

ANDRÉ LUÍS PAES GOMES DA CUNHA ANDRADE

Pesquisa de cistos de *Giardia* spp. em amostras fecais de psitacíformes cativos em
cidades da região litorânea do estado de São Paulo

Santos
2019

ANDRÉ LUÍS PAES GOMES DA CUNHA ANDRADE

Pesquisa de cistos de *Giardia* spp. em amostras fecais de psitacíformes cativos em cidades da região litorânea do estado de São Paulo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária no Meio Ambiente Litorâneo da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Metropolitana de Santos para a obtenção de título de Mestre.

Orientadora:

Profa. Dra. Juliana Martins Aguiar

Santos

2019

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: André Luís Paes Gomes da Cunha Andrade

Título: Pesquisa de cistos de Giardia spp. em amostras fecais de psitacíformes cativos em cidades da região litorânea do estado de São Paulo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária no Meio Ambiente Litorâneo da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Metropolitana de Santos para a obtenção de título de Mestre.

Data: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Dedicatória

Dedico à minha mãe **Maria Selma**, ao meu pai **José Carlos**, às minhas tias **Sirena** e **Maria Amélia**, por tudo que sempre fizeram e ainda fazem por mim, sem eles eu não estaria aqui. À minha irmã **Maria Fernanda** pelo companheirismo.

À minha esposa **Anna Carolina**, pela jornada e por ter me dado meus amados filhos **Luís Felipe** e **Pedro Henrique**.

Agradecimentos

Aos meus pacientes silvestres.

Aos funcionários da Faculdade de Medicina Veterinária e da Secretaria de Pós-Graduação UNIMES.

À **Paola Américo**, veterinários e funcionários da clínica veterinária 24h, Clinvet, pelo apoio.

À **Cristina Fotin** e ao **José H. Fontenelle**, pela amizade e por todo ensinamento na área clínica de animais silvestres.

Ao **Flávio de Souza**, pela amizade desde a época da faculdade e especialização. E pelas belas fotos de aves para minha apresentação.

À **Juliana Martins Aguiar**, pela generosidade, entusiasmo, conhecimento e dedicação. Foi uma honra ter você como minha orientadora nesse trabalho.

“A vida nunca é completa sem seus desafios”

(Stan Lee)

RESUMO

ANDRADE, A.L.P.G.C. **Pesquisa de cistos de *Giardia* spp. em amostras fecais de psitacídeos cativos em cidades da região litorânea do estado de São Paulo.** A survey of *Giardia* spp. cysts in fecal samples from psittaciformes captives in cities of the coastal region of Sao Paulo state. 2019. 33f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária no Meio Ambiente Litorâneo) – Faculdade de Medicina veterinária, Universidade Metropolitana de Santos, Santos, 2019.

A giardíase é uma zoonose de distribuição cosmopolita causada por protozoários flagelados pertencentes ao gênero *Giardia*. O parasita pode se apresentar de duas formas durante o seu ciclo de vida, trofozoíto e cisto. Ambos podem ser encontrados nas fezes, porém apenas os cistos conseguem sobreviver sob condições ambientais, sendo facilmente transmitido aos animais e seres humanos. A maioria das pessoas infectadas não apresenta sintomas, porém, pode ocorrer diarreia, dor abdominal, desidratação, perda de peso, entre outros. Em aves, os principais sintomas são emagrecimento, diarreia, desidratação e anorexia. Também pode causar ressecamento da pele e bicamento de penas. A doença pode provocar óbito nas aves e o agravamento do quadro está relacionado à superlotação, estresse e desnutrição. Psitacídeos (arara, calopsita, papagaio, periquito, etc.) são aves caracterizadas pelo bico curvo, zigodactilia (dois dedos dos pés para frente e dois para trás), maxila móvel e capacidade de imitar voz humana. São inteligentes e interagem bem com seres humanos, por esses motivos são muito utilizados como aves de companhia. Devido a desinformação dos proprietários, essas aves sofrem com manejo nutricional e ambiental equivocados, tornando-as suscetíveis a diversas enfermidades, como a giardíase. O presente trabalho tem como objetivo determinar a frequência de ocorrência de cistos de *Giardia* em fezes de psitacídeos cativos em municípios da Baixada Santista através do método de Sheather modificado, que consiste em uma técnica de flutuação em sacarose e também, o método de Ritchie modificado, que consiste em técnica de centrífugo-sedimentação utilizando água e éter. Foram analisadas 130 amostras fecais, sendo 58 positivas para *Giardia* spp. (46,6%). Ambas as técnicas utilizadas tiveram a mesma eficácia. Esses resultados demonstram elevada frequência de cistos de *Giardia* em fezes de psitacídeos de companhia em região litorânea.

Palavras-chave: Giardíase, *Giardia*, aves, psitacídeo, Baixada Santista

ABSTRACT

ANDRADE, A.L.P.G.C. **A survey of *Giardia* spp. cysts in fecal samples from psittaciformes captives in cities of the coastal region of Sao Paulo state.** Pesquisa de cistos de *Giardia* spp. em amostras fecais de psitaciformes cativos em cidades da região litorânea do estado de São Paulo 2019. 33f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária no Meio Ambiente Litorâneo) – Faculdade de Medicina veterinária, Universidade Metropolitana de Santos, Santos, 2019.

Giardiasis is a cosmopolitan distribution zoonosis caused by flagellated protozoa belonging to the *Giardia*'s genus. The parasite can present itself in two forms during its life cycle, trophozoite and cyst. Both forms can be found in feces, but only cysts can survive under environmental conditions and are easily transmitted to animals and humans. Clinical manifestations caused by giardiasis vary individually depending on the host. Most infected people have no symptoms, but diarrhea, abdominal pain, dehydration, weight loss, and others may occur. The main manifestations in birds are weight loss, diarrhea, dehydration, anorexia and weight loss. It can also cause skin dryness and self mutilation. The disease can cause death in birds and the worsening of the condition is related to overcrowding, stress and malnutrition. Psittacine (macaw, cockatiel, parrot, parakeet, etc.) are birds characterized by curved beak, zygodactyly (two toes forward and two back), movable jaw, and ability to mimic human voice. They are intelligent and interact well with humans, so they are widely used as companion birds. Due to misinformation of the owners, these birds suffer from mistaken nutritional and environmental management, making them susceptible to various diseases, such as giardiasis. The present work aims to determine the frequency of occurrence of *Giardia* cysts in captive parrot feces in municipalities of Baixada Santista through the modified Sheather method, which consists of a sucrose flotation technique and also the modified Ritchie method which consists of a centrifugal-sedimentation technique using water and ether. To date, 130 samples have been analyzed, 58 positive for *Giardia* (46.6%). Both techniques have been equally effective. These results demonstrate a high frequency of *Giardia* cysts in companion psittacine feces in littoral.

