

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

INFECÇÃO POR *Giardia lamblia* (Kunstler, 1882) EM CÃES (*Canis familiaris*)
DETERMINADA ATRAVÉS DO MÉTODO DE FAUST E COLS. (1939) E DA
TÉCNICA DE COLORAÇÃO DA AURAMINA, NO MUNICÍPIO DE CANOAS, RS,
BRASIL.

CRISTIANE BECK

Porto Alegre

2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

INFECÇÃO POR *Giardia lamblia* (Kunstler, 1882) EM CÃES (*Canis familiaris*)
DETERMINADA ATRAVÉS DO MÉTODO DE FAUST E COLS. (1939) E DA
TÉCNICA DE COLORAÇÃO DA AURAMINA, NO MUNICÍPIO DE CANOAS, RS,
BRASIL.

CRISTIANE BECK

Dissertação apresentada como um dos
requisitos para a obtenção do grau de Mestre,
em Ciências Veterinárias na Área de
Doenças Parasitárias.

Orientador:

Prof. Dr. Flávio Antônio Pacheco de Araújo.

Porto Alegre

2003

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar eu agradeço a Deus, pela vida e proteção.

Aos meus pais e irmão, pelo amor e a confiança que depositaram em mim. Pela força a qualquer hora, pela paciência nos momentos estressantes, e por compreenderem minha ausência por muitos dias. Muito obrigada, eu amo vocês.

A toda minha família, pelo incentivo e carinho que transmitiram, mesmo distantes. Ao Marco, que me acompanhou neste trabalho, por ter agüentado meus momentos de estresse.

Ao professor Dr. Flávio, meu orientador que me apoiou cada dia, agüentou alguns momentos de desespero, e que acreditou em mim. Obrigada por todo conhecimento transmitido.

Ao amigo Reginaldo, que sempre esteve pronto para ajudar, ensinar onde estava cada lâmina no laboratório, teve paciência para ensinar cada técnica, cada detalhe.

As colegas de mestrado Karen, Ana e Karla, obrigada pela amizade e companheirismo. Em especial a amiga Adriana Olicheski, pelo companheirismo e por transmitir seus conhecimentos, enfim, pela sua grande amizade.

A professora e amiga Cristina pela dedicação e por sua amizade.

A Ms. Médica Veterinária Rosiléia, pelo auxílio prestado no trabalho e pelo conhecimento transmitido.

As estagiárias Adri, Rochana, Amanda, Nina, pelo auxílio nas coletas e processamento das amostras, também pela amizade de vocês.

Aos amigos que de alguma forma me ajudaram, dando força e apoio em qualquer momento.

Aos colegas e funcionários da prefeitura de Canoas, Médica Veterinária Elisângela, e ao Médico Veterinário Roger, que me auxiliaram nas coletas das amostras.

Aos colegas do Hospital Veterinário da ULBRA, que também prestaram seu apoio nas coletas de material.

Aos animais um agradecimento especial, por nos acompanharem nessa jornada, por compreenderem as nossas atitudes, enfim, por serem eles. A vocês o meu Muito Obrigado.

“É difícil dizer o que é impossível, pois os sonhos de ontem são as oportunidades de hoje e a realidade de amanhã”.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	06
LISTA DE TABELAS.....	07
LISTA DE FIGURAS.....	08
RESUMO.....	09
<i>ABSTRACT</i>	10
1 INTRODUÇÃO	11
1.1 Objetivos	13
1.1.1 Gerais	13
1.1.2 Específicos	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 Taxonomia	14
2.2 Trofozoíto	15
2.3 Cisto	16
2.4 Ciclo Evolutivo	16
2.5 Sinais Clínicos	17
2.6 Patogenia	18
2.7 Epidemiologia	20
2.8 Diagnóstico	21
2.8.1 Diagnóstico Parasitológico.....	21
2.8.2 Diagnóstico Imunológico.....	24
2.9 Tratamento	25
2.10 Imunidade e profilaxia	27
2.11 Controle	29
2.12 Giardiase como zoonose	30
3 MATERIAIS E MÉTODOS	32
3.1 Amostragem	32
3.2 Métodos	33
3.2.1 Método de Faust e colaboradores (1939).....	33
3.2.1.1 Material.....	33
3.2.1.2 Procedimento.....	33
3.2.2 Técnica de Coloração da Auramina.....	34

3.2.2.1 Coloração do material.....	34
3.3 Análise Estatística.....	34
4 RESULTADOS.....	36
4.1 Método de Faust e cols.....	36
4.2 Técnica de Coloração da Auramina.....	38
4.3 Comparação entre o Método de Faust e cols. a Técnica de Coloração da Auramina.....	40
5 DISCUSSÃO.....	43
6 CONCLUSÕES.....	46
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	47
ANEXO 1.....	53
ANEXO 2.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS

°C – graus centígrados
Cols. – colaboradores
DNA – ácido desoxirribonucleico
ELISA – técnica imunoenzimática
EUA – Estados Unidos da América
IgA – imunoglobulina A
IgG – imunoglobulina G
IgM – imunoglobulina M
kg – quilograma
mg – miligrama
MG – Minas Gerais
MIF – *merthiolate-iodine-formaldehyde*
ml – mililitro
OMS – Organização Mundial da Saúde
PVA – álcool polivinílico
PCR – reação de polimerase em cadeia
PR – Paraná
RJ – Rio de Janeiro
RNA – ácido ribonucleico
rpm – rotações por minuto
RS – Rio Grande do Sul
SAF – *sodium acetate – acetic acid-formalin*
SC – Santa Catarina
USP – Universidade de São Paulo
µg – micrograma

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - Ocorrência de <i>Giardia</i> spp em cães no mundo.....	21
TABELA 2 - Ocorrência de <i>Giardia</i> spp em cães no Brasil.....	21
TABELA 3 - Resultados absolutos e relativos dos exames coprológicos para diagnóstico de <i>Giardia lamblia</i> através do Método de Faust e cols., em caninos da cidade de Canoas, RS, Brasil, de acordo com a procedência, no ano de 2002	36
TABELA 4 - Frequências absolutas e relativas em exames coprológicos para pesquisa de cistos de <i>Giardia lamblia</i> , através do Método de Faust e cols. em caninos da cidade de Canoas, RS, Brasil, de acordo com o sexo dos animais, no ano de 2002.....	37
TABELA 5 - Frequências absolutas e relativas da pesquisa de cistos de <i>Giardia lamblia</i> , em fezes de cães do município de Canoas, RS, Brasil, através da Técnica de Coloração da Auramina, de acordo com a procedência dos animais, no ano de 2002.....	38
TABELA 6 - Frequências absolutas e relativas de <i>Giardia lamblia</i> em exames coprológicos em caninos do município de Canoas, RS, Brasil, realizados através da Técnica de Coloração da Auramina, de acordo com o sexo dos animais, no ano de 2002.....	39
TABELA 7 - Frequência absoluta dos exames coprológicos para diagnóstico de <i>Giardia lamblia</i> realizados através do Método de Faust e cols. e da Técnica de Coloração da Auramina, em cães do município de Canoas, RS, Brasil, no ano de 2002.....	40

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 - Resultados de análises laboratoriais, para o diagnóstico de *Giardia lamblia* em fezes caninas realizadas através do Método de Faust e cols. de acordo com a procedência (canil e rua), no município de Canoas, RS, Brasil, no ano de 2002..... **37**
- FIGURA 2 - Resultados dos exames coprológicos em fezes caninas para *Giardia lamblia*, no município de Canoas, RS, Brasil, no ano de 2002, de acordo com o sexo..... **38**
- FIGURA 3 - Resultados dos exames coprológicos para pesquisa de *Giardia lamblia* através da Técnica de Coloração da Auramina, em cães do município de Canoas, RS, Brasil, no ano de 2002, de acordo com a procedência..... **39**
- FIGURA 4 - Resultados dos exames coprológicos de caninos do município de Canoas, RS, Brasil, para o diagnóstico de *Giardia lamblia*, de acordo com o sexo, através da Técnica de Coloração da Auramina, no ano de 2002..... **40**
- FIGURA 5 - Comparação entre o Método de Faust e cols e a Técnica de Coloração da Auramina, para o diagnóstico de *Giardia lamblia* em exames coprológicos..... **41**
- FIGURA 6 - Cisto de *Giardia lamblia*, detectado pelo Método de Faust e cols.(200 vezes)..... **42**

RESUMO

Giardia lamblia é um protozoário que acomete mais comumente animais jovens e que convivem em grupos. Apesar da alta prevalência, nem todos animais apresentam a doença clínica. Mesmo assim, a giardíase tem importância epidemiológica por possuir um elevado potencial zoonótico. O presente estudo teve como objetivo determinar a frequência de *Giardia lamblia* em cães no município de Canoas, RS, Brasil, através do Método de Faust e cols. (1939) e da Técnica de Coloração da Auramina. Os grupos experimentais foram divididos de acordo com a procedência e o sexo. Das 332 amostras analisadas com o Método de Faust e cols, a estimativa em ponto da frequência obtida foi de 34,04%, podendo variar de 28,95 a 39,13%, dentro de um intervalo de confiança de 95%. Destas amostras, 40,96% foram positivas em animais de canil e 27,11% de rua. O Teste Exato de Fisher aplicado a esses dados revelou existir uma diferença significativa ($p = 0,0107$) entre as variáveis resultado e procedência. A variável sexo, neste método não apresentou diferença significativa em relação ao resultado ($p = 0,8162$) totalizando 33,11% de machos positivos e 34,08% de fêmeas infectadas com o parasita. Das 147 amostras realizadas com a Técnica de Coloração da Auramina, 23 foram positivas, totalizando 15,65%. A análise estatística através do Teste McNemar revelou existir diferença significativa entre as duas técnicas ($p = 0,0004$). O valor Kappa foi igual a 0,07, considerado como um grau de concordância fraco. Os resultados encontrados neste estudo nos permitem afirmar que o Método de Faust e cols. foi o mais adequado para o diagnóstico na infecção por *Giardia lamblia*, entre os métodos analisados.

ABSTRACT

Giardia lamblia is a protozoa that infects commonly young animals and that live in groups. Despite its high prevalence most animals don't exhibit clinical signs. All the same giardiasis is epidemiologically important due to its zoonotic potential. This study's objective was to determine the frequency of *Giardia lamblia* in the canine population in Canoas, RS, Brazil, applying the Faust and Collaborators Method (1939) and the Auramine Staining Technique. The dogs were classified according to origin and gender. Feces samples of 332 dogs were analyzed by the Faust and Collaborators Method the frequency of estimation obtained was 34,04%, possibly varying between a security range of 95%, that is from 28,95% to 39,13%. For kennel bred animals 40,96% of the samples were positive and for street animals 27,11%. Applying Fisher's Exact Test to these figures there was a significant difference ($p = 0,0107$) when comparing the origin of the animals and the results obtained, but when comparing gender there wasn't a significant difference ($p = 0,8162$), the last having totaled 33,11% of positive males and 34,08% positive females. When submitted to the Auramine Staining (147), 15,67% (23) of the samples resulted positive. The statistical analysis using the McNemar Test exposed a significant difference between both techniques ($p = 0,0004$). The Kappa value of 0,07 obtained was considered of low rate. The results allow one to affirm that the Faust and Collaborators Method was the most suitable diagnosis test for *Giardia lamblia* infection in view of the other method.

1 INTRODUÇÃO

Giardia lamblia (também conhecida como *Giardia duodenalis* ou *Giardia intestinalis*) é um protozoário flagelado binucleado, com motilidade ativa e com multiplicação no intestino, além de um cisto resistente, o qual está presente no meio ambiente (OLSON, 2000). De acordo com Díaz *et al.* (1996), o ciclo de vida consiste em dois estágios: trofozoítos e cistos viáveis, os quais contaminam alimentos e água. Pertencente a ordem Diplomonadida pode ser responsável por um quadro de enterite, geralmente benigno.

