



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

GIARDIOSE: REALIDADE EM PORTUGAL E NO MUNDO

Trabalho submetido por
Cátia Sofia Marques Santos costa
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Trabalho orientado por
Doutora Maria Guilhermina Martins Moutinho

Novembro de 2013

Dedicatória

Dedico este trabalho e todo o empenho ao longo destes 5 anos aos meus pais, Mário Costa e Cecília Costa, ao meu irmão, Mário André, à minha avó Rosa e por último e não menos importante, ao meu namorado Nuno Gomes, por todo o apoio incondicional.

Resumo

Giardia lamblia é um dos parasitas intestinais mais comuns nos humanos, sendo uma importante causa de diarreia nas crianças e nos adultos em todo o mundo. Atualmente estão definidos sete genótipos da *G. lamblia* (A a G). Os genótipos A e B são os mais encontrados nos seres humanos e considerados genótipos zoonóticos. O genótipo B é mais frequentemente encontrado nos seres humanos, enquanto que o genótipo A é mais frequentemente encontrado nos animais. A prevalência da *G. lamblia* é cerca de 2-3% nos países desenvolvidos, e 20-30% nos países em desenvolvimento. As manifestações clínicas da infeção por *G. lamblia* são muito variáveis e, vão desde infeção assintomática a infeção sintomática aguda ou crónica com diarreia, acompanhada ou não de síndrome de desidratação, malabsorção intestinal e perda de peso. A relação entre as manifestações clínicas e os diferentes genótipos de *G. lamblia* é ainda incerta. Em Portugal são escassos os estudos desenvolvidos, no entanto já foram realizados levantamentos epidemiológicos pontuais que sugeriram uma elevada frequência de *G. lamblia*, que varia de 4 a 28% afetando principalmente a população infantil. Os fármacos de eleição para o tratamento da giardiose são o metronidazol e albendazol, sendo que ambos são comercializados em Portugal. De uma maneira geral, a prevenção inclui medidas sanitárias, educativas e de controlo da infeção de animais domésticos.

Palavras-chave: genótipo, *G. lamblia*, infeção, diarreia

Abstract

Giardia lamblia is one of the most common intestinal parasites in humans and is a major cause of diarrhea in children and adults worldwide. Currently there are seven defined assemblages of *G. lamblia* (A to G). Assemblages A and B are the most frequent in humans and are considered as zoonotic assemblages. The assemblage B is more frequently found in humans, while assemblage A is more often found in animals. The prevalence of *G. lamblia* is around 2-3% in developed countries and 20-30% in developing countries. The clinical manifestations of infection by *G. lamblia* are highly variable and vary from asymptomatic infection to acute or chronic symptomatic infection with diarrhea which can be followed with dehydration syndrome, intestinal malabsorption and weight loss. The link between clinical manifestations and different genotypes of *G. lamblia* is still uncertain. In Portugal there are few developed studies, however there already are epidemiological studies that suggest a high frequency of *G. lamblia*, which varies from 4% to 28% mainly affecting the pediatric population. The drugs of choice for the treatment of giardiasis are albendazole and metronidazole, both of which are commercialized in Portugal. In general, prevention measures include sanitary measures, educational and control of infection in domestic animals.

Keywords: assemblage, *G. lamblia*, infection, diarrhea

Índice

Resumo.....	5
Abstract	7
Índice.....	8
Índice de Figuras.....	10
Índice de Tabelas	11
Índice de gráficos	13
Lista de abreviaturas e siglas.....	14
1. Breve referência à evolução histórica do género <i>Giardia</i>	15
2. O parasita.....	17
2.1 Taxonomia e Morfologia da <i>Giardia lamblia</i>	17
2.2 Ciclo de vida e Patogénese	18
2.3 Espécies de <i>Giardia</i>	20
2.4 Genótipos da <i>Giardia lamblia</i>	22
3. Doença: Giardiose.....	25
3.1 Vias de transmissão e Fatores de risco	25
3.2 Manifestações clínicas.....	26
3.3 Consequências e complicações da giardiose.....	28
3.4 Métodos de diagnóstico laboratorial.....	30
3.5 Tratamento	32
3.6 Profilaxia e controlo	34
4. Importância de <i>Giardia</i> em Saúde Pública	37
5. Ocorrência da infeção por <i>Giardia</i> nos humanos.....	39
5.1 Epidemiologia	39
5.1.1 Distribuição por género e faixa etária.....	42
5.1.2 Sazonalidade	44
5.1.3 Indivíduos imunodeprimidos.....	46
6. Distribuição geográfica dos genótipos A e B.....	47
7. Relação dos genótipos A e B com os humanos e animais	55
8. Genótipos <i>versus</i> virulência e manifestações clínicas.....	57
9. Ocorrência da <i>Giardia</i> na água e nos alimentos	61
10. Realidade em Portugal.....	65
10.1 Caracterização genética de <i>Giardia lamblia</i> de origem humana em Portugal	66

