiva, excretada pelo hospedeiro.

A contaminação ocorre através da ingestão de cistos existentes em água ou alimentos contaminados, por via oro-fecal ou por contacto com outros animais. Os sintomas dependem do grau de infestação, da espécie e da idade do animal. Os sintomas incluem diarreia aguda ou crónica, má absorção intestinal com atraso no crescimento e distúrbios alimentares com perda de apetite.

Os testes para detecção de Giardiose devem apenas ser realizados nos casos com forte suspeita clínica, uma vez que são frequentes portadores assintomáticos. Os cistos são excretados, em média, até 7 dias após a contaminação. A excreção de oocistos é intermitente, razão pela qual é importante realizar o teste durante vários dias consecutivos, com vista a obter o diagnóstico no pico da excreção. O número de cistos excretados durante a infestação varia entre indivíduos, em função da intermitência da excreção e da técnica de contagem utilizada.

Os resultados clínicos e de autópsias são inespecíficos e a única técnica de diagnóstico fiável é a contagem fecal. Recomenda-se o rastreio parasitológico em animais jovens - cães e gatos com idades compreendidas entre 6 semanas e 3 meses e vitelos entre 1 semana e 6 meses. Em animais mais velhos, é igualmente útil diagnosticar a causa de diarreia crónica ou detectar portadores que actuem como fonte de contaminação.

■ PRINCIPIO

O Speed Giardia é um imunoensaio qualitativo rápido, que recorre a imunocromatografia, para a detecção de antígenos solúveis de *Giardia duodenalis* em amostras fecais de cães, gatos e vitelos.

Para cada teste, no poço da amostra, as partículas coradas do conjugado ligam-se a quaisquer antígenos de *Giardia* presentes na amostra. Os complexos de conjugado/antígeno resultantes migram ao longo da tira por capilaridade. São capturados por anticorpos específicos de *Giardia duodenalis* que se ligam à membrana, formando uma banda de teste vermelha por acumulação de partículas coloridas. A mistura continua a migrar até ao final da tira onde as partículas coloridas restantes formam uma banda de controlo azul, o que confirma a validade do teste.

■ PROCEDIMENTO

► PARA CADA TESTE, SERÁ NECESSÁRIO:

1 bolsa com tira de teste, 1 tubo de amostra com diluente tampão e “colher de amostragem” e 1 suporte de teste.

Os reagentes devem ser utilizados à temperatura ambiente.

Não misture reagentes e tiras de lotes diferentes.

1/ ADICIONAR A AMOSTRA:

- Rotule o tubo de amostra com o nome do animal. Retire **uma colher de amostragem rasa** de fezes e adicione ao diluente tampão. Feche o frasco e agite para homogenizar.
- Deixe a solução sedimentar durante **3 minutos**.

2/ REALIZAR O TESTE:

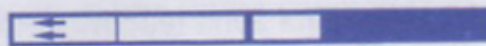
- Remova a tira da respectiva bolsa e mergulhe cuidadosamente na solução, na direcção indicada pela seta, sem submergir a banda reactiva central.
- Deixe a tira permanecer **na solução durante 1 minuto**.
- **Remova a tira** e coloque-a numa **superfície horizontal plana**.
- Aguarde pela migração.

3/ LER E INTERPRETAR:

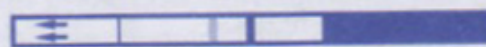
LEITURA:

Aguarde 5 minutos pela migração do líquido antes de proceder à leitura:

- **TESTE NEGATIVO:** aparece uma única banda azul (banda de controlo).

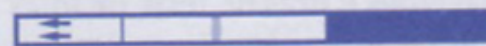


- **TESTE POSITIVO:** aparecem uma banda vermelha e uma banda azul (banda de teste + banda de controlo).



Qualquer coloração vermelha da banda de teste (ainda que ténue), deve ser considerada um resultado positivo.

- Caso não apareça nenhuma banda de controlo azul, o teste é inválido.



INTERPRETAÇÃO:

O Speed Giardia é um teste qualitativo para detectar a presença de antígenos de *Giardia* nas fezes.

Se um animal não apresentar quaisquer sintomas na altura da recolha de amostras, deve considerar-se um animal positivo como um portador saudável e, por conseguinte, uma fonte de contaminação para os outros animais do grupo. Devido à excreção intermitente, se for obtido um resultado negativo, apesar de suspeita clínica, é aconselhável repetir o teste Speed Giardia 3 vezes em intervalos de 48 horas ou testar vários animais da mesma unidade de criação.

■ RECOMENDAÇÕES

• PERÍODO DE VALIDADE:

- 16 meses à temperatura ambiente (desde a data de fabrico). A data de validade está impressa em cada caixa e em cada bolsa de teste.
- Conserve à temperatura ambiente, entre +2°C e +30°C. Mantenha o teste afastado de calor excessivo; não congele.
- Após abrir a bolsa da tira, não exponha a tira à humidade antes de ser utilizada e não toque na zona reactiva central.