A primeira descrição do trofozoíto tem sido atribuída a Anton van Leeuwenhoek (1681), que percebeu “animalúnculos móveis” em suas próprias fezes. Vilem Lambl (1859) reescreveu o parasita e as formas de trofozoíto e cisto, porém as primeiras evidências da sua patogenicidade foram sugeridas por Fantham & Porter (1916) ao correlacionarem o parasita com os sintomas e as fezes diarréicas de soldados que retornavam da guerra (SOGAYAR, 2001). O gênero foi criado por Kunstler (1882) ao observar um flagelado presente no intestino de girinos de anfíbios anuros (GARCIA & BRUCKNER, 1993; SOGAYAR & GUIMARÃES, 2000).

Considerar o hospedeiro de origem não constitui um critério válido para a denominação das espécies, uma vez que, embora espécies de *Giardia* habitem o trato intestinal de todas as classes de vertebrados, a *Giardia lamblia* é a única espécie identificada encontrada em humanos e na maioria dos mamíferos (SOGAYAR & GUIMARÃES, 2000).

As maiores prevalências são encontradas nos animais jovens, principalmente até um ano de idade, encontrando-se de 26 a 50% de animais parasitados, e em cães, o parasita pode ser encontrado em até 100% dos cães. Por outro lado, em gatos a prevalência é menor, variando de 1,4 a 11% (ROSEZ *et al.*, 2002).

O estado imune do hospedeiro parece ter influência na suscetibilidade deste à infecção e na severidade dos sinais clínicos (OLSON *et al.*, 2000).

Apesar da alta prevalência, nem todos os animais apresentam a doença clínica. Mesmo assim, *Giardia lamblia* tem importância epidemiológica por causar uma doença séria quando presente, além de possuir um elevado potencial zoonótico (ROSEZ *et al.*, 2002).

O presente trabalho foi realizado no município de Canoas, RS, Brasil, visando a determinação da frequência da infecção por *Giardia lamblia* nos cães do município, assim como comparar a sensibilidade do Método de Faust e cols. com a Técnica de Coloração da Auramina para seu diagnóstico. A cidade possui uma área total de 131 km² e uma população de 306.093 habitantes (IBGE, 2003). Estima-se que a população de cães e gatos da cidade de Canoas seja de 2,3 animais por habitante (HALLA, 2002)¹.

¹ HALLA, Roger, 2002. Comunicação Pessoal.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Gerais:

- ⇒ contribuir para o estudo da giardíase canina no município de Canoas, RS, Brasil;
- ⇒ contribuir para adequação do melhor método diagnóstico para giardíase em cães.

1.1.2 Específicos:

- ⇒ determinar a frequência de *Giardia lamblia* em cães do município de Canoas, RS, Brasil;
- ⇒ quantificar a influência das variáveis procedência e gênero, na prevalência de giardíase em cães do município de Canoas, RS, Brasil;
- ⇒ comparar estatisticamente o Método de Faust e cols e a Técnica de Coloração da Auramina para o diagnóstico de cistos de *Giardia lamblia* em fezes de cães.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Giardia lamblia é um protozoário entérico que afeta humanos, animais domésticos e silvestres. É um dos parasitas mais comuns de cães domésticos, gatos e do gado leiteiro e um patógeno frequentemente encontrado na água. Giardíase é considerada uma infecção reemergente pois está associada com surtos de diarreia em crianças de creches (THOMPSON *et al.*, 2000).

Para os autores, cerca de 200 milhões de pessoas na África, Ásia e América Latina têm giardíase sintomática e 500.000 novos casos ocorrem anualmente. A água é um importante veículo de transmissão da giardíase e atualmente representa a principal preocupação em saúde pública na utilização da mesma no desenvolvimento nacional.

2.1 Taxonomia

Na primeira metade do século, a taxonomia das espécies do gênero *Giardia* era confusa. Numerosas espécies de duvidosa validade têm sido descritas, principalmente baseadas nas diferenças morfológicas. Em 1951, um estudo foi publicado por Filice sugerindo que somente três distintas espécies morfológicas deveriam ser reconhecidas: *G. duodenalis* foi proposto como a forma que ocorresse na maioria dos mamíferos, incluindo humanos, seus animais de companhia e animais de rebanho, *G. agilis* em anfíbios e *G. muris* em roedores. Além dessas, duas distintas espécies têm sido reconhecidas recentemente em pássaros: *G. psittaci* e *G. ardeae*. Apesar dessas espécies terem sido aceitas pela maioria dos pesquisadores, o uso de diferentes nomes de espécies para *Giardia* afetando humanos persiste, particularmente o nome *G. lamblia* (THOMPSON *et al.*, 2000). García *et al.* (2002) complementam que ainda não se estabeleceu claramente se são espécies diferentes ou se são cepas polimórficas de uma mesma espécie.

Levine *et al.* (1980) classificam este protozoário da seguinte forma:

Reino: Protista

Sub-Reino: Protozoa

Filo: Sarcomastigophora, Honigberg & Balamuth, 1963;

Sub-Filo: Mastigophora, Diesing, 1866;

Classe: Zoomastigophorasida, Kalkins, 1909;

Ordem: Diplomonadorida, Wenyon, 1926 *emend* Brugerolle, 1975;

Sub-Ordem: Diplomonadina, Wenyon, 1926 *emend* Brugerolle, 1975;

Gênero: *Giardia* (Kunstler)

Espécie: *Giardia lamblia* (Kunstler, 1882)

2.2 Trofozoíto

A forma trofozoítica tem simetria bilateral e contorno piriforme medindo de 10 a 20 μm de comprimento por 5 a 15 μm de largura. O corpo mostra um achatamento dorsoventral. Na superfície ventral há uma área ovóide que constitui um disco adesivo ou disco suctorial, que ocupa dois terços desta face (LEVINE, 1985; REY, 1991). Este disco adesivo é a organela de ataque, que se adere no epitélio intestinal do hospedeiro, entre as microvilosidades das células epiteliais (KREIER, 1978). Esta adesão se dá por meio da combinação de forças mecânicas e hidrodinâmicas. A face dorsal é lisa e convexa, enquanto a face ventral é côncava (SOGAYAR & GUIMARÃES, 2000).

Abaixo do disco, ainda na parte ventral, é observada a presença de uma ou duas formações paralelas, em forma de vírgula, conhecidas como corpos medianos (LEVINE, 1985; SOGAYAR & GUIMARÃES, 2000). Estes corpos medianos, segundo Rey (1991), correspondem ao aparelho de Golgi.

No interior do citoplasma, as estruturas são quase sempre duplas e simétricas, e compreendem um par de núcleos e dois feixes de fibras longitudinais que são os axonemas (REY, 1991). Também observam-se a presença de retículo endoplasmático, ribossomas, aparelho de Golgi e grânulos de glicogênio. Abaixo da membrana citoplasmática do trofozoíto existem numerosos vacúolos, acreditando-se que estes tenham um papel na pinocitose de partículas alimentares (SOGAYAR & GUIMARÃES, 2000). A pinocitose ocorre na superfície dorsal e na área central do disco adesivo, complementa Kreier (1978), seqüestrando nutrientes dos espaços entre as vilosidades e o lúmen do intestino. Seu desenvolvimento é favorecido em pH compreendido entre 6,38 e 7,02 (REY, 1991).

O trofozoíto possui ainda quatro pares de flagelos que se originam de blefaroplastos ou corpos basais situados nos pólos anteriores dos dois núcleos (SOGAYAR & GUIMARÃES, 2000). A atividade dos flagelos permite um deslocamento rápido e irregular, como se fossem sacudidas. Porém os protozoários aderem em grande número à superfície da mucosa, devido ao disco suctorial, chegando a formar um revestimento extenso a tal ponto que, segundo alguns autores, seria capaz de interferir na absorção de gorduras e vitaminas lipossolúveis, especialmente a vitamina A (REY, 1991).

Segundo Barr & Bowman (1994), os núcleos, os axonemas e os corpos medianos formam, respectivamente os olhos, nariz e boca do trofozoíto.

Os trofozoítos vivem no duodeno e primeiras porções do jejuno, também encontrados nos condutos biliares e na vesícula biliar (BROWN, 1977; REY, 1991).

2.3 Cisto

Segundo Garcia & Bruckner (1993), o cisto mede de 11 a 14 μm de comprimento e 7 a 10 μm de largura. Para Sogayar & Guimarães (2000), o cisto é oval ou elipsóide, e quando corado pode mostrar uma delicada membrana destacada do citoplasma. No seu interior encontram-se dois ou quatro núcleos, um número variável de fibrilas (axonemas de flagelos) e os corpos escuros com forma de meia lua, situados no pólo oposto aos núcleos. As estruturas em forma de meia lua e escuras, observadas em microscopia óptica e confundidas com o corpo mediano, provavelmente são primórdios do disco suctorial.

A forma cística pode sobreviver por vários meses no ambiente úmido e frio, no entanto, é sensível em condições de baixa umidade e temperaturas elevadas (BARR & BOWMAN, 1994; GENNARI & SOUZA, 2002).

2.4 Ciclo Evolutivo

O ciclo de vida de *Giardia lamblia* é direto, não ocorrendo estágios intracelulares no epitélio do trato digestivo ou em outros tecidos do hospedeiro (GENNARI & SOUZA, 2002).

Os cistos podem ser ingeridos através da água e de alimentos contaminados, mas a transmissão direta também é possível, especialmente em áreas em que os animais se encontram aglomerados como em cães e gatos (LEIB & ZAJAC, 1999).

Embora tenha sido demonstrado experimentalmente que infecções em animais se iniciem com trofozoítos, não há evidências de que este seja um importante modo de transmissão para o homem. Após a ingestão do cisto, o desencistamento é iniciado no meio ácido do estômago e completado no duodeno e jejuno, onde ocorre a colonização do intestino delgado pelos trofozoítos. Este se reproduz por divisão binária longitudinal. Após a divisão nuclear e duplicação das organelas ocorre a plasmotomia, resultando assim dois trofozoítos. O ciclo se completa pelo encistamento do parasita e sua eliminação para o meio exterior (SOGAYAR & GUIMARÃES, 2000).

A distribuição de *Giardia lamblia* no trato intestinal aparentemente varia de acordo com o hospedeiro e a dieta. Em cães, o organismo tem sido isolado do duodeno ao íleo; o duodeno e jejuno são evidentemente um ótimo habitat para o organismo. Trofozoítos são encontrados através do trato intestinal em gatos de forma semelhante (BARR & BOWMAN, 1994). Os mesmos autores acrescentam que uma dieta com altos níveis de carboidratos e de proteínas pode favorecer o habitat de *Giardia lamblia* no intestino delgado.

O período de pré-patência do parasita varia entre uma a duas semanas. Os protozoários são encontrados em toda a extensão do trato intestinal de pequenos animais, mas os trofozoítos são encontrados principalmente no jejuno (GIARDIA, 2002).

Nas amostras de fezes diarréicas, devido ao rápido fluxo intestinal, é comum a presença de trofozoítos, mas estes raramente sobrevivem às condições ambientais. Os cistos são eliminados nas fezes uma a duas semanas após a infecção e podem permanecer infectantes por aproximadamente 2 meses sob condições apropriadas de temperatura e umidade (GENNARI & SOUZA, 2002).

2.5 Sinais Clínicos

A infecção por *Giardia lamblia* pode causar doença clínica moderada a severa, ou permanecer assintomática (OLSON, 2000). A influência de fatores como cepa do parasita, duração da infecção, dieta ou imunidade pode ser importante para explicar a diversidade de sintomas associada à infecção (GIARDIA, 2002). Sogayar & Guimarães (2000) acrescentam que o número de cistos ingeridos e o pH do suco gástrico também

influenciam nos sinais clínicos. Em alguns casos há evidências marcantes de que uma determinada cepa de *Giardia lamblia* pode apresentar maior potencial para causar a doença.

Quando ocorre a doença clínica, o principal sintoma observado é a diarreia, que pode ser aguda, autolimitante ou crônica (BARR & BOWMAN, 1994; NELSON & COUTO, 2001; ROSEZ *et al.*, 2002). Este principal sintoma pode iniciar uma semana após a infecção, porém os cistos só aparecerão nas fezes dias ou até semanas mais tarde (GEORGI & GEORGI, 1991). Ocasionalmente vômitos podem ocorrer (MURRAY *et al.*, 2000).

