

PESQUISA DE CISTOS DE *Giardia* spp. EM FEZES DE PSITACÍDEOS CATIVOS

Cristiano Alves Fernandes¹, André Grespan², Terezinha Knöbl^{3*}

RESUMO - *Giardia* spp é um protozoário flagelado de distribuição mundial responsável pelo quadro de giardíase em aves e mamíferos. O objetivo deste trabalho foi determinar a frequência de ocorrência de cistos de *Giardia* spp. nas fezes de psitacídeos cativos. Foram avaliadas 120 amostras de fezes coletadas de 60 aves saudáveis e 60 aves doentes. A presença do cisto do parasita foi determinada pelo exame coproparasitológico, pela técnica de concentração por centrifugação. Os resultados obtidos revelaram uma frequência de ocorrência de 46,6%. A frequência no grupo de aves saudáveis foi de 48,3%, ligeiramente superior à frequência observada no grupo de aves doentes (45%). Os dados deste trabalho alertam para a presença do parasita nas fezes de psitacídeos cativos.

Palavras-chave: aves, doenças parasitárias, *Giardia* spp., psitacídeos.

Cysts of *Giardia* spp. in fecal samples of psittacine birds

ABSTRACT - *Giardia* spp is a flagellate protozoan that presents a worldwide distribution, causing giardiasis in birds and mammals. The aim of this study was to determine the occurrence of *Giardia* spp. in the feces of captive psittacine birds. A total of 120 feces samples were collected from 60 healthy birds and 60 sick ones. The presence of the parasite was assessed by feces examination, after concentration by centrifugation. Results revealed an occurrence of 46.6%. Frequency in the group of healthy birds was 48.3%, slightly higher than the frequency observed in sick birds (45%). Data from this study is a warning on the presence of the parasite in feces samples of captive psittacine birds.

Keywords: birds, parasitic diseases, *Giardia* spp., psittacine birds.

¹Médico Veterinário Autônomo; ²Médico Veterinário, Proprietário da clínica WildVet. ³Laboratório de Medicina Aviária do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade de São Paulo. E-mail tknobl@usp.br; *autora para contato.

INTRODUÇÃO

Giardia spp. é um protozoário flagelado, monoxênico, pertencente à família *Hexamitidae*, que coloniza o intestino delgado de vários hospedeiros incluindo mamíferos, aves, répteis e anfíbios, sendo responsável pelo quadro de giardíase. Apresenta-se com distribuição mundial, principalmente em países em desenvolvimento, sendo mais frequente entre hospedeiros com comprometimento imunológico (Acha; Szyfres 2003).

Este parasita apresenta duas formas morfológicamente distintas, denominadas trofozoíto e cisto. O cisto é a forma infectante e resistente no meio ambiente, sendo facilmente transmitido às aves por via indireta em situação de cativeiro e elevada densidade (Ivanov 2010).

As manifestações clínicas provocadas pela giardíase são complexas e variam individualmente na dependência do hospedeiro. De modo geral, as principais manifestações nas aves são emagrecimento, diarreia crônica de coloração variável, depressão, anorexia, ressecamento da pele e bicamento de penas em região carpo-metacarpal (Rupley 1999, Zucca; Delogu 2010). A doença pode provocar óbito de aves jovens e o agravamento do quadro está relacionado à superlotação, estresse e infecções secundárias (Wolfe 1992).

As lesões decorrentes do processo inflamatório induzidas pelo parasita resultam em hiperplasia das criptas, apoptose celular, intensa infiltração de células plasmáticas, linfócitos e leucócitos polimorfonucleares (Olson; Buret 2001, Ivanov 2010). A presença do parasita acarreta um prejuízo funcional na absorção de gorduras e vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K) vitamina B₁₂ e ferro (Adam 2001, Olson; Buret 2001, Ivanov 2010). A redução da digestão e absorção de solutos pode ocasionar diarreia osmótica com formação de gases resultantes da degradação bacteriana (Wolfe 1992).