Keywords: Giardiasis, birds, psittacine, Baixada Santista

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Espécies de <i>Giardia</i> reconhecidas atualmente e seus respectivos hospedeiros	14
Quadro 2 – Grupos de <i>G. duodenalis</i> e seus respectivos hospedeiros.....	15
Quadro 3 – Número de espécies com amostras fecais positivas: com sintomas gastrointestinais, assintomáticas e com sintoma de automutilação.....	21
Quadro 4 – Número total de amostras por cidade e amostras fecais positivas.....	22
Quadro 5 – Espécies com amostras fecais negativas: com sintomas gastrointestinais, assintomáticas e com sintoma de automutilação.....	22

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BID – Duas vezes ao dia

ml – Mililitro

Mg – miligrama

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCR – Reação em Cadeia pela Polimerase

Mm – Micrômetro

UI- Unidade

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	OBJETIVO	17
3	MATERIAIS E MÉTODOS	18
3.1	Amostras fecais	18
3.2	Análises das amostras.....	19
4	RESULTADOS	20
5	DISCUSSÃO	23
6	CONCLUSÃO	27
	REFERÊNCIAS	28

INTRODUÇÃO

Giardia é um protozoário flagelado que parasita o intestino delgado de mamíferos, aves, répteis e anfíbios, causando uma doença chamada de Giardíase (GUIMARÃES, 1999). A Organização Pan-Americana de Saúde considera a giardíase uma enfermidade zoonótica cosmopolita com potencial epidêmico, que acomete tanto populações de países desenvolvidos como subdesenvolvidos (ACHA & SZYFRES, 2003). Devido distribuição mundial, a Organização Mundial da Saúde (OMS) incluiu a giardíase no grupo de doenças negligenciadas (SAVIOLI, 2006).

A primeira descrição do protozoário foi em 1681 por Van Leeuwenhoek, que visualizou o trofozoíto em suas próprias fezes diarreicas. Em 1859 foi descrito com mais detalhes por Lambl, que o nomeou de *Cercomonas intestinalis*. O nome *Giardia* foi descrito, pela primeira vez, em 1882 por Kunstler, que havia identificado o protozoário no intestino de girinos. Em 1888, Blanchard nomeou o parasito de *Lambliia intestinalis* e, em 1902, Stiles mudou para *G. duodenalis* (ADAM, 2001).

Giardia apresenta duas formas morfológicas distintas – o cisto e o trofozoíto. Os cistos possuem formato oval, sendo constituídos de uma parede hialina fina e exibindo dimensões de 8-12/7-10 μ m. São inicialmente binucleados, porém a forma madura apresenta quatro núcleos, corpos medianos curvados e axonemas longitudinais (IVANOV, 2010). Os cistos são a forma infectante do parasito e resistem por meses a condições ambientais diversas (ADAM, 2001). Os trofozoítos apresentam formato piriforme, quatro pares de flagelos, dorsalmente convexos e com disco ventral. Surgem a partir do rompimento dos cistos pelo contato com os ácidos gástricos. Demonstram pequenas alterações morfológicas entre as diferentes espécies existentes de *Giardia*. Em *G. duodenalis*, os trofozoítos apresentam morfologia piriforme a oval, com corpos medianos em formato de garra, sendo simétricos bilateralmente e exibindo dimensões de 12-15/6-8 μ m (IVANOV, 2010; THOMPSON, 2002). Em *G. agilis*, espécie infectante de anfíbios, o trofozoíto apresenta um formato alongado e estreito, com corpos medianos claviformes, medindo 20-30/4-5 μ m. *G. muris*, que infecta roedores, os trofozoítos apresentam-se arredondados, com pequenos corpos medianos redondos e tamanho de 9-12/5-7 μ m. *G. ardeae*, parasita de aves, apresenta trofozoítos arredondados com entalhe no disco ventral proeminente, flagelo rudimentar e corpos medianos na forma de garras, com tamanho de aproximadamente 10/6,5 μ m. Uma segunda espécie infectante de

aves, *G. psittaci*, apresenta trofozoíto piriforme com flagelos ventro laterais e corpos medianos em formato de garras, com tamanhos de aproximadamente 14/6µm (THOMPSON, 2002).

Os trofozoítos se reproduzem por divisão binária e se aderem na mucosa do intestino delgado através do disco ventral, o que pode ocasionar os sintomas atribuídos à giardíase. Após a exposição a fluidos biliares, no jejuno, alguns trofozoítos formam novos cistos, que são eliminados nas fezes para o meio ambiente (ADAM, 2001).

Giardia e a giardíase são amplamente estudados, havendo constantes revisões sobre a sua biologia, atualização da taxonomia, epidemiologia e avanço nos estudos e caracterizações moleculares desses organismos (GUIMARÃES et al. 1999; ADAM, 2001; THOMPSON, 2000; MONIS et al., 2009; IVANOV, 2010; PLUTZER et al. 2010; THOMPSON & MONIS, 2011). O interesse sobre esses organismos é proveniente tanto do meio científico, em decorrência das características particulares desse organismo, quanto da área de saúde pública, pelo seu potencial em ocasionar impactos sociais e econômicos por sua distribuição cosmopolita e seu potencial zoonótico (FENG & XIAO, 2011). As infecções por *Giardia* são um problema de relevância social, especialmente em países subdesenvolvidos, uma vez que pode ser um fator importante no atraso de desenvolvimento infantil, ocasionando atraso cognitivo e prejuízos ao estado nutricional (CUNHA, 2017).

A taxonomia de *Giardia* é controversa, resultado de uma ampla gama de hospedeiros acometidos pelo parasito e ausência de características morfológicas que permitem uma distinção inequívoca quanto à especificidade parasitária (THOMPSON & MONIS, 2011). Essa controvérsia ocasionou a descrição de mais de 50 espécies do gênero *Giardia*, desde a primeira descrição detalhada em 1859 (THOMPSON & MONIS, 2004). Em 1952, Filice reavaliou o status das espécies então descritas pelos critérios de diferenciação disponíveis (morfologia e especificidade de hospedeiro). Questionando especificamente o critério de especificidade parasitária, o autor propôs por meio de características morfológicas (principalmente a forma dos corpos medianos internos e a forma e comprimento do corpo) a distinção de três grupos de *Giardia* - *G. duodenalis*, *G. agilis* e *G. muris* (THOMPSON; MONIS, 2011).