A severidade da giardíase é potencializada por infecções virais, bacterianas ou helmínticas intercorrentes (BARR, 1998; SHERDING & JOHNSON, 1998).

Melena não é comum nos casos de giardíase (TABOADA & MERCHANT, 1997). Murray *et al.* (2000) acrescentam que pus também não é comum nas amostras de fezes, constituindo um dado compatível com ausência de destruição tecidual.

De acordo com estes pesquisadores as principais complicações de giardíase crônica estão associadas à má absorção de gordura e nutrientes como vitaminas lipossolúveis (A, D, E, K), vitamina B₁₂, ferro, xilose e lactose.

A sintomatologia clínica manifesta-se principalmente em pessoas que apresentam hipogamaglobulinemia, mas pode afetar seres humanos e animais sem sinais de deficiência imunológica, pois as imunoglobulinas do tipo A (IgA) e linfócitos T estão envolvidos no desenvolvimento da imunidade contra o parasita. A imunidade entretanto pode não ser suficiente para eliminar infecções existentes ou conferir proteção absoluta contra a reinfeção (GIARDIA, 2002).

Infecções fatais foram relatadas em chinchilas e mais recentemente em pássaros. Doença alérgica e urticária têm sido associadas com giardíase em humanos e animais domésticos, levando à especulação de que esta doença pode ser responsável por casos de atopia em outros animais como cães, gatos e periquitos, nos quais a infecção é comum (OLSON, 2000).

2.5 Patogenia

Por não haver muitos estudos da forma com que a *Giardia lamblia* causa a doença em cães e gatos, a maioria das informações é extrapolada de estudos em

humanos (BARR, 1998). A maneira pela qual este agente provoca lesões nos hospedeiros ainda não está totalmente elucidada (GENNARI & SOUZA, 2002).

Embora o estudo clínico de Rendtorff tenha sugerido o papel patogênico da *Giardia* spp no homem, o fato de que a maioria das infecções se mostrou assintomática, fez com que a idéia de que a *Giardia* spp não fosse patogênica prevalecesse por muitos anos (SOGAYAR, 2001).

Apesar da patogênese da giardiase humana ser um assunto controvertido, alguns mecanismos patogênicos são propostos, tais como o atapetamento da mucosa intestinal pelos trofozoítos, diminuindo a área de absorção de nutrientes e em especial de gorduras e vitaminas lipossolúveis (A, D, E, e K), (SOGAYAR, 2001). Gennari & Souza (2002) afirmam também que há uma redução da digestão de carboidratos, devido à redução da atividade da dissacaridase. A secreção de toxinas, desconjugação de sais biliares, atrofia das vilosidades, lesão das microvilosidades, crescimento exagerado de bactérias e secreção e liberação das prostaglandinas também têm sido sugeridos (SOGAYAR, 2001).

As espécies de *Giardia* causam alterações na ultraestrutura das vilosidades intestinais, de acordo com Gennari & Souza (2002), com encurtamento dos microvilos, esfoliação acelerada e diferenciação incompleta dos enterócitos com redução de aproximadamente 50% da área de superfície de absorção. Gonzáles *et al.* (1995) acrescentam que, em condições *in vitro*, isolados de trofozoítos de *Giardia* spp, oriundos de pacientes sintomáticos ou assintomáticos, prejudicam o epitélio em cultivo celular principalmente por depleção de suas vilosidades. Com isso a digestão e absorção de nutrientes e água ficam prejudicadas, ocorrendo decréscimo no tempo de trânsito, devido a um aumento da motilidade intestinal. Ocorre então a síndrome da má-absorção e digestão. Sogayar (2001), explica que um dos mecanismos mais aceitos para explicar a diarreia e má-absorção são as alterações funcionais e morfológicas da mucosa, provavelmente ocasionadas pelo processo inflamatório induzido pelo parasita, devido à reação imune do hospedeiro. Sogayar & Guimarães (2000) citam que a *Giardia* spp contém várias proteases, algumas delas capazes de agir sobre as glicoproteínas da superfície das células epiteliais e romper a integridade da membrana. A normalidade da mucosa se restabelece com a erradicação dos parasitas.

As espécies de *Giardia* se localizam, principalmente, na porção anterior do intestino delgado, no lume, sem invadir a mucosa intestinal. A sua aderência à superfície da mucosa ocorre devido a uma interação entre o trofozoíto e proteases

produzidas pelas células intestinais. Os trofozoítos produzem uma lecitina, por ação da tripsina, que causa aderência à superfície do enterócito. Como a tripsina é ativa na porção anterior do intestino delgado, o parasitismo maior ocorre neste local (GENNARI & SOUZA, 2002).

As hipersensibilidades alimentares encontradas em humanos e animais infectados por *Giardia* spp, estão pouco explicadas. Provavelmente ocorra um aumento do transporte de proteínas dos alimentos, devido a maior permeabilidade intestinal, tornando o hospedeiro mais suscetível a hipersensibilidades alimentares (GENNARI & SOUZA, 2002)

2.7 Epidemiologia

Giardia lamblia é um parasita de região temperada e tropical, sendo considerada o protozoário patogênico mais prevalente em seres humanos; sua prevalência é de 2-5% em países industrializados e de 20-30% nos países em desenvolvimento. A prevalência nos EUA é em geral de 5%. No Brasil a média é de 28,5% (SOGAYAR, 2001). Em crianças que freqüentam creches na região de Campinas-SP, Franco (1996), encontrou 10,09% de parasitismo.

No período de 1991 a 1995 foi realizado um estudo na Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, com 353 amostras de fezes de cães e 187 amostras de fezes de gatos, onde foi encontrado 7,65% e 16,04% de *Giardia lamblia* respectivamente (GENNARI *et al.*, 1999).

A mesma Faculdade entre 1995 e 1999 realizou novamente um trabalho com 871 amostras de cães e 303 gatos e foi encontrada uma prevalência de *Giardia lamblia* de 12,74% em cães e 14,52% em gatos (GENNARI *et al.*, 2001).

Em amostras encaminhadas a laboratórios foi possível observar em Curitiba/PR uma ocorrência de 70%; no Rio de Janeiro/ RJ de 80%; em Belo Horizonte/MG, 32% e Florianópolis/SC, 34%. Todos os laboratórios utilizaram o método de flutuação com sulfato de zinco para o diagnóstico (GENNARI & SOUZA, 2002).

As tabelas 1 e 2 demonstram a ocorrência de *Giardia lamblia*, diagnosticadas através de vários métodos e utilizando apenas uma amostra, em estudos com cães realizados em diferentes regiões do mundo e do Brasil.

TABELA 1 – Prevalência de *Giardia lamblia* em cães no mundo

País	Nº de amostras	Prevalência (%)	Autor/ano
Malásia	237	21,9	Rahman (1990)*
Japão	2.218	10,9	Arashima <i>et al.</i> (1992)*
Egito	685	8,3	Abou e Abdel (1995)*
Argentina	100	5,0	Cafasso <i>et al.</i> (1996)*
Espanha	918	12,09	Díaz <i>et al.</i> (1996)
Alemanha	2.298	2,42	Epe <i>et al.</i> (1998)*
USA	309	4,5	Coggins (1998)*
Austrália	421	22,1	Bugg <i>et al.</i> (1999)
Dinamarca	97	17,1	Hassen <i>et al.</i> (2000)*
Argentina	106	14,5	Taranto <i>et al.</i> (2000)*
Japão	95	48,2	Mochizuki <i>et al.</i> (2001)

* *apud* GENNARI & SOUZA, 2002.

TABELA 2 – Prevalência de *Giardia lamblia* em cães no Brasil

Cidade	Nº de amostras	Prevalência (%)	Autor/Ano
Botucatu – SP	450	6,7	Sogayar (1984)*
São Paulo	650	20,0	Lallo (1984)*
Maringá – PR	250	15,6	Vargaz Mendez (1993)*
São Paulo	353	7,65	Gennari <i>et al.</i> (1999)
São Paulo	871	12,74	Gennari <i>et al.</i> (2001)
Botucatu – SP	271	12,2	Oliveira-Siqueira (2002)
Porto Alegre	526	38,0	Bartmann (2002)

* *apud* GENNARI & SOUZA, 2002.

Em um estudo realizado sobre a prevalência de endoparasitas em cães do Hospital Veterinário da Pensilvânia no período de 1984-1991 foi encontrado 2,4% de *Giardia* spp em gatos e 4,7% em cães, num total de 2000 amostras fecais de cães e 8077 de gatos (NOLAN & SMITH, 1995). No estado de Nova York foram diagnosticadas 7,3% de amostras positivas em felinos com menos de um ano de idade (SPAIN, *et al.*, 2001). Em Cuba a frequência foi um pouco mais alta em cães, 10,46% (MARCEL *et al.*, 1994)

2.8 Diagnóstico

2.8.1 Diagnóstico Parasitológico

Segundo Sherding & Johnson (1998), o diagnóstico definitivo depende da identificação dos cistos através da centrifugação – flutuação com sulfato de zinco nas fezes, ou dos trofozoítos flagelados móveis nas fezes diarréicas frescas suspensas em solução salina. Taboada & Merchant (1997) complementam que devem ser examinadas três amostras, devido à produção intermitente de cistos.

Em casos de diarreia, o diagnóstico pode ser direto através da observação em esfregaços de fezes frescas, mas este é um método de baixa sensibilidade (GENNARI & SOUZA, 2002). Como nas fezes diarréicas encontram-se trofozoítos, que perecem rapidamente (15-20 minutos), recomenda-se colher o material no laboratório, para examiná-lo com o método direto (com salina ou lugol), ou diluir as fezes em conservador próprio (MIF ou SAF) (SOGAYAR & GUIMARÃES, 2000). Na suspeita de giardíase, o exame direto das fezes pode e deve ser feito de rotina. Em fezes diarréicas e eliminadas recentemente, a pesquisa de trofozoítos é indicada e, se positiva, pode-se verificar o movimento característico de rotação dos parasitas em torno de si mesmos (SOGAYAR, 2001).

Métodos de flutuação são os mais indicados, sendo o sulfato de zinco a 33% ($d = 1,18 \text{ g/cm}^3$) a solução mais apropriada para pesquisa de *Giardia*. O método de flutuação do sulfato de zinco tem a vantagem de ser econômico e de permitir o diagnóstico de outros agentes parasitários (GENNARI & SOUZA, 2002). Levine (1985), acrescenta que outras soluções como solução de açúcar e salina distorcem a imagem dos cistos.

Segundo Sogayar (2001) para chegar a um diagnóstico mais preciso, ou seja, um resultado confiável deve-se levar em consideração alguns fatores que influenciam o resultado do exame de fezes:

a) consistência das fezes: sabe-se que nas fezes formadas ocorre a presença de cistos e em fezes pastosas ou líquidas a presença de trofozoítos e que estes não sobrevivem por mais de 20-30 minutos no meio ambiente; neste caso é necessário conhecer o tempo entre a coleta e o exame.

b) padrão de excreção de cistos: deve-se levar em consideração que existem indivíduos com padrões diferentes de excreção de cistos; os altos eliminadores, que se caracterizam por apresentarem grande número de cistos nas fezes, com frequência quase diária; os baixos excretores, que apresentam um pequeno número de cistos nas fezes, com intervalos de excreção de vários dias e período pré-patente muito longo; e os intermediários, que apresentam um período pré-patente curto, valores intermediários

tanto no número de cistos, como na frequência de cistos nas fezes. Portanto, na interpretação de um exame negativo deve-se levar em conta estas particularidades.

c) número de amostras de fezes: devemos considerar a eliminação intermitente dos cistos nas fezes, portanto várias condutas têm sido propostas para a repetição dos exames. Como um indivíduo pode ficar negativo até 20 dias, com um período médio de 10 dias, propõe-se o exame de 2 a 3 amostras fecais por semana durante 4 a 5 semanas. Como na prática este procedimento é difícil de ser seguido, outros autores propuseram exame de 3 amostras fecais em dias consecutivos ou alternados, sendo o último procedimento o mais adotado.

d) Uso de conservantes para as fezes: muitas vezes não é possível examinar as fezes recém-eliminadas, por isso algumas substâncias são usadas para preservar as estruturas do parasita tanto na fase de trofozoíto como de cisto. As mais utilizadas são a formalina tamponada a 10% (tanto a temperatura ambiente como a 10°C), álcool polivinílico (PVA) e MIF (mertiolate-iodo-formol). Deve-se homogeneizar bem as fezes com o líquido conservante.

e) Substâncias que mascaram o resultado: muitos antibióticos, antiácidos, paregóricos, óleos laxativos ou preparações para enema podem causar temporariamente alterações morfológicas ou desaparecimento dos parasitas nas fezes.