10.2	Situação da prevalência em amostras de água	69
10.3	Epidemiologia nos animais em Portugal	70
11.	Conclusão	73
12.	Bibliografia	75

Índice de Figuras

Figura 1 Forma de resistência ou quisto	17
Figura 2 a) Morfologia do trofozoíto ou forma vegetativa de <i>G. lamblia</i> , com o disco suctorial, núcleos, corpos medianos e quatro pares de flagelos; b) imagem ao microscópio amplificação 1000x	18
Figura 3 Ciclo de vida passo a passo	20

Índice de Tabelas

Tabela 1 Espécies pertencentes ao género <i>Giardia</i>	21
Tabela 2 Hospedeiros dos genótipos A e B	23
Tabela 3 Frequência dos sintomas	27
Tabela 4 Fármacos e doses utilizados no tratamento de infeções por <i>G. lamblia</i>	33
Tabela 5 Prevalência da <i>G. lamblia</i> nos indivíduos infetados pelo VIH	46
Tabela 6 Distribuição geográfica dos genótipos A e B na Europa	49
Tabela 7 Distribuição geográfica dos genótipos A e B na Ásia ocidental	50
Tabela 8 Distribuição geográfica dos genótipos A e B na Ásia	51
Tabela 9 Distribuição geográfica dos genótipos A e B em África	52
Tabela 10 Distribuição geográfica dos genótipos A e B na América do Norte	53
Tabela 11 Distribuição geográfica dos genótipos A e B na América do Sul	53
Tabela 12 Distribuição geográfica dos genótipos A e B na Austrália e Nova Zelândia ..	54
Tabela 13 Sub-genótipos do genótipo A nos humanos	55
Tabela 14 Sub-genótipos do genótipo A nos animais	56
Tabela 15 Sintomas dos genótipos A e B	58
Tabela 16 Quadro resumo dos genótipos associados à gravidade da diarreia e a outras manifestações clínicas	59
Tabela 17 Alguns surtos de origem alimentar documentados	63
Tabela 18 Quadro resumo	65
Tabela 19 Quadro resumo dos estudos posteriormente publicados	65
Tabela 20 Caracterização genética de <i>G. lamblia</i> por dois métodos moleculares	66
Tabela 21 Prevalência da infeção por <i>G. lamblia</i> em crianças assintomáticas ..	67

Tabela 22 Distribuição da prevalência por faixa etária e género	68
Tabela 23 Prevalência da infeção por <i>G.lambli</i> a usando o método ELISA e pelo exame direto das fezes	68
Tabela 24 Resultado da genotipagem das amostras positivas para quistos de <i>Giardia</i> ..	70

Índice de gráficos

Gráfico 1 Incidência da giardiose ao longo dos anos nos Estados Unidos (1993-2009)	40
Gráfico 2 Número total de casos da giardiose na Roménia entre 2006 e 2009.....	41
Gráfico 3 Percentagem de incidência da giardiose na Roménia entre 2006 e 2009.....	41
Gráfico 4 Distribuição da giardiose por faixa etária e género na Europa em 2008.....	42
Gráfico 5 Distribuição por faixa etária e género na Europa em 2009	43
Gráfico 6 Distribuição por género nos Estados Unidos em 2009-2010.....	44
Gráfico 7 Distribuição sazonal média do número de casos de giardiose para o ano de 2009, comparativamente aos valores mínimos e máximos para o período de 2006 e 2009.....	45
Gráfico 8 Sazonalidade da giardiose nos EUA durante o período de 2009-2010.....	45