Morfologicamente, o gênero apresenta uma série de características que o distingue de todos os demais protozoários da família Hexamitidae, sendo a presença de um disco ventral, o que o diferencia dos demais organismos. De acordo com evidências morfológicas, a sistemática posiciona esse gênero no filo Sarcomastigophora, Subfilo Mastigophora, classe Zoomastigophora, ordem Diplomonadida (MORRISON et al. 2007; THOMPSON & MONIS, 2011).

Atualmente, com base em critérios morfológicos como forma do trofozoito e dos corpos medianos, características dos flagelos e disco ventral, são reconhecidas seis espécies associadas a hospedeiros diversos: *Giardia duodenalis*, uma espécie reconhecida como parasita de humanos e animais domésticos e selvagens; *G. microti* e *G. muris*, espécies parasita de roedores; *G. agilis*, parasita de anfíbios; *G. psittaci* e *G. ardeae*, parasitas de aves (ADAM, 2001; ABE et al., 2012). O quadro 1 reúne as espécies de *Giardia* atualmente conhecidas com seus respectivos hospedeiros.

QUADRO 1 – Espécies de *Giardia* reconhecidas atualmente e seus respectivos hospedeiros

Espécies	Hospedeiros
<i>G. duodenalis</i>	Humanos e animais domésticos e selvagens
<i>G. microti</i>	Roedores
<i>G. muris</i>	Roedores
<i>G. agilis</i>	Anfíbios
<i>G. psittaci</i>	Aves
<i>G. ardeae</i>	Aves

Fonte: MONIS et al., 2008 (Adaptado)

As espécies infectantes para seres humanos pertencem ao grupo morfológico *G. duodenalis* (sinonímia: *G. lamblia* e *G. intestinalis*). Esse grupo morfológico parasita uma ampla gama de espécies de mamíferos. O avanço de técnicas de estudo moleculares permitiu reconhecer que essa espécie apresenta considerável variabilidade genética (THOMPSON et al. 2000; PLUTZER et al. 2010). São reconhecidos oito diferentes grupos genotípicos isolados em humanos e outros mamíferos (nomeados de A a H). Os genótipos isolados em humanos são aqueles pertencentes aos grupos A e B. O grupo A pode ser dividido em dois subgrupos – AI, isolada em diversos animais de criação, em animais domésticos, silvestres e humanos, apresentando, portanto, elevado potencial zoonótico; e AII, isolado

somente em humanos. O grupo B é formado por um grupo geneticamente diverso (THOMPSON, 2000), composto por outros dois subgrupos, BIII e BIV, sendo BIV humano-específico. Os grupos C e D foram isolados somente em cães e o grupo E foi isolado em animais de criação (gado bovino, ovelhas, porcos). O grupo F foi isolado em felinos e o grupo G, em roedores. Um oitavo grupo, o H, foi isolado em animais marinhos (MONIS & THOMPSON, 2003; FENG & XIAO, 2011). O quadro 2 reúne os grupos genotípicos de *Giardia duodenalis* e seus respectivos hospedeiros.

QUADRO 2 – Grupos de *G. duodenalis* e seus respectivos hospedeiros

<i>Giardia duodenalis</i>	Hospedeiros
Grupo AI	Humanos e animais domésticos e selvagens
Grupo AII	Roedores
Grupo BIII	Grupo geneticamente diverso
Grupo BIV	Humanos
Grupo C	Cães
Grupo D	Cães
Grupo E	Gado bovino, ovelhas e porcos
Grupo F	Felinos
Grupo G	Roedores
Grupo H	Animais marinhos

Fonte: Monis et al., 2008. (Adaptado)

Alguns pesquisadores acreditavam que *Giardia* era espécie específica. Por esse motivo, as aves não poderiam transmitir a doença para os humanos e outros mamíferos (ADAM, 2001; IVANOV, 2010; FERNANDES et al. 2014). No entanto, estudos através do exame de biologia molecular, detectaram cistos de *G. duodenalis*, grupos A e B, em diversas espécies de aves pelo mundo. Em Uberlândia, cidade localizada no estado de Minas Gerais, foi identificado cisto de *G. duodenalis* grupo A em fezes de tucano-toco (*Ramphastos toco*) (CUNHA et al. 2017). Na Itália, foi identificado cisto do grupo A em amostras de psitacídeos da espécie marianinha-de-cabeça-amarela (*Pionites leucogaster*) (PANINI et al. 2012). Na Galícia, localizada no norte da Espanha, foi detectado cisto do grupo B em águia-de-asa-redonda (*Buteo buteo*), codorna (*Coturnix coturnix*) e em pica-pau (*Pica pica*) (FERNANDEZ et al., 2015).

A contaminação de águas com material fecal de seres humanos e animais domésticos pode ser uma importante via de transmissão de parasitos zoonóticos aos animais silvestres (APPELBEE et al., 2005; MAJEWASKA et al., 2009;

THOMPSON, 2013). Animais como aves aquáticas apresentam maior probabilidade de infecção por estarem constantemente em contato com águas contaminadas (CACCIÒ et al., 2008). Na Hungria foi identificado cisto de *G. duodenalis* grupo A em fezes de pato (*Anas strepera*) e do grupo B em fezes de gansos (*Anser anser*) (PLUTZER & TOMOR, 2009).

A infecção no hospedeiro ocorre pela ingestão dos cistos através de água e alimento contaminados. A transmissão pode ocorrer de pessoa para pessoa, de animal para animal e, a mais comum, a transmissão zoonótica (ADAM, 2001; PLUTZER et al. 2010).

O sintoma mais comum da giardíase é a diarreia, podendo também ocorrer flatulência, dores abdominais, perda de peso, náuseas, vômitos, desnutrição e desidratação provocados por má absorção de nutrientes. No entanto, em muitos casos as infecções permanecem assintomáticas (THOMPSON et al., 1993; IVANOV, 2010). Segundo Wolfe (1992), alguns pacientes com giardíase podem desenvolver intolerância à lactose.