O exame do fluido duodenal, outra forma de realizar o diagnóstico de giardíase, poderá ser obtido por tubagem nasofaríngea, sendo que o líquido duodenal é examinado pelo método direto a fresco ou corado pelo lugol. Este exame é usado como um complemento, mas não substitui o exame de fezes (SOGAYAR, 2001).

Outra maneira de se obter o fluido duodenal é o Enterotest ou também chamado “teste do barbante”, que consiste em o paciente ingerir em jejum uma cápsula gelatinosa contendo um barbante. Após 4 horas, o fio é retirado e o muco aderido é analisado (SOGAYAR & GUIMARÃES, 2000). Segundo alguns autores este teste é simples, rápido e de baixo custo, porém crianças apresentam um certo desconforto, sendo a positividade deste teste baixa (8,36%, 16,1%). A associação do Enterotest mais o exame de fezes seriado pode elevar a sensibilidade do diagnóstico a mais de 80% (SOGAYAR, 2001).

A biópsia duodenal segundo Sogayar (2001), é de grande valor diagnóstico da giardíase em adultos, com sensibilidade maior que a tubagem duodenal. Mesmo assim é recomendável o uso concomitante de exame de fezes.

A detecção por imunofluorescência direta de cistos de *Giardia* spp pode ser realizado por um *kit* Merifluor®C/G. Este *kit* permite um diagnóstico *in vitro* para detecção simultânea de oocistos de *Cryptosporidium* e cistos de *Giardia* no material fecal. É um procedimento rápido e aprimorado. A especificidade de anticorpos monoclonais de *Cryptosporidium* spp e *Giardia* spp é combinada com a sensibilidade da imunofluorescência direta. Essa técnica é simples e demonstra ter alta sensibilidade (MERIFLUOR, 1997).

Uma técnica pouco conhecida para o diagnóstico de *Giardia lamblia*, mas utilizado para o diagnóstico de *Criptosporidium* é a Coloração da Auramina. Segundo Dubey *et al.* (1990), é um método simples de confirmação da presença de oocistos de *Cryptosporidium* spp, que envolve a preparação e coloração das amostras. Na literatura há muitas descrições de coloração para oocistos de *Cryptosporidium* spp, mas muitos laboratórios usam modificações como método de Kinyoun ou auramina, seguido por microscopia fluorescente. Essa técnica foi adaptada para a detecção de cistos de *Giardia* spp, atualmente utilizada na Espanha (QUADROS, 2002)².

2.8.2 Diagnóstico Imunológico

Muitos métodos imunológicos estão sendo propostos com o objetivo de simplificar e aumentar a sensibilidade do diagnóstico da infecção por *Giardia* spp. Os métodos mais empregados são a imunofluorescência indireta e o método de ELISA. A detecção de anticorpos anti-*Giardia* no soro apresenta algumas desvantagens como resultados falso-positivos; baixa sensibilidade e especificidade. Isso ocorre pois os anticorpos IgG permanecem elevados por um longo período de tempo, impedindo a diferenciação entre infecções recentes e passadas, dificultando o diagnóstico nas áreas endêmicas (SOGAYAR & GUIMARÃES, 2000). Sogayar (2001) explica que foi utilizado o teste ELISA para pesquisa de anticorpos da classe IgM. Este apresenta alta sensibilidade e especificidade (96%), permitindo distinguir casos de infecção recente e dos grupos controles, recomendado para o uso de rotina no diagnóstico de giardiase.

A detecção de antígenos nas fezes (copro-antígenos) empregando a técnica de ELISA tem demonstrado resultados satisfatórios. Atualmente ensaios desenvolvidos são

² QUADROS, Rosiléia M., 2002. Comunicação Pessoal.

comercializados e têm demonstrado sensibilidade de 85% a 95% e especificidade de 90% a 100% (SOGAYAR & GUIMARÃES, 2000). Já existem no mercado vários *kits* comerciais, de fácil execução, podendo ser processadas um grande número de amostras por dia. O antígeno mais usado para a identificação de *Giardia* é o GSA 65, uma glicoproteína glicosilada encontrada nos cistos de *Giardia* ou em trofozoítos. O uso de anticorpos monoclonais tem sido recomendado, pois aumentaria a sensibilidade do teste (92%) contra a positividade do exame de fezes (10%) e da imunofluorescência (23%). Jelinek *et al.* (*apud* SOGAYAR, 2001) mostraram que a pesquisa de coproantígeno foi mais sensível que a microscopia (95% *versus* 81,8%) e mais específica (99,7%) porém não descarta o uso do exame de fezes, pois podem ocorrer outros patógenos nas fezes. Este teste pode dar positivo mesmo quando a excreção de cistos não é observada pela microscopia.

Sogayar & Guimarães (2000) descrevem que mais recentemente, técnicas com base no reconhecimento do DNA de *Giardia*, como o PCR (*Polymerase Chain Reaction*), estão sendo padronizadas para a detecção deste parasito nas fezes. Sogayar (2001) acrescenta que para o diagnóstico molecular de giardíase além da técnica do PCR, pode-se utilizar sondas genéticas que reconhecem o RNA ou DNA. Essas técnicas não têm sido objetos de muitos estudos. Apesar desses avanços o autor conclui que em nosso meio não se pode prescindir ainda do exame de fezes, que é um método barato e quando repetido três vezes torna-se um instrumento valioso no diagnóstico da giardíase.

2.9 Tratamento

Geralmente, o objetivo do tratamento da giardíase é a eliminação de sinais que possam estar associados com a infecção. Entretanto, animais assintomáticos colonizados com o parasita também podem necessitar de tratamento, uma vez que as infecções por *Giardia* podem levar a um aumento de suscetibilidade a outras doenças e/ou ganho de peso e conversão alimentar reduzidos (OLSON, 2000).

Existem várias drogas que já foram testadas para o tratamento de giardíase, entre elas estão o metronidazol, quinacrina, albendazol, fenbendazol e a furazolidona. Nos EUA, o metronidazol é a droga mais utilizada (ROSEZ *et al.*, 2002).

O metronidazol possui além de sua atividade antibacteriana, atacando bactérias anaeróbias, tem uma atividade antiinflamatória (*in vitro*), afetando a motilidade de neutrófilos, assim como alguns aspectos da imunidade celular. Acredita-se que estes

fatos sejam parcialmente responsáveis pela melhora do quadro clínico, e em especial da enterocolite (ROSEZ *et al.*, 2002).

Em um estudo realizado, o metronidazol foi efetivo em 67% dos cães infectados na dose de 25 mg/kg duas vezes ao dia por cinco dias (BARR & BOWMAN, 1994; LEIB & ZAJAC, 1995; BARR, 1998). Severos efeitos colaterais incluindo convulsão e coma tem sido relatado em cães recebendo altas doses ou tratamento prolongado. Barr (1998), complementa anorexia e vômito. Metronidazol é potencialmente mutagênico e carcinogênico, portanto, tratamento em animais prenhes deve ser evitado (LEIB & ZAJAC, 1995).

O mesmo autor citado acima descreve que a quinacrina é 100% eficiente em cães na dose de 6,6 mg/kg duas vezes por dia por cinco dias. Aproximadamente metade dos cães tratados desenvolve anorexia, febre ou letargia.

Ferreira & Porto (1999) citam que o cloridrato de quinacrina se distribui nos tecidos, com tendência a se acumular no fígado, baço, pulmões e glândulas adrenais. Sua eliminação faz-se lentamente pela urina, tornando-a de coloração amarelo escura no terceiro dia de administração contínua. É recomendada para cães de pequeno porte a dosagem de 200 mg/animal, três vezes no primeiro dia e duas vezes nos dias subseqüentes. Para cães de raças pequenas a dose é de 100 mg duas vezes por dia no primeiro dia e uma vez por dia por mais cinco dias. Para filhotes utilizam-se 50 mg duas vezes ao dia durante cinco dias.

Doses acima das recomendadas podem originar um quadro tóxico traduzido por vômitos e distúrbios das atividades motoras e psicomotoras (FERREIRA & PORTO, 1999). Barr (1998), acrescenta que quinacrina não pode ser utilizada em fêmeas prenhes.

Recentemente alguns derivados benzimidazóis (especialmente o albendazol) têm demonstrado serem altamente eficaz contra *Giardia in vitro* e em humanos. Albendazol é 50 vezes mais efetivo que a quinacrina (BARR & BOWMAN, 1994).

Albendazole é um tratamento seguro e eficaz em cães na dose de 25 mg/kg duas vezes ao dia por dois dias. Suspeita-se que esta droga tenha efeito teratogênico, portanto não se recomenda em fêmeas prenhes (LEIB & ZAJAC, 1995). Barr (1998) comenta que albendazole para cães por dois dias foi 90% eficaz para *Giardia lamblia*.

Fenbendazole oral é uma das drogas utilizadas atualmente na dosagem de 50 mg/kg uma vez ao dia por três dias consecutivos. Essa dose é a mesma aprovada para o controle de verminose, e é efetiva em remover cistos de *Giardia* em 100% dos cães.

Não possui efeitos colaterais. É seguro para filhotes de seis semanas de idade com essa dosagem (BARR & BOWMAN, 1994; BARR *et al.*, 1994; BARR, 1998; ZAJAC *et al.*, 1998).

Hassan *et al.* (2001) avaliaram a administração subcutânea de ivermectina, e foi possível demonstrar que é efetiva no tratamento de hamsters infectados pelo protozoário. O índice de cura foi de 99,1% na dose de 300 µg/kg duas a três semanas com intervalo de sete dias. Na giardíase crônica, o índice de cura foi de 99,5% duas semanas após o tratamento com 300 µg/kg.

De acordo com Barutzi *et al.* (2000), estudos *in vitro* fornecendo indicação preliminar da eficácia de benzimidazol contra *Giardia*, demonstram a eficácia de fenbendazol, e uma combinação de praziquantel, pamoato de pirantel e febantel contra giardíase naturalmente adquirida em cães. Um experimento realizado na Alemanha com a dosagem de um comprimido para cada 10 kg de peso por dois dias consecutivos, teve uma eficácia de 92,1% e não foram observados sinais de toxicidade. Giangaspero *et al.*, (2000) explicam que fenbendazol (metabólito de febantel) demonstrou ser altamente eficaz, e diferente de outras moléculas, como metronidazol ou albendazol, apresenta uma grande margem de segurança em cães. Por essa razão, dos três ingredientes ativos na combinação, febantel é a que tem maior atividade giardicida.

Schlusche *et al.* (2000) avaliaram a combinação de febantel e pamoato de pirantel e observaram o efeito giardicida sobre os trofozoítos de *Giardia* nos animais naturalmente e experimentalmente infectados.

Um estudo realizado por Villeneuve *et al.*(2000), demonstrou também a eficácia de oxfendazole, na dose de 11,3 mg/kg, uma vez ao dia por três dias para o tratamento de *Giardia lamblia*.

2.10 Imunidade e Profilaxia

A imunidade é vital para a eliminação de infecções e para a prevenção de reinfecções (OLSON, 2000). Tanto a imunidade celular como humoral são importantes na prevenção das infecções por *Giardia* spp e na eliminação do parasita (OLSON, 2000; GENNARI & SOUZA, 2002) Altos níveis de anticorpos séricos e de mucosa são encontrados em humanos e animais experimentalmente infectados durante a fase de

eliminação do agente, com produção de anticorpos contra antígeno de superfície e internos (OLSON *et al.*, 2000; GENNARI & SOUZA, 2002).