As diferentes espécies de *Giardia* são classificadas com base na morfologia do trofozoíto, através de microscopia óptica (Quadro 1). As espécies *Giardia psittaci* e *Giardia ardeae* que acometem as aves foram descritas após a invenção da microscopia eletrônica (Guimarães et al. 1999). Segundo Erlandsen et al. (1991), estas espécies apresentam uma especificidade de hospedeiro e não há possibilidade de transmissão para os mamíferos, devido aos fatores fisiológicos intestinais e diferenças de temperatura corporal.

Quadro 1 - Espécies de *Giardia* e seus respectivos hospedeiros.

Espécies	Hospedeiro
<i>G. duodenalis</i>	Homem, mamíferos domésticos e silvestres
<i>G. agilis</i>	Anfíbios
<i>G. muris</i>	Roedores
<i>G. ardeae</i>	Aves
<i>G. psittaci</i>	Aves
<i>G. microti</i>	Roedores

Fonte: Monis et al.(2008) (adaptado).

Ainda existem muitas controvérsias em relação ao potencial zoonótico que as aves desempenham na disseminação ao meio ambiente de *Giardia duodenalis*, já que muitos pesquisadores acreditam que a *Giardia* que causa o quadro de giardíase em aves é espécie-

específica (Erlandsen et al. 1991, Wolfe 1992, Adam 2001, Olson; Buret 2001, Ivanov 2010). De acordo com Guimarães et al. (1999) e Majewska et al. (2009), a espécie *Giardia duodenalis* acomete as aves, além do homem, mamíferos domésticos e animais silvestres. Recentemente os pesquisadores conseguiram detectar e caracterizar *Giardia duodenalis* de amostras fecais de aves, com auxílio de técnicas moleculares (Monis et al. 2008, Majewska et al. 2009, Plutzer; Tomor 2009). A similaridade genética e estrutural entre amostras isoladas de diferentes hospedeiros tem sugerido risco de transmissão entre espécies, reforçando a hipótese de risco à saúde pública (Thompson; Monis 2004, Monis et al. 2008).

Monis et al. (2008), com auxílio de técnicas moleculares baseadas na utilização de isoenzimas estabeleceram uma relação de agrupamento entre alguns perfis enzimáticos e os respectivos hospedeiros, propondo uma nova classificação conforme ilustra o Quadro 2.

Quadro 2 - Nova Classificação de <i>Giardia</i> proposta por Monis et al. (2008).	
Espécie (= agrupamento)	Hospedeiro
<i>G. duodenalis</i> (= agrupamento A)	Homem, primatas, cães, gatos, bovinos, roedores e mamíferos silvestres
<i>G. enterica</i> (= agrupamento B)	Homem, primatas, cães, algumas espécies de mamíferos silvestres.
<i>G. agilis</i>	Anfíbios
<i>G. muris</i>	Roedores
<i>G. psittaci</i>	Aves
<i>G. ardeae</i>	Aves
<i>G. microti</i>	Roedores
<i>G. canis</i> (= agrupamento C e D)	Cães, outros canídeos
<i>G. cati</i> (= agrupamento F)	Gatos
<i>G. bovis</i> (= agrupamento E)	Bovinos, ovinos, suínos
<i>G. simondi</i> (= agrupamento G)	Ratos

Fonte: Monis et al. (2008).

O objetivo deste trabalho foi pesquisar a presença de cistos de *Giardia* spp. em fezes de psitacídeos clinicamente saudáveis e doentes.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram coletadas 120 amostras de fezes de psitacídeos de 35 espécies distintas, sendo 60 amostras oriundas de aves saudáveis e 60 amostras de aves que apresentavam sinais inespecíficos de doença (penas eriçadas, prostração e sonolência), internadas em uma clínica especializada em animais selvagens para tratamento de suporte. As amostras foram coletadas individualmente no fundo das gaiolas com auxílio de palitos de madeira estéreis. Após a coleta, as amostras foram armazenadas em recipientes de vidro assepticamente contendo 1 mL de solução de formol a 10%.