Estudos recentes demonstram que a giardíase ocasiona alterações patofisiológicas, entre elas, a mudança da permeabilidade de enterócitos produzida por efeito citopatogênico dos metabólitos do parasita (IVANOV, 2010), resultando em danos à mucosa e às microvilosidades intestinais, inflamação e problemas gastrointestinais (SCOTT et al. 2002; ADAM, 2001), além de apoptose e perda da função de barreira do epitélio (IVANOV, 2010).

As aves, principalmente psitacídeos, representam a maioria das espécies silvestres mantidas como animais de companhia (pet) em nosso meio, sendo grande parte proveniente do tráfico de animais (FOTIN & MATUSHIMA, 2005). Mundialmente existem em torno de 344 espécies de psitacídeos, onde 72 delas estão presentes no Brasil (SICK, 2001).

Os psitacídeos são aves que apresentam algumas características próprias como bico curvo, maxila móvel, zigodactília (dois dedos dos pés voltados para frente e dois para trás) e capacidade de imitar a voz humana (SICK, 2001). Bastante inteligentes e com alta capacidade de interação com os seres humanos, são muito apreciadas como animais de companhia (GODOY, 2006). A espécie mais utilizada como ave de estimação é a calopsita (*Nymphicus hollandicus*), contudo, outras espécies de psitacídeos também são desfrutadas como pet, tais como papagaio-verdadeiro (*Amazona aestiva*), papagaio do mangue (*Amazona amazona*), periquito-

australiano (*Melopsittacus undulates*), agapornis (*Agapornis spp*), arara-canindé (*Ara arauna*), ring-neck (*Psittacula kramera*), periquito-verde (*Brotoogeris tirica*), jandaia (*Aratinga jandaya*) e ararajuba (*Garouba garouba*) (GRESPLAN & RASO, 2009).

Devido à falta de informação dos proprietários, a maioria das aves domésticas é alimentada de forma inadequada, com a dieta baseada em mistura de sementes, tornando-as suscetíveis às diversas enfermidades, dentre elas, a giardíase (FOTIN & MATUSHIMA, 2005; GODOY, 2006).

Giardia é o parasito intestinal mais comum em psitacídeos de companhia, como calopsitas, periquitos-australianos e agapornis, podendo ocasionar surtos com alta mortalidade de filhotes (MACDONELL, 2003). Algumas aves infectadas podem ser assintomáticas, outras apresentam diarreia, apatia, desidratação, anorexia e emagrecimento (RUPLEY, 1999; GODOY, 2006; MACDONELL, 2003; ZUCCA & DELOGU, 2010). Outro sintoma que pode ocorrer com a doença é a automutilação, que consiste no arrancamento das penas pela própria ave (GODOY, 2006). A causa mais comum de automutilação, além da giardíase, é a deficiência de vitamina A e o estresse (RUPLEY, 1999).

O diagnóstico é realizado através de exames clínicos e laboratoriais. O teste mais usual e primeiro parâmetro para identificação de *Giardia* é o de microscopia pelas técnicas de flutuação e de sedimentação. Segundo Zajac e Conboy (2012), em medicina veterinária, o método de flutuação é o mais utilizado na prática para coprologia. Para identificação genotípica do cisto é necessário fazer exames de biologia molecular, como o PCR, que tem alta especificidade e sensibilidade para diferenciação gênica. Outros exames laboratoriais incluem teste de ELISA e o histopatológico (IVANOV, 2010).

O tratamento de aves com giardíase é realizado através da administração de benzoilmetronidazol ou secnidazol, além de tratamento suporte (soroterapia, suplementação vitamínica e alimentação forçada) (GODOY, 2006).

2 OBJETIVOS

Identificar, através de técnicas coproparasitológicas, cistos de *Giardia* spp. em fezes de psitacídeos provenientes da Baixada Santista.

Determinar a frequência de ocorrência do protozoário nos psitacídeos cativos em municípios da Baixada Santista.

Relacionar a presença de *Giardia* spp. com a condição clínica dos animais.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa foi realizada entre os meses de agosto de 2017 a junho de 2019 e conduzida no laboratório multidisciplinar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Metropolitana de Santos (UNIMES).

3.1 Amostras fecais

Foram utilizadas no estudo 130 amostras fecais de psitacídeos de companhia. As amostras foram provenientes das cidades de Santos (78), São Vicente (30), Praia Grande (17), Cubatão (03) e Guarujá (02), onde os animais passaram por consulta médica veterinária.

O proprietário do animal foi orientado a forrar o fundo da gaiola, ou viveiro, com papel alumínio, com o cuidado para que o psitacídeo não entrasse em contato com o material. A ave era confinada por três horas e em seguida, as fezes eram colhidas com a espátula estéril e colocadas no coletor universal. O coletor era armazenado em refrigerador e o proprietário repetia o procedimento por mais duas vezes, coletando as três amostras no mesmo pote, em dias alternados (48 e 96 horas). Após o processo, a amostra era encaminhada a uma clínica veterinária da cidade de Santos. Se o proprietário não pudesse entregar o material em até 24 horas após a última coleta, era cedido uma solução com bicarbonato de potássio a 2%, para melhor conservação da amostra.

Todos os animais passavam por exame físico e as seguintes informações eram coletadas: espécie da ave, presença de manifestações clínicas de gastroenterite e sinais de automutilação.

Das 130 amostras, houve 68 de calopsita, 29 de papagaio-verdadeiro, 13 de periquito-australiano, sete de agapornis, quatro de arara-canindé, três de ring-neck, três de periquito-verde, duas de papagaio-do-mangue e uma de jandaia.

3.2 Análise das amostras

Foram realizadas duas técnicas de exame coproparasitológico, Ritchie Modificado e Sheather Modificado. O exame de Ritchie Modificado consiste no

método de centrífugo-sedimentação com solução de água e éter e lugol para corar. O exame de Sheather Modificado consiste na flutuação espontânea com uma solução hipersaturada de sacarose.

Ambas são visualizadas em aumento de 40, 100 e 400 vezes do microscópio. Para processar essas técnicas, foram utilizados becker, compressa de gaze, palito de sorvete, estante para tubo de ensaio, tubo de centrífuga de 15ml, lâmina e lamínula de microscópio.