Algumas pessoas e animais desenvolveram imunidade protetora de longa duração após infecções naturais, mas muitos precisam de numerosas infecções para desenvolver essa proteção. O desenvolvimento de imunidade específica ao parasita é lento em infecções naturais e, em alguns animais com infecções persistentes, não é produzida uma resposta suficiente para eliminar o parasita (OLSON, 2000).

Animais frágeis e imunocomprometidos são suscetíveis a infecções e os sinais clínicos são particularmente severos (OLSON, 2000).

A observação em camundongos demonstrou que os trofozoítos existentes no intestino delgado durante a fase de eliminação estavam revestidos com IgG e IgA, prevenindo a adesão do parasita à mucosa intestinal. Portanto, IgA age prevenindo a adesão dos trofozoítos na mucosa intestinal, enquanto que o IgG age nos trofozoítos já aderidos (GENNARI & SOUZA, 2002). Infecções crônicas são comuns tanto em humanos como em animais. Isto pode ser devido à natureza intraluminal e não invasiva do parasita, tornando difícil o reconhecimento do antígeno e promovendo o desenvolvimento da tolerância imunológica (OLSON, 2000).

Toman *et al.* (1998) avaliaram os sistemas imunes de animais que possuíam giardíase, e observaram que houve um decréscimo no nível total de imunoglobulinas e na diminuição do número de neutrófilos, enquanto a depressão da atividade linfocitária e fagocitária foi menos comum.

A vacina para *Giardia* (*GiardiaVax, Fort Dodge Animal Health*) foi desenvolvida com antígeno de trofozoíto. Demonstrou-se através de estudos que esta vacina induz uma imunidade protetora em cães. IgG e IgA do soro e mucosas de animais vacinados eram significativamente maiores que os controles infectados, demonstrando que as infecções naturais freqüentemente induzem uma resposta fraca o qual pode ser insuficiente para acabar com a infecção (OLSON, 2000).

Olson (2000) explica que foi possível observar que cães que receberam a vacina liberaram cistos em uma quantidade inferior à considerada infectante (infectante: acima de 10 cistos/grama de fezes) por uma duração média de 5 dias. Após 42 dias os animais vacinados foram negativos para a presença de cistos de *Giardia* spp.

Segundo dados apresentados pelo Departamento da Agricultura dos EUA a vacina é segura e eficaz. Comparando cães vacinados com não vacinados, os primeiros

não desenvolvem diarreia, alguns cães eliminam poucos cistos por curto período e trofozoítos não são encontrados no intestino delgado (LEIB & ZAJAC, 1999).

Avaliações demonstram que a vacinação fornece proteção a partir de uma infecção experimental com uma cepa de *Giardia* diferente da cepa vacinal. Numerosos estudos evidenciaram que há diferenças mínimas nas proteínas entre cepas do protozoário isoladas de animais e de humanos e que o soro imune reconhece proteínas de *Giardia* similares. Nestes estudos, a proteção foi feita através da vacinação com uma cepa de uma fonte diferente (isolada de animais) do que foi usada para desafiar (isolada de ambiente). A vacina deve, portanto, fornecer proteção contra infecções para a maioria de cepas do protozoário. É possível que a vacina também possa ser usada para imunostimular animais infectados cronicamente permitindo com que os animais se livrem do parasita (OLSON, 2000).

Segundo Olson *et al.* (2000) e Thompson *et al.* (2000), não há relatos indicando o uso da vacina para *Giardia* como agente imunoterapêutico. Em um trabalho foi observado que 13 cães que possuíam giardíase clínica crônica foram vacinados e responderam com desaparecimento dos sinais clínicos entre 21 e 35 dias e à eliminação de cistos entre 21 e 70 dias. Apesar da imunoterapia ter tido sucesso nestes casos, deve-se ter cautela devido exposição do antígeno de mucosa poder resultar em animais que não respondem a vacinação sistemática.

A vacina é recomendada para cães a partir de oito semanas de idade, via subcutânea, em duas doses, com intervalo de três semanas entre doses. Em caso de cães infectados, recomenda-se o tratamento antes da aplicação (GENNARI & SOUZA, 2002).

Olson (2000) conclui que a vacina pode reduzir infecções em cães, minimizar sinais clínicos associados com a giardíase, reduzir a contaminação ambiental e prevenir a transmissão zoonótica.

2.11 Controle

Segundo Barr (1998) não há droga 100% eficaz contra as espécies de *Giardia*. Barr & Bowman (1994) verificaram que a eficácia da droga contra este parasita está baseado na remoção dos cistos nas fezes, não na remoção do organismo do trato intestinal. Os compostos inibem a produção de cistos somente por um período. Animais

tratados também podem permanecer como fonte de infecção devido alguns cistos viáveis no material fecal aderido na pelagem ou presente no ambiente frio e úmido.

Estes fatores são importantes para o controle de *Giardia lamblia* em um canil ou gatil. Foi baseado nisso que foi criado um protocolo de controle que consiste em: descontaminação do ambiente; usar novas terapias para o tratamento dos animais; eliminação dos cistos da pelagem do animal e prevenção da reinfecção (BARR & BOWMAN, 1994).

Em um canil ou gatil faz-se necessário estabelecer uma limpeza da área. Animais não prenhes são tratados por cinco dias com fenbendazole ou albendazole. Os animais devem ser retirados e todo material fecal deve ser removido e a área (vazia) deve ser limpa com desinfetante amônia quaternária, que inativa os cistos de *Giardia* spp (BARR & BOWMAN, 1994). Este desinfetante inativa o cisto mais rapidamente que os compostos fenólicos (LEIB & ZAJAC, 1999). A amônia quaternária perde consideravelmente sua atividade quando em contato com matéria orgânica, portanto todo material fecal deve ser removido como dito anteriormente (BARR & BOWMAN, 1994).

Devido o cisto ser extremamente suscetível a desidratação, o canil deve ser seco após a limpeza antes das reintrodução dos animais. Os cães e gatos devem receber um banho com xampu para remover o material fecal de sua pelagem antes de sua volta. A área perianal deve ser limpa com amônia quaternária. Este composto pode irritar a pele ou membranas se a exposição for prolongada e repetitiva (BARR & BOWMAN, 1994).

Para reintroduzir novo animal deve-se realizar exame de fezes, lavar a pelagem, e se for necessário tratar. A transmissão por fômites pode ser evitada limpando os calçados. Exames periódicos de fezes devem ser realizados para que o processo seja bem efetivo (BARR & BOWMAN, 1994).

Garcia & Bruckner (1993) recomendam o iodo como um efetivo desinfetante para água. Cimerman & Cimerman (1999), orientam a cloração da água, já que seu aquecimento até 60°C, não é suficiente para sua destruição. A água fervida por cinco minutos é efetiva na inativação dos cistos, porém o congelamento não os destrói.

2.12 Giardíase como zoonose

Apesar das controvérsias, os autores descrevem que a giardíase deve ser considerada com potencial zoonótico e adequadas precauções devem ser tomadas quando em contato com as fezes ou animais infectados. A tentativa de infectar cães e gatos com cistos isolados de pessoas teve resultados contraditórios. Algumas espécies humanas e animais têm propriedade antigênica, genética e também bioquímica semelhante enquanto outras não. Recentemente, com o desenvolvimento da biologia molecular permitiu uma avaliação de diferentes espécies evidenciando o potencial zoonótico. Infecções de pessoas são freqüentemente originadas de fontes d'água, ou contato direto com outras pessoas. Amostras fecais de cães e gatos podem contribuir para a contaminação da água (LEIB & ZAJAC, 1999).

Após uma observação que a giardíase estava causando um grande problema de saúde pública, Marcel *et al.*(1994) investigaram a freqüência do protozoário *Giardia* spp nos animais domésticos, assim como a possível contaminação e infecção das pessoas diretamente relacionadas. Depois de analisadas as amostras, não foram observadas relações significativas de transmissão homem-animal na infecção pelo parasita.

Curiosamente nos EUA, há evidências de que *Giardia* proveniente do homem que tem acesso a reservatórios municipais de água, pode infectar animais silvestres com êxito, especialmente castores. Estes animais atuam, então, como fonte de contaminação de abastecimentos domésticos de água (URQUHART, 1998).

Giardia lamblia é relatada como um prevalente e difundido protozoário em bovinos jovens. Embora a giardíase em humanos seja mundial, com alta prevalência em crianças com menos de 10 anos de idade e em países desenvolvidos, houve somente um relato associando uma infecção natural em criança com animais de fazenda (FRAYER *et al.*, 2000). Porém Keulen *et al.* (2002), descrevem que o protozoário *Giardia lamblia* que parasita os humanos possui dois genótipos A ou B, os quais são encontrados em cistos de amostras fecais de cães, gatos, alguns animais de fazenda e também silvestres. Além disso, trofozoítos recuperados de cistos obtidos de amostras ambientais, também possuem esses dois genótipos, sugerindo que estes apresentam características zoonóticas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Amostragem:

A amostragem foi do tipo randômica e estratificada por origem dos animais (canil e rua), de acordo com Thrusfield (1986), para uma expectativa de prevalência de 30%, com uma precisão absoluta de 5%, com nível de confiança de 95%, totalizando 332 amostras.

As amostras de fezes de cães foram coletadas, com ou sem sinal de diarreia. Os animais eram de diferentes raças e idades, provenientes de canil e de rua. Para efeito desse estudo, cães de canil foram considerados aqueles oriundos de propriedades que possuíam no mínimo dois animais, alguns com assistência médico-veterinária. Portanto os cães foram divididos em 2 grupos:

Grupo 1 – 166 amostras de fezes de cães de canil

Grupo 2 – 166 amostras de fezes de cães de rua

A partir destes grupos os animais foram classificados em machos e fêmeas.

As amostras foram coletadas e analisadas no período de janeiro a julho de 2002. Os proprietários realizavam as coletas logo que os cães defecavam. No caso dos animais de rua, as fezes foram coletadas pela equipe do Canil Municipal ou pela executora, diretamente do reto após a realização da eutanásia.

Após as coletas, as amostras foram acondicionadas em potes plásticos adequados devidamente identificados. As fezes foram conservadas em geladeira até suas análises, realizadas até 24 horas, no Laboratório de Protozoologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Para o diagnóstico de *Giardia lamblia* foram utilizados dois métodos: Método de Faust e cols. e a Técnica de Coloração da Auramina, sendo este último utilizado apenas em 147 amostras.

3.2 Métodos

3.2.1 Método de Faust e colaboradores (1939), de acordo com Hoffmann (1987)

3.2.1.1 Material

- dois gramas de fezes
- água destilada
- sulfato de zinco a 33% (densidade 1.18)
- solução de lugol
- lâmina e lamínula de vidro
- copos
- alça de platina
- bastão de vidro
- tamis
- centrífuga e tubos

3.2.1.2 Procedimento

- Homogeneizar as fezes com 10 ml de água destilada
- Tamisar
- Colocar a suspensão em um tubo de centrífuga com capacidade de 15 ml
- Centrifugar o filtrado durante 2 minutos a 2500 rpm
- Decantar o sobrenadante e reter o sedimento
- Adicionar o sedimento 10 ml de água destilada
- Repetir essa operação 2 a 3 vezes até que o líquido sobrenadante fique claro
- Desprezar o sobrenadante e reter o sedimento
- Adicionar ao sedimento 1 a 2 ml de solução de sulfato de zinco a 33%
- Misturar
- Acrescentar mais solução de sulfato de zinco até chegar a 1 cm da borda do tubo
- Centrifugar durante 1 minuto a 2500 rpm. Uma vez parando por completo a centrífuga, deixar os tubos em repouso por 5 minutos
- Colocar os tubos num suporte, sem agitar
- Coletar com pipeta ou alça de platina várias gotas da película superficial
- Examinar ao microscópio entre lâmina e lamínula, adicionando 1 gota de lugol.