As amostras foram transportadas ao laboratório, onde foram processadas pela técnica de concentração por centrifugação para identificação de cistos e/ou trofozoítos de *Giardia* (Garcia et al. 2006). Para cada amostra foram realizadas duas lâminas identificadas com numeração arábica. A visualização dos cistos de *Giardia* spp. foi realizada com auxílio de microscópio em objetiva 40 e

o resultado foi classificado em positivo (presença dos cistos/trofozoítos) ou negativo (ausência dos cistos/trofozoítos).

RESULTADOS

Os resultados apontaram um total de 56/120 (46,6%) aves positivas para *Giardia* spp. Considerando-se o estado clínico dos animais, observou-se que no grupo de aves clinicamente saudáveis 29/60 (48,3%) psitacédeos foram positivos para *Giardia* spp, enquanto no grupo de aves doentes 27/60 (45%) foram positivas.

No grupo de aves doentes foram analisadas 19 espécies de psitacédeos e o parasita foi detectado em 11/19 (57,8%), conforme ilustra a tabela 1. Já, no grupo de aves saudáveis, observou-se que 16 (59,25%) das 27 espécies foram positivas para *Giardia* spp. e 11/27 (40,74%) negativas. Não foi possível determinar quais as espécies de aves com maior taxa de infecção, pois o número de exemplares de algumas espécies era muito baixo para permitir uma comparação com significância estatística.

Tabela 1. Espécies de psitacédeos avaliadas para a presença de cistos/trofozoítos de *Giardia* spp. nas fezes (nº. positivos/ nº. exemplares avaliados). São Paulo, 2014

Nome científico	Aves saudáveis	Aves doentes
<i>Agapornis</i> spp.	1/3	2/4
<i>Amazona aestiva</i>	2/11	4/11
<i>Amazona amazônica</i>		0/1
<i>Amazona pretreiri</i>		0/1
<i>Amazona vinacea</i>		1/1
<i>Anodorhynchus hyacinthinus</i>		1/1
<i>Ara ararauna</i>	1/3	
<i>Ara catalina</i>	1/1	
<i>Ara chloroptera</i>	2/2	0/1
<i>Ara severa</i>	1/1	
<i>Aratinga aurea</i>	1/1	
<i>Aratinga jandaya</i>	4/4	3/5
<i>Aratinga solstitialis</i>	3/3	0/1
<i>Aratinga weddellii</i>	0/2	
<i>Brotogeris versicolurus chiriri</i>		2/4
<i>Cacatua alba</i>	0/1	
<i>Cacatua galerita galerita</i>	2/2	
<i>Cacatua golffini</i>	1/1	
<i>Deropterus accipitrinus</i>	0/1	
<i>Diopsittaca nobilis</i>		0/1
<i>Eos bornea</i>		1/1
<i>Guaruba guarouba</i>	0/1	1/2
<i>Lorius garrulus</i>	0/1	
<i>Lorius lory</i>	0/1	0/1
<i>Melopsittacus undulatus</i>	1/1	2/5
<i>Nymphicus hollandicus</i>	4/8	9/16
<i>Pionites leucogaster</i>	0/1	1/1
<i>Platycercus eximius</i>	0/1	0/1
<i>Poicephalus senegalus</i>	½	
<i>Psittacula alexandri</i>	2/2	
<i>Psittacula cyanocephale</i>		0/1
<i>Psittacula krameri</i>	2/0	
<i>Psittacus erithacus erithacus</i>	0/2	
<i>Pyrrhura picta roseifrons</i>	0/1	
<i>Trichoglossus haematodus haematodus</i>	0/1	
Total	29/60	27/60