Na técnica de Ritchie modificado, é realizado o seguinte processo: as fezes são homogeneizadas com palito de madeira, retirada aproximadamente um grama, e diluída com nove mililitros de água em um copo e filtrada por uma gaze para outro copo. É feito o depósito do conteúdo em tubo de centrífuga, acrescentando três ml de éter. O tubo é fechado, homogeneizado e colocado na centrífuga com a velocidade de 4500 rotações por minuto, por cinco minutos. Passado esse processo, é descartado o sobrenadante até o sedimento. Pinga-se uma gota dessa solução na lâmina e acrescenta-se uma gota de lugol. O material é visualizado no microscópio (RITCHIE, 1948).

A técnica de Sheater modificado tem um processo inicial de homogeneização semelhante ao Ritchie modificado, só que ao invés da água a diluição é feita com solução hipersaturada de sacarose. Deposita-se o material no tubo de centrífuga, até formar um menisco convexo. Coloca-se uma lamínula sobre o tubo, disposto em uma estante de tubos, e aguarda-se por 15 minutos. Após esse período, retirar a lamínula e colocá-la sobre a lâmina para visualizar no microscópio (SHEATER, 1923).

RESULTADOS

Das 130 amostras de fezes analisadas, 58 foram positivas (44,6%) e 72 negativas (55,4%), para identificação de cisto de *Giardia* spp., através das técnicas coproparasitológicas, Sheather modificado e Ritchie modificado.

Das 58 amostras positivas, 23 (39,6%) psitacídeos apresentaram algum sintoma gastrointestinal como diarreia, emagrecimento e apatia; oito (13,8%) apresentaram sinais de autotraumatismo em região peitoral; e 27 (46,6%) não apresentavam sinais clínicos de gastroenterite.

Das 23 aves positivas, com manifestações clínicas de gastroenterite, 14 (60,9%) eram calopsitas, três (13,1%) papagaios-verdadeiros, dois (8,8%) agapornis, um (4,3%) periquito-australiano, um (4,3%) papagaio-do-mangue, uma (4,3%) jandaia e um (4,3%) ring-neck.

Dos animais com autotraumatismo, quatro (50%) eram papagaios-verdadeiros, dois (25%) agapornis, um (12,5%) periquito-australiano e um (12,5%) papagaio-do-mangue. Todas essas aves apresentavam sintomas de hipovitaminose A (como descamação de pele e bico) e sofriam algum tipo de estresse, como ausência de uma pessoa afetivamente próxima, latidos de cães constantes, gaiola pequena e falta de enriquecimento ambiental.

Das 27 (46,5%) amostra positivas para *Giardia* com aves não manifestavam sintomas de gastroenterite, 16 (59%) eram calopsitas, sete (26%) papagaios-verdadeiros e três (11%) periquitos-australianos, um (4%) agapornis.

Para melhor compreensão os resultados serão exibidos no quadro 3:

QUADRO 3 – Espécies com amostras fecais positivas: com sintomas gastrointestinais, assintomáticas e com sintoma de automutilação.

Espécie	Com sintomas gastrointestinais	Assintomáticas	Com sintomas de automutilação
Calopsita	14	16	-
Papagaio-verdadeiro	3	7	4
Papagaio-do-mangue	1	-	1
Agapornis	2	1	2
Ring-neck	1	-	-
Jandaia	1	-	-
Periquito-australiano	1	3	1
Total	23	27	8

Os animais positivos para *Giardia* eram provenientes das cidades de Santos (36), São Vicente (13), Praia Grande (08) e Cubatão (01). As duas amostras provenientes do município do Guarujá foram negativas para o parasito. O Quadro 4 demonstra esses números.

QUADRO 4 – Número total de amostras por cidade e amostras fecais positivas.

Cidades	Número total de amostras	Amostra positivas
Santos	78	36
São Vicente	30	13
Praia Grande	17	08
Cubatão	3	1
Guarujá	2	-

Das 72 (55,4%) aves negativas, 15 (20,8%), apresentavam sintomas de gastroenterite (diarreia, desidratação, apatia e emagrecimento). Dentre as espécies, oito (53,3%) eram calopsitas, (26,6%) quatro papagaios-verdadeiros, um (6,7%) agapornis, um (6,7%) ring-neck e um (6,7%) periquito-verde. Nas amostras negativas restantes (n=57), todas as aves eram assintomáticas, onde, 30 (52,7%) eram de calopsitas, 11 (19,2%) de papagaios-verdadeiros, oito (14%) de periquitos-australianos, quatro (7%) de arara-canindé, dois (3,5%) de periquito-verde, um (1,8%) de agapornis e um (1,8%) de ring-neck.

O sintoma de autotraumatismo não foi observado em aves negativas para o protozoário. Nenhuma outra espécie de parasita intestinal foi encontrada nas amostras de fezes analisadas. Os resultados são exibidos no quadro 5.

QUADRO 5 – Espécies com amostras fecais negativas: com sintomas gastrointestinais, assintomáticas e com sintoma de automutilação.

Espécie	Com sintomas gastrointestinais	Assintomáticas	Com sintomas de automutilação
Calopsita	08	30	-
Papagaio-verdadeiro	04	11	-
Arara-canindé	-	04	-
Agapornis	01	01	-
Ring-neck	01	01	-
Periquito-australiano	-	08	-
Periquito-verde	01	02	-
Total	15	57	-

As aves positivas para *Giardia* spp. foram tratadas com Benzoilmetronidazol 30mg/ml, via oral BID, por sete a 14 dias (dependendo do estado clínico) (CARPENTER, 2010). Além de receber o tratamento de suporte e alimentação forçada quando necessário.

Três calopsitas apresentaram sintomas gastrointestinais graves, como diarreia, anorexia, desidratação, emagrecimento severo, vômito e prostração e precisaram ser internadas para cuidados intensivos. Durante esse estudo, não houve óbito de nenhuma ave.

Em todos os atendimentos os proprietários receberam orientação sobre manejo nutricional, trocando a dieta de mistura de sementes por ração extrusada específica e de boa qualidade, além de itens naturais como frutas e legumes variados.

Em relação ao manejo ambiental, foi orientado o uso de gaiolas amplas e o enriquecimento do ambiente (brinquedos de madeira ou papelão próprios para aves), além de deixá-las soltas algumas horas por dia, em ambientes fechados e controlados.

Em todas as aves que passaram por consulta clínica foi administrado vitamina A injetável, com a dose de 33000 UI/kg (CARPENTER, 2010) por via intramuscular.