Os cistos foram observados no microscópio óptico (Olympus) em aumento de 200 vezes e confirmados em 400 vezes.

3.2.2 Técnica de Coloração da Auramina

3.2.2.1 Coloração do material

As amostras de fezes foram coradas através de Técnica de Coloração da Auramina, conforme Nichols & Thom (1984):

- distender as fezes em lâminas
- deixar secar ao natural
- cobrir a lâmina com papel filtro
- corar com auramina durante 10 minutos
- retirar papel filtro e descorar a lâmina com solução de álcool ácido a 3% durante 10 segundos
- lavar com água da torneira
- contra corar com permanganato de potássio a 0,1% por 3 minutos
- conservar a lâmina no escuro até a leitura

O diagnóstico foi baseado na presença de cistos de *Giardia lamblia* de coloração verde amarelado fluorescente nas fezes (QUADROS, 2002)³. Os cistos foram visualizados em um microscópio de fluorescência (Zeiss) com uma triagem prévia no aumento de 100 vezes e com posterior confirmação em 300 vezes. Foram utilizadas 147 amostras para a realização desta técnica.

3.3 Análise Estatística

- O Teste Exato de Fisher⁴ (nível de $\alpha = 5\%$), foi utilizado nas análises comparativas;
- O Teste de McNemar⁴ foi utilizado nos estudos pareados;
- A porcentagem de Concordância foi calculada para verificar o relacionamento entre as duas técnicas, Faust e cols. e Coloração da Auramina, segundo Coutinho *et al.* (1970) e Araújo (1999) (Anexo 1);

³ QUADROS, Rosiléia M., 2002. Comunicação Pessoal.

- A estatística de Kappa, de acordo com Smith (1995), foi utilizada para medir o grau de concordância real entre as duas técnicas (Anexo 2).

4 RESULTADOS

4.1 Método de Faust e cols. (1939)

Através do Método de Faust e cols., a estimativa em ponto da frequência obtida de *Giardia lamblia* foi de 34,04%, podendo variar dentro de um intervalo de confiança de 95% de 28,95 a 39,13%.

A Tabela 3 demonstra os resultados obtidos através de exames coprológicos de caninos detectados pelo Método de Faust e cols., de acordo com a procedência.

TABELA 3 – Resultados absolutos e relativos dos exames coprológicos para diagnóstico de *Giardia lamblia* através do Método de Faust e cols., em caninos da cidade de Canoas, RS, Brasil, de acordo com a procedência, no ano de 2002.

Procedência/Resultado	Positivo	Negativo	Total
Canil	68 (40,96%)	98 (59,04%)	166 (100%)
Rua	45 (27,11%)	121 (72,89%)	166 (100%)
Total	113 (34,04%)	219 (65,96%)	332 (100%)

O Teste Exato de Fisher aplicado aos dados da Tabela 3 revelou haver diferença significativa na frequência de cisto de *Giardia lamblia* em relação à procedência dos animais ($p = 0,0107$), sendo mais nos animais de canil.

Os resultados detectados pelo Método de Faust e cols. nos grupos experimentais procedência (canil e rua) estão demonstrados na figura 1.

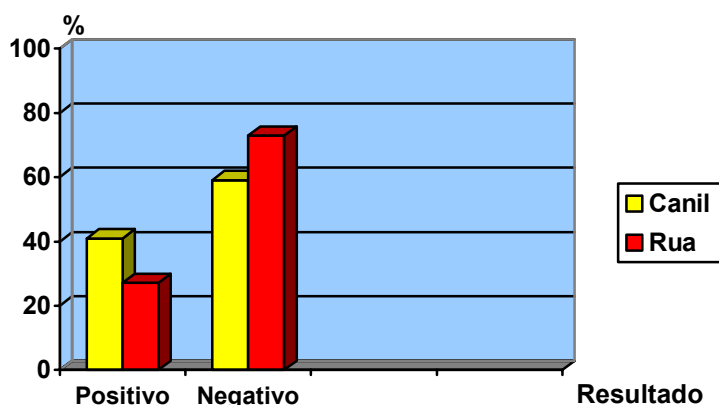


FIGURA 1 – Resultados de análises laboratoriais, para diagnóstico de *Giardia lamblia* em fezes caninas realizadas através do Método de Faust e cols. de acordo com a procedência (canil e rua), no município de Canoas, RS, Brasil, no ano de 2002.

A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos através de pesquisa de *Giardia spp* pelo Método de Faust e cols. em função da variável sexo.

TABELA 4 – Frequências absolutas e relativas detectadas em exames coprológicos para pesquisa de cistos de *Giardia lamblia*, através do Método de Faust e cols. em caninos da cidade de Canoas, RS, Brasil, de acordo com o sexo dos animais, no ano de 2002.

Sexo/Resultado	Positivo	Negativo	Total
Machos	50 (33,11%)	101 (66,89%)	151 (100%)
Fêmeas	63 (34,08%)	118 (65,19%)	181 (100%)
Total	113 (34,04%)	219 (65,96%)	332 (100%)

O Teste Exato de Fisher aplicado aos dados da Tabela 4 revelou não haver diferenças significativas na frequência de infecções por *Giardia lamblia*, entre machos e fêmeas ($p = 0,8162$).

Os resultados encontrados pelo Método de Faust e cols. estão demonstrados na Figura 2.

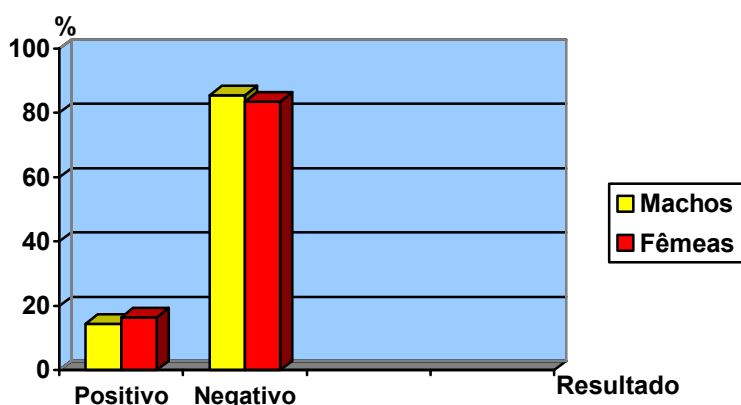


FIGURA 2 – Resultados dos exames coprológicos em fezes caninas para *Giardia lamblia*, no município de Canoas, RS, Brasil, no ano de 2002, de acordo com o sexo.

4.2 Técnica de Coloração da Auramina

De acordo com os testes realizados através da Técnica de Coloração da Auramina, em fezes de caninos do município de Canoas, RS, Brasil, obteve-se 15,65% das amostras positivas para *Giardia lamblia*.

A Tabela 5 demonstra as freqüências dos exames coprológicos realizados através da Técnica de Coloração da Auramina para pesquisa de *Giardia* spp em caninos, de acordo com a procedência.

TABELA 5 – Freqüências absolutas e relativas da pesquisa de cistos de *Giardia lamblia*, em fezes de cães do município de Canoas, RS, Brasil, através da Técnica de Coloração da Auramina, de acordo com a procedência dos animais, no ano de 2002.

Procedência/Resultado	Positivo	Negativo	Total
Canil	11 (16,42%)	56 (83,58%)	67 (100%)
Rua	12 (15,00%)	68 (85,00%)	80 (100%)
Total	23 (15,65%)	124 (84,35%)	147 (100%)

O Teste Exato de Fisher aplicado aos dados dessa tabela demonstrou não haver diferença significativa entre as procedências (rua e canil) na técnica utilizada ($p = 0,7977$).

Os resultados detectados pela Técnica de Coloração da Auramina de acordo com a procedência, estão demonstrados na Figura 3.

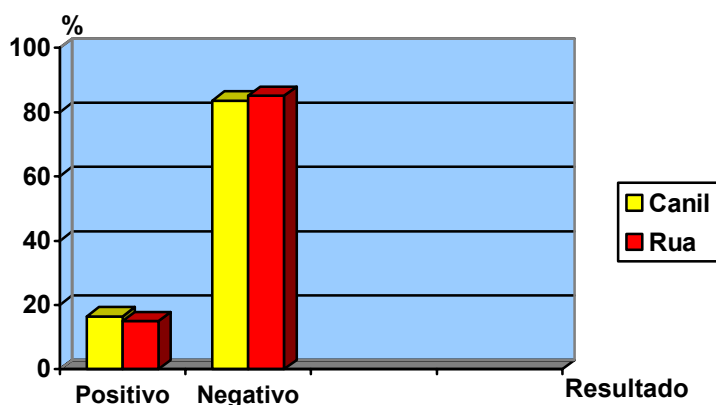


FIGURA 3 – Resultados dos exames coprológicos para pesquisa de *Giardia lamblia* através da Técnica de Coloração da Auramina, em cães do município de Canoas, RS, Brasil, no ano de 2002, de acordo com a procedência.

Através da Técnica de Coloração da Auramina foi possível observar cistos de *Giardia* spp de fezes de caninos de acordo com o sexo, como mostra a Tabela 6.

TABELA 6 – Frequências absolutas e relativas de *Giardia lamblia* em exames coprológicos em caninos do município de Canoas, RS, Brasil, realizados através da Técnica de Coloração da Auramina, de acordo com o sexo dos animais, no ano de 2002.

Sexo/Resultado	Positivo	Negativo	Total
Machos	09 (14,52%)	53 (85,48%)	62 (100%)
Fêmeas	14 (16,47%)	71 (83,53%)	85 (100%)
Total	23 (15,65%)	124 (84,35%)	147 (100%)

O Teste Exato de Fisher, aplicados aos dados da Tabela 6, revelou não haver diferença significativa ($p = 0,8209$), entre machos e fêmeas.

Os resultados obtidos nos exames coprológicos na variável estão representados na figura 4.

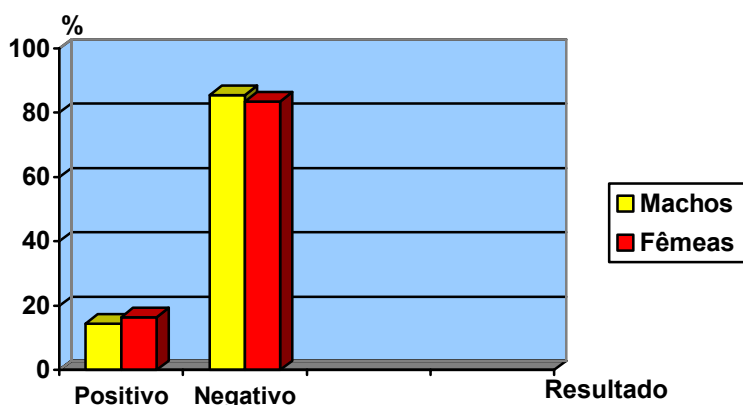


FIGURA 4 – Resultados dos exames coprológicos de caninos do município de Canoas, RS, Brasil, para o diagnóstico de *Giardia lamblia*, de acordo com o sexo, através da Técnica de Coloração da Auramina, no ano de 2002.

4.3 Comparação entre o Método de Faust e cols. e a Técnica de Coloração da Auramina

A Tabela 7 representa os resultados obtidos através do Método de Faust e da Técnica de Coloração da Auramina, para pesquisa do protozoário *Giardia lamblia*.

TABELA 7 – Frequência absoluta dos exames coprológicos para diagnóstico de *Giardia lamblia* realizados através do Método de Faust e cols. e da Técnica de Coloração da Auramina, em cães do município de Canoas, RS, Brasil, no ano de 2002.

TÉCNICAS			
FAUST	AURAMINA		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	10	40	50
Negativo	13	84	97
Total	23	124	147

Segundo os dados da Tabela 7 a porcentagem de concordância de resultados positivos entre as duas técnicas foi de 20%, e a porcentagem de concordância de resultados negativos foi de 86,2%, perfazendo uma porcentagem de concordância total de 63,2 (Anexo 1). A mesma tabela demonstra que 34,04% dos exames foram positivos

pelo Método de Faust, enquanto que 15,65% foram positivos pela Técnica de Coloração da Auramina. De todos os exames realizados 63 foram positivos em ambas as técnicas, ou ao menos em um dos testes (Anexo 1), enquanto 94 foram negativos no Faust e 121 negativos na Auramina.