DISCUSSÃO

Poucos estudos nacionais têm sido realizados para analisar a frequência da *Giardia* spp. em aves. De acordo com a pesquisa realizada por Andrade (2010), 53 amostras de fezes de psitacídeos que apresentavam um ou mais distúrbios intestinais foram estudadas para averiguar a presença do protozoário nas fezes. Das 53 amostras, 29 foram positivas para *Giardia* e em 9 amostras foram detectados outros parasitas. Já o trabalho realizado por Fernandes et al. (2010), analisando a presença de *Giardia* spp. em 54 amostras de fezes de calopsitas (*Nymphicus hollandicus*), revelou 34 amostras positivas para o protozoário. Nosso estudo detectou uma frequência de 46,6%, ligeiramente inferior aos dados obtidos por Fernandes et al. (2010) (56%) e Andrade (2010) (57,7%).

Plutzer e Tomor (2009), analisando o papel das aves na disseminação de *Cryptosporidium* e *Giardia duodenalis* aos humanos, utilizaram 132 amostras de fezes, sendo 103 de animais silvestres e 29 de animais domésticos. Através de técnicas moleculares como PCR e sequenciamento genético determinaram a espécie de *Giardia* envolvida. Das 103 amostras 6 (5,82%) representavam amostras compreendidas por *Cryptosporidium* e 6 (5,82%) *Giardia duodenalis*. Das 29 amostras de aves domésticas 4 (13%) apresentava-se com *Cryptosporidium* e 7 (24%) de *Giardia duodenalis*.

No trabalho realizado por Majewska et al. (2009), foram analisadas 499 amostras de fezes de aves por técnicas convencionais, imunológicas e moleculares, sendo 308 amostras oriundas de animais de vida livre, 90 de cativeiro e 101 amostras de aves domésticas. Do total 5,21% (n=26) foram positivas para *Giardia duodenalis*, sendo que 23 aves eram de vida de livre, 2 de cativeiro e 1 ave doméstica. De acordo com Majewska et al. (2009) e Plutzer e Tomor (2009), as aves representam uma grande importância na disseminação do protozoário *Giardia duodenalis* para o meio ambiente e conseqüentemente representam risco a saúde pública dado o potencial zoonótico na transmissão de giardiase.

O quadro de giardiase pode ocorrer de forma aguda, crônica ou de forma assintomática nos hospedeiros (Wolfe 1992, Smith et al. 2007, Monis et al. 2008), mas em situações de estresse, má nutrição, imunossupressão e por enfermidades secundárias o desenvolvimento da doença pode agravar-se (Hunter; Thompson 2005, Masello et al. 2006, Ivanov 2010, Zucca; Delogu 2010). Dados evidenciados no presente estudo comprovam que a frequência do parasita é elevada tanto nas aves enfermas quanto no grupo de aves clinicamente saudáveis.

As manifestações de doença em aves incluem sinais clínicos inespecíficos, como eriçamento de penas, depressão e sonolência. Segundo a literatura, suspeita-se de giardiase quando as aves apresentam diarreia crônica, emaciação, bicamento de pena e ressecamento de pele (Silvanose et al. 1998, Acosta et al. 2008, Marietto Gonçalves 2010, Zucca; Delogu 2010). Dentre o grupo doente analisado, 11 aves apresentavam bicamento de penas e apenas seis tinham sinais de diarreia. Oito animais apresentavam a síndrome de dilatação do pro-ventrículo (PDD), com indícios claros de imunossupressão. A comparação dos dados de positividade, no entanto, não apresentou uma correlação positiva com nenhuma das 3 condições (diarreia, bicamento de pena ou PDD). Este

fato, associado ao elevado percentual de positividade em aves assintomáticas, demonstra a dificuldade de associação entre a presença do parasita e a manifestação clínica de doença, dificultando o diagnóstico clínico, e ainda, reforça a necessidade de exames complementares para o correto diagnóstico desta parasitose.