5 DISCUSSÃO

No presente estudo 130 amostras fecais de psitacídeos de companhia foram analisadas através de duas técnicas parasitológicas de fezes, Sheather Modificado e Ritchie Modificado. Em ambas as metodologias cistos de *Giardia* spp. foram encontrados em 58 amostras, demonstrando uma ocorrência de 44,6% nos animais avaliados.

Das 58 amostras de fezes positivas, 23 animais demonstravam sinais sugestivos de enfermidade gastrointestinal como diarreia, desidratação, anorexia e emagrecimento; 28 não demonstravam manifestações clínicas de gastroenterite; e 8 apresentaram autotraumatismo.

Andrade (2010) demonstrou ocorrência de *Giardia* em 57,7% (n=29) das amostras analisadas provenientes de 53 psitacídeos de companhia da região da Baixada Santista. Todos os animais avaliados apresentavam sintomas de gastroenterite. No presente trabalho a porcentagem de ocorrência em aves com sinais de gastroenterite foi de 39,6%.

Fernandes e colaboradores (2014) analisaram, microscopicamente, 117 amostras fecais de psitacídeos de estimação e três amostras de psitacídeos de vida livre. Dos 120 animais, 60 aves eram enfermas e 60 eram saudáveis. Os cistos de *Giardia* spp. foram encontrados em 27 das aves doentes e em 29 das aves saudáveis, perfazendo um total de 46,6% de ocorrência, ligeiramente maior do que a ocorrência encontrada no presente estudo.

Ainda na pesquisa de Fernandes e colaboradores (2014), cistos do parasito foram identificados em 29 aves que não apresentavam sintomatologia clínica de giardíase, o mesmo ocorreu no trabalho em questão, onde 27 dos animais identificados como positivos não apresentaram quaisquer sinais sugestivos de doença. Essa questão deve-se ao fato de que a variação das manifestações clínicas de uma doença depende de fatores como a virulência do parasito, a imunidade do hospedeiro e a suscetibilidade do indivíduo ao patógeno (GUIMARÃES et al., 1999).

No trabalho realizado por Prioste (2010), testes laboratoriais foram realizados em 87 ararajubas (*Garoba garouba*) pertencentes a seis parques zoológicos do estado de São Paulo (inclusive o Parque Zoobotânico Orquidário no município de Santos), três criadores conservacionistas e um criador comercial. Entre os exames, foi realizado o coproparasitológico através de técnicas de flutuação e de

sedimentação. O resultado para pesquisa de *Giardia* spp. foi negativo para todas as amostras analisadas. Segundo o autor, esse resultado pode ser explicado pelas medidas profiláticas intensas realizadas nesses locais estudados. Em contrapartida, Burbano e colaboradores (2003), realizaram exames parasitológicos de fezes em 88 psitacídeos de várias espécies, pertencentes à Fundação Zoológica de Cali (Valle del Cuca, na Colômbia) e, embora nenhuma amostra tenha sido positiva para *Giardia* spp., outros parasitos como *Capillaria* spp., *Ascaridia* spp. e *Isospora* spp. foram identificados.

Além de *Capillaria* spp. e *Ascaridia* spp., Santos e colaboradores (2015) também identificaram *Eimeria* spp. em fezes de psitacídeos cativos no Centro de Triagem de Animais Silvestres de Recife, Pernambuco, que foram resgatados do tráfico de animais. A detecção foi feita através de exames de microscopia direta, técnica de Sheater Modificado e sedimentação espontânea.

Segundo Godoy, 2006, parasitos intestinais como *Ascaridia* spp., *Capillaria* spp., *Isospora* spp., *Eimeria* spp., *Sarcocystis* spp., *Cryptosporidium* spp. e alguns cestódeos são comumente encontrados em psitacídeos de vida livre e dificilmente infectam os de companhia (GODOY, 2006). Os resultados do presente trabalho corroboram com a descrição de Godoy (2006), já que nenhum outro parasita intestinal foi identificado nas amostras fecais analisadas.

Apesar de Muller (2009) relatar que a mortalidade da giardiase em aves pode chegar a 50%, nenhum animal do estudo foi a óbito, embora três calopsitas tenham necessitado de internação durante o período do tratamento porque apresentavam sinais severos de gastroenterite.

Dos 72 psitacídeos com amostras negativas, 15 (20,8%) apresentaram algum sintoma de distúrbio gastrointestinal. De modo geral, infecções bacterianas (geralmente por bactérias Gram-negativas), fúngicas (principalmente por *Candida* spp.), virais, intoxicação por chumbo e zinco, hepatites e alimentação inadequada, também são causas comuns de gastroenterites em aves (RUPLEY, 2000). Ademais, a ausência de cistos de *Giardia* nas fezes desses animais não indica, necessariamente, que não há a infecção parasitária, apenas pode-se afirmar que não havia eliminação no momento da coleta, já que a eliminação ocorre de forma intermitente (TULLY et al.2010).

Ressaltam-se os resultados das amostras das oito aves que manifestavam autotraumatismo, onde em todas as fezes identificaram-se cistos de *Giardia* spp.

Entretanto, todos os oito psitacídeos analisados também apresentavam deficiência de vitamina A e/ou algum tipo de estresse, que também são causas de autotraumatismo (RUPLEY, 2000). Contudo, não se sabe se a automutilação estava ou não associada à doença parasitária.

Dentre as doenças nutricionais, a hipovitaminose A é a mais frequente em psitacídeos (CARCIOFI; OLIVEIRA 2006). Os sinais clínicos de fácil visualização são descamação de pele e bico e problema de empenamento (RUPLEY, 2000). A deficiência de vitamina A também leva à imunossupressão (CARCIOFI; OLIVEIRA, 2006).

Desnutrição, estresse, superlotação nos recintos, contato com aves de vida livre e ingestão de água contaminada aumentam o risco de transmissão da *Giardia* spp. (CACCIO et al. 2003, HUNTER; THOMPSON, 2005; GRACZYK et al., 2007, SMITH et al. 2007; PLUTZER & TOMOR, 2009). Sendo assim, em todos os atendimentos os proprietários receberam orientação sobre manejo nutricional, trocando a dieta de mistura de sementes por ração extrusada específica de boa qualidade, além de itens naturais como frutas e legumes variados. Foi orientado, também, o fornecimento água de boa procedência. Em relação ao manejo ambiental, recomendou-se a utilização de gaiolas amplas, o enriquecimento do local com brinquedos de madeira ou papelão próprios para ave e, ainda, deixá-las soltas para voarem algumas horas no dia em ambientes fechados e controlados. Ademais, foi orientado a evitar superpopulação nas gaiolas e impedir o contato com aves de vida livre.