O teste McNemar aplicado aos dados da Tabela 7 detectou diferença significativa entre as duas técnicas para um $\alpha = 5\%$ ($p = 0,0004$, considerando extremamente significativo) enquanto o valor Kappa calculado foi 0,07, significando o grau de concordância fraco.

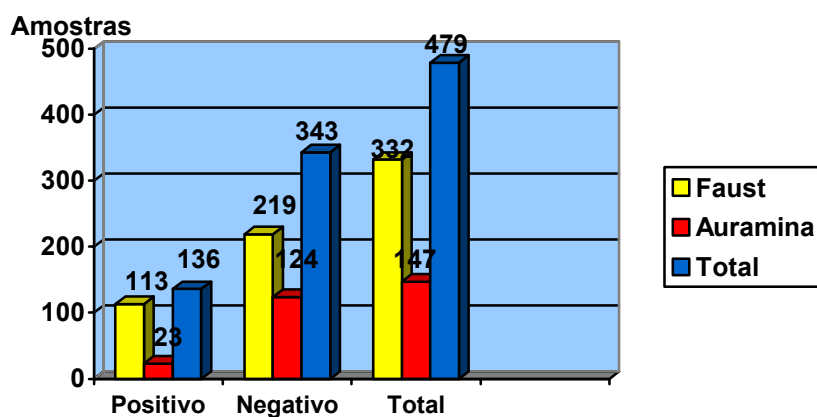


FIGURA 5 – Comparação entre o Método de Faust e a Técnica de Coloração da Auramina, para o diagnóstico de *Giardia lamblia* em exames coprológicos.

FIGURA 6 – Cisto de *Giardia lamblia*, detectado pelo Método de Faust e cols.
(400 vezes)

5 DISCUSSÃO

O presente trabalho teve como objetivo determinar a frequência do protozoário *Giardia lamblia* em cães do município de Canoas, RS, Brasil, e comparar o Método de Faust e cols e a Técnica de Coloração da Auramina, utilizados para o diagnóstico laboratorial desta protozoose. Das 332 amostras analisadas com o Método de Faust e cols., 147 foram comparadas com a Técnica de Coloração da Auramina. Os grupos experimentais foram separados por sexo e procedência, não sendo possível a constituição de um terceiro grupo por idade, pelo pequeno número de amostras coletadas de animais com menos de um ano de idade.

As amostras analisadas com o Método de Faust e cols. resultaram em 34,04% positivas, no município de Canoas, resultado semelhante à frequência encontrada por Bartmann (2002) em Porto Alegre (37,64%), 32% em Belo Horizonte/MG e 34% em Florianópolis /SC citadas por Gennari & Souza (2002). No entanto em Curitiba/PR e Rio de Janeiro/RJ, as frequências foram superiores, 70 e 80% respectivamente, analisadas com a mesma técnica (GENNARI & SOUZA, 2002).

A Técnica de Coloração da Auramina ainda não é utilizada no Brasil para diagnóstico de *Giardia* spp, mas foi utilizada para o diagnóstico de *Cryptosporidium lamblia* por Quadros (2002), que encontrou 17% das amostras fecais de bovinos positivas, concluindo que esta técnica pode ser utilizada como rotina para detecção de oocistos de *Cryptosporidium* spp. Por outro lado, o presente trabalho demonstra que a auramina não é a coloração mais indicada para a realização do diagnóstico de *Giardia lamblia*, já que somente 15,65% das amostras examinadas foram positivas, demonstrando ter baixa sensibilidade. Os exames considerados falsos negativos, totalizaram 40, enquanto os falsos positivos foram 13, resultando uma diferença significativa entre as duas técnicas e um valor de Kappa igual a 0,07, correspondendo a um grau de concordância fraco.

Para Barr *et al.* (1992) o diagnóstico de cistos de *Giardia* spp utilizando o Método de Faust e cols. é ainda considerado o mais prático e efetivo, no entanto, o sucesso do diagnóstico é baixo em cães, particularmente devido à liberação intermitente

dos cistos. Portanto há a necessidade de um método mais sensível e específico para o diagnóstico de *Giardia lamblia*.

Bugg *et al.* (1999) avaliaram amostras de fezes de cães oriundos de *pet shop*, abrigos, clínicas veterinárias e canis de criação, de diferentes idades, na Austrália. Foram encontrados 29% das amostras positivas para *Giardia* spp em cães refugiados, 37 % em cães de *pet shop*, e 28,6% em canis de criação. O resultado das amostras positivas dos cães refugiados se aproxima do com o encontrado neste trabalho, que resultou em 27,11% de cães de rua parasitados. De forma semelhante ocorreu com os cães de canil, 40,96% positivos, que neste trabalho se assemelham com o grupo de cães de *pet shop* do autor referido acima (37%). A análise das amostras de ambos os trabalhos foi realizada através do Método de Faust e cols.

Por outro lado, Oliveira-Sequeira & Amarante (2001), não encontraram resultados aproximados, e sim 17,8% de cães de rua parasitados com *Giardia lamblia* e 5,0% de cães que possuíam donos. Os autores consideram alta a prevalência de cães de rua infectados e explicam essa situação como consequência da deficiência nutricional e estresse pelo qual os animais são submetidos.

A alta frequência de *Giardia lamblia* encontrada neste trabalho é preocupante, pois apesar deste protozoário ser de pouca importância clínica em cães, pesquisas têm mostrado que algumas espécies/genótipos deste parasita podem ser compartilhados entre humanos e cães particularmente em áreas urbanas (BUGG, 1999). Keulen *et al.* (2002) descreve que ainda não está definido se animais agem como reservatórios para humanos ou vice-versa.

De acordo com Robertson *et al.* (2000) a evidência epidemiológica mundial sugere que os humanos parecem ser o principal reservatório para giardíase humana e a transmissão direta de pessoa para pessoa é mais importante que a transmissão zoonótica. No entanto, cães e gatos podem carrear espécies de *Giardia* as quais são potencialmente infectivas para seres humanos, portanto o potencial zoonótico deve ser considerado, especialmente para pessoas imunocomprometidas. Cimerman *et al.* (1999) relatam uma prevalência de 16% em pacientes aids.

A incidência do protozoário *Giardia lamblia* é mais alta em animais jovens e em animais confinados (SHERDING & JOHNSON,1998). Neste trabalho a frequência detectada dos animais de canil superior àquela encontrada em animais de rua. Em contraste com estes autores, Oliveira-Sequeira & Amarante (2001), descrevem que a infecção por *Giardia lamblia* foi significativamente mais baixa em animais jovens do

que nos adultos. Horejs & Koudela (1994) encontraram como resultado em animais jovens 53,2%. Já Díaz *et al.* (1996); Bugg *et al.* (1999) descrevem em seus estudos 12,09% e 11,4% de filhotes infectados, respectivamente.

Um levantamento realizado por Mochizuki, *et al.* (2001), no Japão, em animais hospitalizados, *Giardia lamblia* foi o segundo patógeno entérico mais encontrado, totalizando 48,2% dos animais contaminados.

Apesar de não ocorrer diferença significativa entre machos e fêmeas positivas para o protozoário em estudo neste trabalho, Oliveira-Sequeira & Amarante (2001), encontraram maior número de machos adultos positivos do que fêmeas. O autor acrescenta que cães castrados tendem a mostrar uma reduzida prevalência da infecção comparando com animais sexualmente ativos. Por outro lado, Horejs & Koudela (1994) observaram um resultado diferente, em que houve maior frequência de *Giardia* spp em fêmeas do que em machos, tendo como resultados 7% e 3,4%, respectivamente.

As diferenças encontradas nos diversos trabalhos da literatura podem estar relacionados a uma não padronização do método principalmente ao que se refere a densidade da solução flutuadora, bem como a diferentes condições de criação e manejo que afetariam a taxa de exposição ao risco dos animais.

Atualmente, animais de companhia, particularmente cães e gatos, tem um papel importante na sociedade, contribuindo para o desenvolvimento físico, social e emocional, principalmente de crianças e idosos (Robertson *et al.*, 2000). Portanto, a importância do estudo da giardiase deve-se ao fato que esta doença pode prejudicar não só animais, mas também humanos, principalmente os imunocomprometidos.

6 CONCLUSÕES

Após realizar as análises dos resultados obtidos neste estudo, podemos concluir que:

1- A frequência da infecção por *Giardia lamblia* em cães em Canoas, RS, detectada através do Método de Faust e cols, foi de 34,04%, podendo variar de 28,95 a 39,13%, num intervalo de confiança de 95%.

2- O Método de Faust e cols., foi o mais adequado para o diagnóstico de *Giardia lamblia* do que a Técnica de Coloração da Auramina.

3- Cães de canil apresentaram maiores frequências de infecção por *Giardia lamblia* do que cães de rua pelo Método de Faust e cols.

4- Analisando a variável sexo, não houve diferença significativa ($p = 0,8162$) nas amostras analisadas pelo Método de Faust e cols., ou seja, cães machos e fêmeas são igualmente infectados.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ARAÚJO, F.A.P. **Avaliação soroepidemiológica de anticorpos para *Toxoplasma gondii* Nicolle & Manceaux, 1909 em soros de suínos (*Sus scrofa*) da Região da Grande Erechim, RS-Brasil, detectados através das Técnicas de imunofluorescência indireta de imunoenzimática.** Rio de Janeiro – RJ. 125 f. Tese (Doutorado). Instituto Oswaldo Cruz, 1999.

BARR, S.C. Enteric Protozoal Infections. In: GREENE, C. E. **Infections Disease of the Dog and Cat.** 2.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. cap 78, p. 482-486.

BARR, S.C. *et al.* Efficacy of a drug combination of praziquantel, pyrantel pamoate, and febantel against giardiasis in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 59, p. 1134-1136, 1998.

BARR, S.C.; BOWMAN, D.D. Giardiasis in Dogs and Cats. **The Compendium of Continium Education Practice Veterinary**, v. 16, n. 5, p. 603-610, may.1994.

BARR, S.C.; BOWMAN, D.D.; ERB, H.N. Evaluation of two test procedures for diagnosis of giardiasis in dogs. **American Journal Veterinary Research**, v. 53, p. 2028-2031, nov. 1992.

BARR, S.C.; BOWMAN, D.D.; HELLER, R.L. Efficacy of Fenbendazole against Giardiasis in Dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 55, p. 988-990, 1994.

BARTMAN, A. **Freqüência de *Giardia lamblia* (Kunstler, 1882), em cães (*Canis familiaris*) determinada através de exames parasitológicos solicitados por clínicas veterinárias da cidade de Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.** Porto Alegre – RS. 80 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002.

BARUTZKI, D.; SCHIMMEL, A.; SCHAPER, R. Eficácia de Pamoato de Pirantel, Febentel e Praziquantel contra *Giardia* em cães Naturalmente Contaminados. In: ***Giardia*: informativo técnico.** [s.l.]: Bayer, [2000]. p. 5-7.

BROWN, H.W. **Parasitologia Clínica.** 4.ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1977. 296 p.

BUGG, R.J. *et al.* Gastrointestinal Parasites of Urban Dogs in Perth, Western Austrália. **The Veterinary Journal**, v. 157, p. 295-301, 1999.

CIMERMAN, S.; CIMERMAN, B.; LEWI, D.S. Prevalence of intestinal parasitic infections in patients with acquired immunodeficiency syndrome in Brazil. **International Journal of Infections Diseases**, v. 3, p. 203-206, 1999.

CIMERMAN, B.; CIMERMAN, S. Giardíase. In: CIMERMAN, B.; CIMERMAN, S. **Parasitologia Humana e Seus Fundamentos Gerais**. São Paulo: Atheneu, 1999. cap. 7, p. 28-33.