Ainda segundo os dados de literatura, as principais espécies de aves acometidas pelo protozoário são periquitos australianos, calopsitas e agapornis (Cubas; Godoy 2006, Masello et al. 2006, Keymer; Samour 2010, Zucaa; Delogu 2010). Este estudo evidencia que outras espécies de aves são acometidas e sugere a necessidade de se pesquisar o parasita em todas as espécies de psitacídeos.

De acordo com a literatura os principais fatores de risco para a transmissão de *Giardia* spp. são a ingestão de alimentos e água contaminados, super-lotação e presença de contactantes (Wolfe 1992, Caccio et al. 2003, Hunter; Thompson 2005, Graczyk et al. 2007, Smith et al. 2007, Plutzer; Tomor 2009, Ivanov 2010). Neste estudo, a maioria das espécies era mantida em cativeiro e isto pode ter facilitado a disseminação do parasita. O estudo contou com apenas cinco aves de vida livre, 4 *Brotogeris versicolurus chiriri* que estavam enfermos e uma *Ara severa* clinicamente saudável. De acordo com a tabela 3, 2/4 (50%) *Brotogeris versicolurus chiriri* e *Ara severa* (1/1-100%) foram positivos para *Giardia* spp. É importante destacar que o objetivo deste trabalho não foi determinar as vias de transmissão do agente. A contaminação ambiental e a presença do protozoário na água das aves durante o período de internação não foram avaliadas e, desta forma, pouco se pode inferir sobre o modo de transmissão do agente em cativeiro.

No presente trabalho não foram realizadas caracterizações moleculares para a identificação de *Giardia duodenalis*, como nos trabalhos realizados por Majewska et al. (2009) e Plutzer e Tomor (2009). A diferenciação das espécies de *Giardia* encontradas nos psitacídeos cativos passa a ser de suma importância em trabalhos futuros, especialmente para avaliar o risco de transmissões interespecíficas e o potencial zoonótico da manutenção de psitacídeos como *pets*.

Novos trabalhos com maior número amostral são necessários para avaliar as espécies de aves mais acometidas pelo protozoário, bem como determinar o potencial zoonótico do agente.

CONCLUSÕES

Este estudo revelou a presença de cistos do parasita em várias espécies de psitacídeos, além das já descritas pela literatura. Através deste estudo conclui-se que há uma elevada frequência de cistos de *Giardia* spp. em fezes de psitacídeos. A presença dos cistos no grupo de aves clinicamente saudáveis sugere a condição de portadores assintomáticos.

REFERÊNCIAS

- Acha PN, Szyfres B. Giardiasis. Zoonosis y Enfermedades transmissibles comunes al hombre y a los animales. 3 ed. USA: Organización Panamericana de la Salud; 2003. 47-52p.
- Acosta I, Soto CJ, Cruz E. *Giardia* spp (Diplomanadidade) em pericos australianos (*Melopsittacus undulatus*) em Cuba. Rev Salud Anim. 2008; 30(1): 63-64.
- Adam RD. Biology of *Giardia lamblia*. Clin Microb Rev. 2001; 14 (3): 447-475.
- Andrade AL. Giardíase em psitacíformes de cativo. Rev Anclivepa. 2010; 70: 26-29.
- Caccio SM, De Giacomo M, Aulicino FA, Pozio E. *Giardia* cysts in Wastewater treatment plants in Italy. Appl Environ Microbiol. 2003; 69 (6): 3393-3398.
- Cubas ZS, Godoy SN. Medicina e Patologia de Aves de Companhia. In: Aguilar R, Hernández Divers SM, Hernández Divers SJ. Atlas de Medicina, Terapêutica e Patologia de Animais exóticos. São Caetano do Sul: Interbook; 2006. 213-264.
- Erlandsen SL, Bemrick WJ, Jakubowski W. Cross-species transmission of avian and mammalian *Giardia* spp: Inoculation of chicks, ducklings, budgerigars, mongolian gerbils and neonatal mice with *Giardia ardea*, *Giardia duodenalis* (lamblia), *Giardia psittaci* and *Giardia muris*. Intern J Environ Health Res. 1991; 3: 144-152.
- Fernandes CA, Pandolfi KP, Ferreira PI, Knobl T, Silva MA, D'élia K. Pesquisa de *Giardia* spp em fezes de calopsitas (*Nymphicus hollandicus*). In: JOVET (FMU) – Jornada Acadêmica de Medicina Veterinária, 2010, São Paulo, BR, São Paulo, 2010.
- Garcia JG, Simões MJ, Alvarenga VL. Avaliação de diferentes métodos no diagnóstico laboratorial de *Giardia lamblia*. Ver Ciênc Farm Básica Apl. 2006; 27 (3): 253-258.
- Graczyk TK, Majewska AC, Schwab KJ. The role of birds in dissemination of human waterborne enteropathogens. Trends in Parasitol. 2007; 30 (10): 1-5.
- Guimarães S, Leme Sogayar MI, Fanco MI. *Giardia duodenalis*: Inter-strain variability of proteins, antigens, proteases, isoenzymes and nucleic acids. Rev Inst Med Trop São Paulo. 1999; 41 (1): 45-58.
- Hunter PR, Thompson RC. The zoonotic transmission of *Giardia* and *Cryptosporidium*. Intern J Parasitol. 2005; 35: 1181-1190.
- Ivanov AI. *Giardia* and Giardiasis. Bulg J Vet Med. 2010; 13 (2): 65-80.
- Keymer LF, Saumor J. Transtornos del aparato digestivo. In: Samour J. Medicina aviária. 2 ed. Espanha: Elsevier; 2010. 281-304.