A maioria dos animais avaliados no estudo era calopsita (52,3%). Esse dado é decorrente da preferência que os proprietários de animais silvestres têm, por essa espécie, como animal de estimação. Fator esse que se atribui ao temperamento dócil do animal, a interatividade com as pessoas e, ainda, ao baixo custo na sua criação, como relatado por Grespan (2009).

A maior parte das aves foi atendida na cidade de Santos (n=78), seguida da cidade de São Vicente (n=30). Embora a maioria dos pacientes eram provenientes de Santos, a disparidade no número de amostras em relação às outras cidades ocorreu devido a indisponibilidade de alguns proprietários se deslocarem para a entrega do material em outro município.

Não foi possível identificar as espécies de *Giardia* presentes nas fezes dos psitacídeos analisados, visto que a caracterização só ocorre através de exames de

biologia molecular (ADAM, 2001). Em alguns trabalhos fica evidente que *Giardia duodenalis* acomete aves. A identificação desse parasito ocorreu em vários países e em diferentes espécies de aves com hábitos distintos, entre elas psitacídeos, ranfastídeos, rapinantes, anseriformes, piciformes, columbiformes e anatídeos (PLUTZER; TOMOR, 2009; MAJEWASKA et al. 2009; PANINI et al. 2012; FERNANDEZ et al. 2015; CUNHA et al. 2017).

Como existe o risco de transmissão zoonótica entre o grupo *Giardia duodenalis*, estudos de caracterização gênica se tornam extremamente importantes para a identificação da espécie do protozoário (PLUTZER et al. 2010).

Poucos estudos de ocorrência de parasitos gastrointestinais em psitacídeos são realizados no Brasil, assim, há necessidade de mais pesquisas desta natureza, nos diversos grupos de aves, para o conhecimento clínico e epidemiológico das doenças parasitárias em diferentes regiões geográficas.

6 CONCLUSÃO

Cistos de *Giardia* spp. foram detectados em diferentes espécies de psitacídeos. A identificação do parasito em animais clinicamente saudáveis sugere a condição de portadores assintomáticos. Através da pesquisa conclui-se que é elevada a ocorrência do de *Giardia* spp em fezes de psitacídeos da região estudada.

Os resultados obtidos nesse estudo ressaltam a importância do médico veterinário de animais silvestre solicitar exames coproparasitológicos nas consultas de rotina de psitacídeos, mesmo nas aves que não apresentam sintomas de gastroenterite.

REFERÊNCIAS

- ABE, N.; MAKINO, I.; KOJIMA, A. Molecular characterization of *Giardia psittaci* by multilocus sequence analysis. *Infection, Genetics and Evolution*, p. 1710–1716. 2012.
- ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonoses and Communicable Diseases common to Man and Animals**. 3.ed., v.3, p. 52-58. 2003.
- ADAM, R.D. Biology of *Giardia lamblia*. **ClinMicrobiol Rev**. 14: 447-475, 2001.
- ANDRADE, A. L. Giardíase em psitaciformes de cativeiro. **RevAnclivepa**. 70: 26-29. 2010.
- APPELBEE, A.J.; THOMPSON, R.C.; OLSON, M.E. *Giardia* and *Cryptosporidium* in mammalian wild life current status and future needs. **Trends in Parasitology** 21: p. 370-376. 2005.
- BURBANO, P.S.; ACOSTA, D.O.; MONTAÑO, J.B.; MARTINES, K. Parásitos gastrointestinales en las aves de la familia Psittacidae en la Fundación Zoológica de Cali (Cali, Valle del Cauca, Colombia). **Medicina Veterinária**; v. 20 (6), p. 67-72, 2003.
- CACCIO, S. M.; DE GIACOMO, M.; AULICINO, F.A.; POZIO, E. *Giardia* cysts in Wastewater treatment plants in Italy. **Appl Environ Microbiol**. 69 (6): 3393-3398. 2003.
- CACCIO, S. M.; BECK, M.; LALLE, A.; MARINCULIC, E. POZIO. Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* reveals striking differences between assemblages A and B. *Int. J. Parasitol*. 38.p.1523–1531. 2008.
- CACCIO, S. M.; RYAN, U. Molecular epidemiology of giardiasis. *Mol. Biochem. Parasitol*. 160. p.75–80. 2008.
- CANO, L.; LOURDES, CANOA, A.L.; BEGONA, B.; GUILLERMO, A.; CARDONA, B.; ALY, S. O. M.; LOBOC, L.; CARMENA, D. Identification and genotyping of *Giardia spp.* and *Cryptosporidium spp.* isolates in aquatic birds in the Salburua wetlands, Álava, Northern Spain. **Veterinary Parasitology** 22, P 144–148. 2016.
- CARCIOFI, A. C.; OLIVEIRA, L. D. Doenças Nutricionais. In: **CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Roca. p.838-864. 2006.
- CARPENTER, J. W., MASHIMA, T. Y.; RUPIPER, D. J. **Exotic Animal Formulary**, 2. ed. Philadelphia: Saunders, 2001
- CUNHA, M. J. R.; CURY, M. C.; SANTÍN, M. Molecular identification of *Enterocytozoon bieneusi*, *Cryptosporidium*, and *Giardia* in Brazilian captive birds. **Parasitology Research**. 2016.