• CONSERVAÇÃO DE AMOSTRAS:

- O Speed Giardia tem de ser realizado **logo que possível** após a recolha da amostra.
- Retire uma **colher rasa** de fezes.

• PRECAUÇÕES:

- Não toque na zona reactiva central da tira.
- Para garantir a correcta migração da amostra, coloque a tira de teste numa superfície horizontal plana.

• OUTRAS RECOMENDAÇÕES:

- **Não misture reagentes e tiras de teste de lotes diferentes.**
- Deixe os reagentes e as tiras atingirem a temperatura ambiente antes de utilizar.
- Utilize uma nova colher de amostragem para cada teste.

As recomendações acima são apenas directrizes; nenhum teste é 100% rigoroso em todas as circunstâncias e sob todas as condições. O objectivo deste teste é detectar os antígenos solúveis de *Giardia duodenalis* para diagnosticar Giardiose. Todos os resultados de teste devem ser interpretados com base no historial do doente, no exame físico e nos resultados de quaisquer testes de diagnóstico posteriores. O diagnóstico definitivo continua a ser da competência e da responsabilidade do veterinário.

A Bio Veto Test e os seus distribuidores não podem ser responsabilizados pelas consequências de uma utilização indevida ou má interpretação dos resultados do teste.

Anexo 3



Foto Teste Speed Giardia, clínica Moilebeau, Suíça.
Fonte: Original do autor

Anexo 4

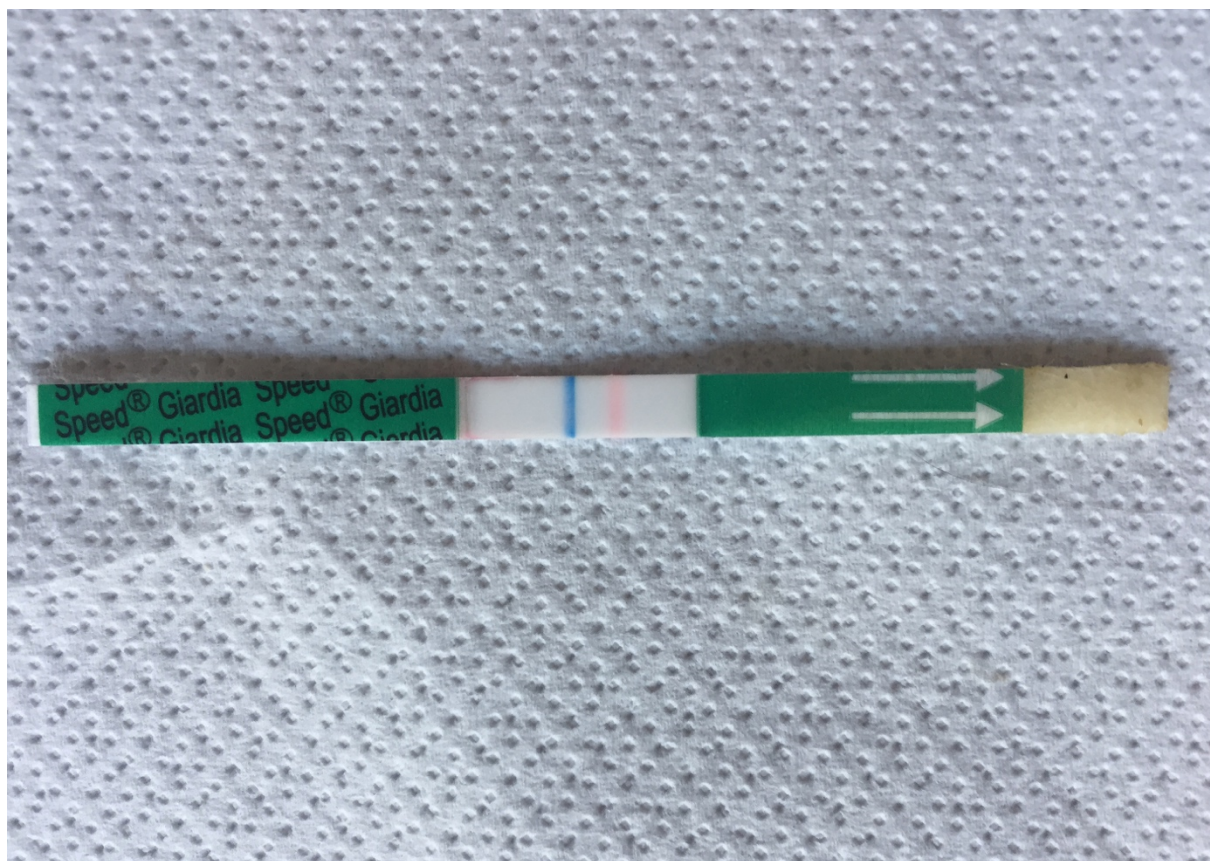


Foto Teste Speed Giardia positivo clínica Moillebeau, Suíça.
Fonte: Original do autor