- Majewska AC, Graczyk TK, Stodkoicz-Kowalska A, Tamang L, Zduniak P, Solarczyk P et al. The role of free-ranging, captive, and domestic birds of West Poland in environmental contamination with *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* cysts. *Parasitol Res.* 2009; 104 (5): 1093-1099.
- Marietto Gonçalves, GA. Manual de Emergências em aves. São Paulo: Medvet; 2010. 71-84p.
- Masello JF, Gustavo-Choconi R, Sehgal RN, Tell L, Quillfeldt P. Blood and intestinal parasites in wild psittaciformes: a case study of burrowing parrots (*Cyanoliseus patagonus*). *Ornitol Neotrop.* 2006; 17: 515-529.
- Monis PT, Caccio SM, Thompson RC. Variation in *Giardia*: towards a taxonomic revision of the genus. *Trends in Parasitol.* 2008; 25 (2): 93-100.
- Olson ME, Buret AG. *Giardia* and Giardiasis. In: Samuel WN, Pybus MJ, Kocan AA. *Parasitic Diseases of Wild Mammals*. 2 ed. USA: Iowa State University Press; 2001. p.399-415.
- Plutzer J, Tomor B. The role of aquatic birds in the environmental dissemination of human pathogenic *Giardia duodenalis* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in Hungary. *Parasitol Intern.* 2009; 58 (3): 227-231.
- Rupley A. *Sinais Dermatológicos*. São Paulo: Roca; 1999. 243-282p.
- Silvanose CD, Bailey TA, Samour JH, Naldo JL. Intestinal protozoa and associated bacteria in captive houbara bustards (*Chlamydotis undulata*) in the United Arab Emirates. *Avian Pathol.* 1999; 28: 94-97.
- Smith HV, Caccio SM, Cook N, Nichols RA, Tait A. *Cryptosporidium* and *Giardia* as foodborne zoonoses. *Vet Parasitol.* 2007; 149: 29-40.
- Thompson RC, Monis PT. Variation in *Giardia*: implication for taxonomy and epidemiology. *Adv Parasitol.* 2004; 58: 69-137.
- Zucca P, Delogu M. Protozoos. In: Samour J. *Medicina aviária*. 2 ed. Espanha: Elsevier; 2010. p.318-321.
- Wolfe MS. Giardiasis. *Clin Microbiol Ver.* 1992; 5 (1): 93-100.