- FENG, Y.; XIAO, L. Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. **Clinical Microbiology Reviews** 24. P. 110-140. 2011.
- FERNANDES, C. A.; GRESPAN, A.; KNOLB, T. Pesquisa de cistos de *Giardia spp.* em fezes de psitacídeos cativos. **Atas de Saúde Ambiental**. V. 2. n. 3. 2014.
- FERNANDEZ, A. R.; ARES-MAZÁS, E.; CACCIO, S. M.; GÓMEZ-COUSO, H. **Occurrence of *Giardia* and *Cryptosporidium* in wild birds in Galicia (Northwest Spain)**, 2015
- FOTIN, C. M.; MATUSHIMA, E. R. **Levantamento prospectivo dos animais silvestres, exóticos e domésticos não convencionais, em cativeiro domiciliar, atendidos em clínicas particulares no município de São Paulo: aspectos do manejo e principais afecções**. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.
- GODOY, S. N. Psittaciformes (Arara, Papagaio, Periquito). In: **CUBAS, Z. S.; SILVA, J. C. R.; CATÃO-DIAS, J. L. Tratado de animais selvagens**. São Paulo: Roca, p.222-250. 2006.
- GRACZYK, T.K.; MAJEWSKA, A.C.; SCHWAB, K.J.; The role of birds in dissemination of human waterborne enteropathogens. **Trends in Parasitol.** 30. P. 1-5. 2007.
- GRESPAN, A; RASO, T. **Clamidiose em calopsitas (*Nymphicus hollandicus*): perfil do proprietário e ensaio terapêutico**. Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Experimental e Aplicada às Zoonoses) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- 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. p 45- 58. 1999.
- IVANOV, A. I. *Giardia* and Giardiasis. **Bulg J Vet Med.** 13.p. 65-80. 2010.
- MAJEWSKA, A.C.; GRACZYK, T.K.; STODKOICZ-KOWALSKA; A.; TAMANG, L.; ZDUNIAK, P.; SOLARCZYK, P. The role of free-ranging, captive, and domestic birds of Wester Poland in environmental contamination with *Cryptosporidium parvum* and *Giardia lamblia* cysts. **Parasitol Res.** 104. p 1093-1099. 2009.
- McDONNELL, P.A.; SCOTT, K.G.; TEOH, D.A.; OLSON, M.E.; UPCROFT, J.A.; UPCROFT, P.; BURET, A.G. *Giardia duodenalis* trophozoites isolated from a parrot (*Cacatua galerita*) colonize the small intestinal tracts of domestic kittens and lambs. **Veterinary Parasitology**, v. 111, n. 1, p. 31-46, 2003.
- MONIS, P. T.; CACCIO, S. M.; THOMPSON, R. C. Variation in *Giardia*: towards a taxonomic revision of the genus. **Trends Parasitol.** 25. p .93–100. 2009
- MÜLLER, G.C.K.; GREINERT, J.A.; SILVA FILHO, H.H. Frequência de parasitas intestinais em felinos mantidos em zoológicos. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia** 57. p. 559-561. 2005

PAPINI R, GIRIVETTO M, MARANGI M, MANCIANTI F, GIANGASPERO A. Endoparasite infection in pet and zoo Birds in Italy. **Sci World**.p. 1-9. 2012.

PLUTZER, J.; TOMOR, B. The role of aquatic birds in the environmental dissemination of human pathogenic *Giardia duodenalis* cystis and Cryptosporidium oocysts in Hungary. *Parasitol Intern*. 58.p. 227-231. 2009.

PRIOSTE, Fabiola Eloisa Setim. **Avaliação do estado sanitário de Ararajubas (Guaruba guarouba) mantidas em cativeiro no Estado de São Paulo - Brasil**. 2010. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental e Comparada) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010.

RITCHIE, L. S. An ether sedimentation technique for routine stool examinations. **The Bulletin of the U.S. Army Medical Department**. 1948.

RYAN, U; CACCIO S. M. Zoonotic potential of *Giardia*. **Int J Parasitol** 43:943–956, 2013

RUPLEY, A.E. **Manual de Clínica Aviária**. São Paulo: Editora Roca, 2000, p. 310-311.

SANTOS, P. M. S; SILVA, S. G. N; FONSCECA, C. F.; OLIVEIRA, J. B.; Parasitos de aves e mamíferos silvestres em cativeiro no estado de Pernambuco. **Pesq. Vet. Bras**. 35. p. 788-794. 2015.

SCOTT, K. G.E.; MEDDINGS, J. B.; KIRK, D. R.; LEES-MILLER, S. P.; BURET A. G. Intestinal infection with *Giardia spp*. Reduces epithelial barrier function in a myosin light chain kinase-dependent fashion. **Gastroenterology**, 123.p. 1179–1190 2002.

SHEATHER, A.L. The detection of intestinal protozoa and mange parasites by a flotation technique. **J. Comp. Ther.**, v.36, p.266-275, 1923.

SMITH, H. V., S. M. CACCIO, A. TAIT, J. MCLAUCHLIN, AND R. C. THOMPSON.2006. Tools for investigating the environmental transmission of *Cryptosporidium* and *Giardia* infections in humans. **Trends Parasitol**. 22:160–167. 2006.

SAVIOLI, L.; SMITH, H. & THOMPSON, A. — *Giardia* and *Cryptosporidium* join the Neglected Diseases Initiative'. **Trends Parasitol.**, 22: 203-8, 2006

SICK, H. Ordem Psittaciformes. In: **Ornitologia Brasileira**. 4º impressão. Rio de Janeiro- RJ: Editora Nova Fronteira, cap.10, p.351-382, 2001.

THOMPSON, R. C. A., REYNOLDSON, J. A.; MENDIS, A. H. W. *Giardia* and giardiasis. **Advances in Parasitology**, 32. p. 71–160. 1993.

THOMPSON, R.C. Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. **International Journal of Parasitology**, v. 30, p. 1259-1267, 2000.

THOMPSON, R. C. A. Towards a better understanding of host specificity and the transmission of *Giardia*: The impact of molecular epidemiology. In: *Giardia: The Cosmopolitan Parasite*. eds Olson, B. E., M. E. Olson & P. M. Wallis, CAB International, Wallingford, UK, pp. 55–69. 2002

THOMPSON, R.C.; MONIS, P. T. Variation in *Giardia*: implication for taxonomy and epidemiology. **Adv Parasitol**. 2004; 58: 69-137.

THOMPSON, R. C.; SMITH, A.; LYMBERY, A. J.; AVERIS, S.; MORRIS, K. D.; WAYNE A. F. *Giardia* in Western Australian wildlife. **Vet. Parasitol**. 170. p. 207–211. 2010.

THOMPSON, R.C.; SMITH, A. Zoonotic enteric protozoa. **Veterinary Parasitology** 182. p 70-78. 2011.

TULLYJR, T. M.; DORRESTEIN, G. M.; JONES, A. K. **Handbook of avian medicine. Cornwall**; MPG Books, 2000.

WOLFE, M. S. Giardiasis. **Clin Microbiol Ver**. 5. p. 93-100. 1992

ZAJAC, A. M.; CONBOY, G. A. **Veterinary clinical parasitology. A John Wiley & Sons, Inc.**, Publication (8th ed.). Wiley-Blackwell. 2012.

ZUCCA, P.; DELOGU, M. Protozoos. In: **Samour J. Medicina aviária**. 2 ed. Espanha: Elsevier; 2010. p.318-321.