COUTINHO, S.G. *et al.* Análise comparativa entre as sensibilidades da Reação Indireta de Anticorpos Fluorescentes e da Reação de Sabin-Feldman na pesquisa de Anticorpos séricos para toxoplasmose. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Rio de Janeiro, v. IV, n. 5, p. 315-325, 1970.

DÍAZ, V *et al.* Aspects of animal giardioses in Granada province (Southern Spain). **Veterinary Parasitology**, v. 64. p. 171-176, 1996.

DUBEY, J.P.; SPEER, C.A.; FAYER, R. **Cryptosporidiosis of Man and Animals**. CRC Press, 1990, 199 p.

FAYER R. *et al.* Prevalence of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Eimeria* infections in post-weaned and adult cattle on three Maryland farms. **Veterinary Parasitology**, v. 93, p. 103-112, 2000.

FERREIRA, A.J.P.; PORTO A.D. Agentes Antiprotozoários. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. cap 46, p. 466-479.

FRANCO, R.M.B. **Infecções parasitárias em creches: estudo em uma área urbana, com ênfase em *Cryptosporidium parvum* e *Giardia duodenalis***. Campinas-SP. Tese (Doutorado). Universidade Estadual de Campinas, 1996.

FRANCO, R.M.B.; ROCHA-EBERHARDT, R.; CANTUSIO NETO, R. Occurrence of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in raw water from the Atibaia river, Campinas, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 43, p. 109-111, mar-apr. 2001.

GARCIA, L.S.; BRUCKNER, D.A. **Diagnostic Medical Parasitology**. 2.ed. Washington: American Society for Microbiology, 1993. p. 31-48.

GARCÍA, L.E.; GALVÁN, S.C.; CARDOSO, E.J. Distancia filogenética de aislados de *Giardia intestinalis* de niños sintomáticos y asintomáticos. **Revista de Investigación Clínica**, v. 54, n. 2, p. 113-118, mar./abr. 2002.

GENNARI, S.M.; SOUZA, S. **Giardíase**. Boletim Técnico. São Paulo [s.n.], [2002].

GENNARI, S.M. *et al.* Ocorrência de protozoários e helmintos em amostras de fezes de cães e gatos da cidade de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, n. 2, 1999.

GENNARI, S.M.; PENA, H.F.J.; BLASQUES, L.S. Frequência de Ocorrência de Parasitos Gastrointestinais em Amostras de Fezes de Cães e Gatos da Cidade de São Paulo. **Vet News**, [2000?]. 7 p. Disponível em: <http://www.splough.com.br/news/vetnews/artigo/vet52_b.htm>. Acesso em: 27 dez. 2001.

GEORGI, J.R.; GEORGI, M.E. **Canine Clinical Parasitology**. Pensilvânia: Lea & Febiger: Pensilvânia, 1991. Cópia xerográfica. Não paginado.

GIANGASPERO, A.; TRALDI, G.; BIANCIARDI, P. Avaliação da Eficiência do Tratamento com Pamoato de Pirantel, Febantel e Praziquantel contra *Giardia* em Cães Adultos Naturalmente Infectados. In: **Giardia**: informativo técnico. [s.l.]: Bayer, [2000]. p. 9-11.

GIARDIA. Disponível em: <<http://www.bestconsulting.com/veterinaria/giardia/giardia.htm>>. Acesso em 22 abr. 2002.

GONZALEZ C.B. *et al.* *Giardia lamblia*: in vitro cytopathic effect of human isolates. **Experimental Parasitology**, v. 80, n. 1, p. 133-138, feb. 1995.

HASSAN, S.I. *et al.* Effect of a broad spectrum antiparasitic drug “ivermectin” in acute and chronic experimental giardiasis using different dose regimens. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**, v. 31, p. 419-428, aug. 2001.

HOFFMANN, R.P. **Diagnóstico de Parasitismo Veterinário**. Porto Alegre: Sulina, 1987. 156 p.

HOREJS, R.; KOUDELA, B. Giardiasis in dogs in a breeding kennel. **Veterinary Medicine**, v. 39, p. 93-101, 1994.

IBGE CIDADES @. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br>>. Acesso em: 10 fev. 2003.

KEULEN, H. *et al.* Presence of human *Giardia* in domestic, farm and wild animals, and environmental samples suggests a zoonotic potential for giardiasis. **Veterinary Parasitology**, v. 108, p. 97-107, 2002.

KREIER, J.P. **Parasitic Protozoa**. New York: Academic Press, 1978. 4 v.

LEIB, M.S., ZAJAC, A.M. *Giardia*: Diagnosis and Treatment. In: BONAGURA, J. **Kirk's Current Veterinary Therapy: XII Small Animal Practice**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1995. p. 716-720.

LEIB, M.S.; ZAJAC, A.M. Giardiasis in Dogs and Cats. **Veterinary Medicine**. p.793-802, sept. 1999.

LEVINE, N.D. *et al.* A New Revised Classification of the Protozoa. **Journal Protozoology**, v. 27, n. 1, p. 37-58, 1980.

LEVINE, N.D. **Veterinary Protozoology**. 5.ed. Ames: Iowa State University, 1985. 414 p.

MARCEL, A.M. *et al.* Frecuencia de giardiasis en algunas especies de animales domésticos de la provincia Villa Clara, Cuba. **Veterinaria México**, v. 25, n. 4, p. 337-340, 1994.

MERIFLUOR: *Cryptosporidium/Giardia*. Cincinnati, OH: Meridian Diagnostics, 1997. 7 p.

MOCHIZUKI, M.; HASHIMOTO, M.; ISHIDA, T. Recent epidemiological status of canine viral enteric infections and *Giardia* infection in Japan. **Journal Veterinary Medicine Science**, v. 63, n. 5, p. 573-575, may. 2001.

MURRAY, P.R. *et al.* **Microbiologia Médica**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 604 p.

NELSON, R.W.; COUTO, C.G. **Medicina Interna de Pequenos Animais**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001, 1084 p.

NICHOLS, G.; THOM, B.T. **Screening for Cryptosporidium in stools**. Lancet. 1984. 735 p.

NOLAN, T.J.; SMITH, G. Time series analysis of the prevalence of endoparasitic infections in cats and dogs presented to a veterinary teaching hospital. **Veterinary Parasitology**, v. 50, p. 87-96, 1995.

OLIVEIRA-SEQUEIRA, T.C.G., AMARANTE, A.F.T. Prevalence of Intestinal parasites in Dogs from São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 103, p. 19-27, 2001.

OLSON, M.E. **A Giardiase e o uso da Vacinação para o Controle da Infecção**. [S.l.: s.n], [2000?].

OLSON, M.E.; CERI, H.; MORK, D.W. *Giardia* Vaccination. **Parasitology Today**, v. 16, n. 5, p. 213-217, 2000.

QUADROS, R.M. **Ocorrência de *Cryptosporidium* spp (Tyzzer, 1907) detectada pelo método de imunofluorescência através da técnica de coloração da auramina em propriedades rurais do município de Lages (SC), Brasil**. Porto Alegre – RS. 66 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002.

REY, Luis. **Parasitologia**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. 731 p.

ROBERTSON, I.D. *et al.* The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 1369-1377, 2000.

ROSEZ, K.V., ALVES, F.A.R., BLEICH, I.M. *Giardia*: uma infecção global. **Revista Nosso Clínico**, n. 26, p. 30-34, mar./abr. 2002.

SCHLÜSCHE, A. *et al.* Eficácia do Febantel e do Pamoato de Pirantel (Drontal® Puppy) sobre as Infecções com *Giardia* em Cães e Camundongos: Um Estudo Citológico (EMT, EMV) e Terapêutico. In: **Giardia**: informativo técnico, [s.l.]: Bayer, [2000]. p. 13-16.

SMITH, R.D. **Veterinary Clinical Epidemiology, a problem-oriented approach**. 2.ed. CCR Press, 1995. 279 p.

SHERDING, R.G.; JOHNSON, S.E. Doenças dos Intestinos. In: BIRCHARD, Stephen J.; SHERDING, Robert G. **Manual Saunders: Clínica de Pequenos Animais**. São Paulo: Roca, 1998. p. 771-803.

SOGAYAR, R. Giardiase. In: FERREIRA, A.W., ÁVILA, S.L. M. **Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infeciosas e Auto-Imunes**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2001. cap 23. p. 250-254.

SOGAYAR, M.I.T.L.; GUIMARÃES, S. *Giardia lamblia*. In: NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 10.ed. São Paulo: Atheneu, 2000. cap. 14, p. 107-113.

SPAIN, C.V. *et al.* Prevalence of enteric zoonotic agents in cats less than 1 year old in central New York State. **Journal Veterinary International Medicine**. v. 15, p. 33-38, 2001.

STROMBECK, D.R.; GULLFORD, R. **Small Animal Gastroenterology**. 2.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1991.

TABOADA, J.; MERCHANT, S.R. Infecções por protozoários e por outras causas. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária**. 4.ed. São Paulo: Manole, 1997. v. 1, cap. 68, p. 554-572.

THOMAN, M. *et al.* Secondary Immunodeficiency in Dogs with Enteric, Dermatologic, Infectious or Parasitic Diseases. **Journal Veterinary Medicine**, v. 45, p. 321-334, 1998.

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

THOMPSON, A.R.C.; HOPKINS, R.M.; HOMAN, W.L. Nomenclature and Genetic Groupings of *Giardia* Infecting Mammals. **Parasitology Today**, v. 16, n. 5, p. 210-217, 2000.

THRUSFIELD, M. **Veterinary epidemiology**. Great Britain: Butterworth, 1986. 483 p.

URQUHART, G.M. *et al.* **Parasitologia Veterinária**. 2.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 273 p.

VILLENEUVE, V.; BEUGNET, F.; BOURDOISEAU, G. Efficacy of oxfendazole for treatment of giardiose in dogs. Experiments in dog breeding kennels. **Parasite**, v. 7, p. 221-226, sep. 2000.

ZAJAC, A.M *et al.* Efficacy of fenbendazole in the treatment of experimental *Giardia* infection in dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 59, p. 61-63, 1998.

ANEXO 1

CÁLCULO DA PORCENTAGEM DE CONCORDÂNCIA

TÉCNICAS			
FAUST	AURAMINA		
	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
POSITIVO	a	b	a + b
NEGATIVO	c	d	c + d
TOTAL	a + c	b + d	a + b + c + d

Concordantes positivos = a

Concordantes negativos = d

Não concordantes = b + d, sendo b falsos negativos e d falsos positivos

$$\text{Índice de co-positividade} = \frac{a}{a + b}$$

$$\text{Índice de co-negatividade} = \frac{d}{c + d}$$

$$\% \text{ de concordância} = \frac{a + d}{a + b + c + d}$$

a + b + c = total de soros testados que foram positivos em ambos os testes, ou ao menos em um dos testes

ANEXO II

CÁLCULO DO ÍNDICE KAPPA

Retirado de SMITH (1995), página 150.

	POSITIVO	NEGATIVO
POSITIVO	a	b
NEGATIVO	c	d

$$\text{Concordância observada} = \frac{a + d}{a + b + c + d} = \frac{(\text{observação a}) + (\text{observação d})}{a + b + c + d} = \text{_____} \%$$

$$\text{Probabilidade de concordância para a célula a} = \frac{(a + b) \times (a + c)}{a + b + c + d} = \text{_____}$$

$$\text{Probabilidade de concordância para a célula b} = \frac{(c + d) \times (b + d)}{a + b + c + d} = \text{_____}$$

$$\text{Probabilidade de concordância completa} = \frac{(\text{probabilidade a}) + (\text{probabilidade b})}{a + b + c + d} = \text{_____} \%$$

$$\text{Kappa} = \frac{\text{Concordância observada} - \text{Probabilidade de concordância completa}}{100\% - \text{Probabilidade de concordância completa}} = \text{_____}$$

Resultados:

0.0 = rara probabilidade de concordância

0.0 – 0.2 = fraca

0.2 – 0.4 = regular

0.4 – 0.6 = moderada

0.6 – 0.8 = substancial

0.8 – 1.0 = concordância quase perfeita entre os testes

+ 1.0 = concordância perfeita