Lista de abreviaturas e siglas

G. lamblia – *Giardia lamblia*

gdh – gene que codifica para glutamato desidrogenase

OMS – Organização Mundial de Saúde

Tpi – gene que codifina para a triose fosfato isomerase

µm – micrómetro

VIH – vírus da imunodeficiência humana

% - percentagem

1. Breve referência à evolução histórica do género *Giardia*

Os trofozoítos do género *Giardia* foram descritos pela primeira vez em 1681 por um fabricante de microscópios holandês Antony van Leeuwenhoek (1632-1723), quando examinou as suas próprias fezes diarreicas ao microscópio (Adam, 2001; Wolfe, 1992). Em 1859, cerca de 200 anos depois, este organismo foi observado mais detalhadamente em fezes diarreicas de uma criança em Praga, por Vilem Duszán Lambl (1824-1895), que julgando que pertencesse ao género *Cercomonas*, o designou de *Cercomonas intestinalis* (Adam, 2001; Ford, 2005). Posteriormente, em 1882, o género *Giardia* foi estabelecido por Kunstler ao observar a presença de um flagelado no intestino de girinos, denominando-o de *Giardia agilis* (Adam, 2001). Raphael Anatole Émile Blanchard em 1888, deu o nome de *Lambliia intestinalis* ao género em homenagem a Lambl (Adam, 2001; Faubert, 2000; Ford, 2005). Em 1914, Alexeieff juntou o termo *Lambliia* de Blanchard publicado em 1888 com o termo *Giardia* de Kunstler publicado em 1882, que foi aceite pela maioria dos pesquisadores (Monis, Caccio, & Thompson, 2009). Em 1952, Felice publicou uma descrição morfológica mais detalhada de *Giardia* e propôs a existência de 3 espécies que se diferenciam com base na morfologia: *Giardia duodenalis*, *Giardia muris* e *Giardia agilis* (Adam, 2001). Atualmente, são conhecidas seis espécies de *Giardia*.

Em 1981, a Organização Mundial de Saúde (OMS) acrescentou finalmente o género *Giardia* (G.) à sua lista de parasitas patogénicos. Hoje, os organismos que infetam os seres humanos são conhecidos como *G. lamblia*, *G. intestinalis* ou *G. duodenalis* (Adam, 2001; Ford, 2005).

2. O parasita

2.1 Taxonomia e Morfologia da *Giardia lamblia*

Tendo em conta as características morfológicas, *G. lamblia* foi classificada no reino protista, filo Sarcocystophora, subfilo Mastigophora, classe Zoomastigophora, ordem Diplomonadida, e família Hexamitidae (R. C. A. Thompson, 2004)..

Parasitas do género *Giardia* têm um ciclo de via simples e direto (Faubert, 2000; Xiao & Fayer, 2008), apresentando duas formas evolutivas que alternam entre si: o quisto e o trofozoíto.

Os quistos são estruturas resistentes ao meio ambiente extremo e podem ser transmitidos diretamente aos hospedeiros ou indiretamente através da contaminação de alimentos e água (R. C. A. Thompson, 2004). A giardiose é a doença mais frequentemente transmitida pela água, sendo esta um importante veículo de transmissão da doença para as pessoas e animais (R. C. A. Thompson, 2004). Os quistos contêm 4 núcleos, e medem aproximadamente 5 por 7 a 10 μm de diâmetro (Adam, 2001). São cobertos por uma parede com 0,2 a 0,5 μm de espessura e constituídos por uma camada exterior filamentosa e uma camada interior membranosa com duas membranas (Adam, 2001) (Figura 1).

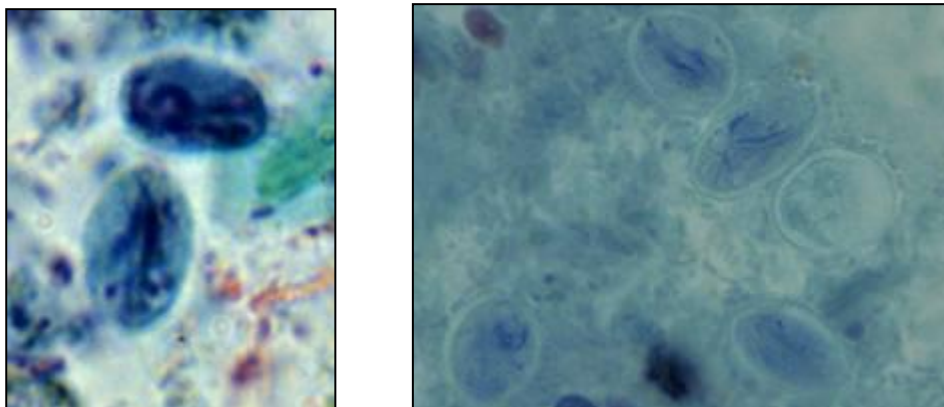


Figura 1 Forma de resistência ou quisto (Adam, 2001)

O trofozoíto é a forma vegetativa ou o parasita propriamente dito que se instala no intestino delgado do hospedeiro e causa giardiose. O trofozoíto mede aproximadamente 12 a 15µm de comprimento por 5 a 9µm de largura (Adam, 2001; Faubert, 2000). É a forma móvel do parasita, binucleado com formato piriforme (forma de pera), simetria bilateral, com superfície dorsal convexa e com um disco suatorial com o qual se fixa às microvilosidades intestinais do hospedeiro (R. C. A. Thompson, 2004; Wolfe, 1992). A superfície dorsal tem aparentemente uma área de difusão de nutrientes (Wolfe, 1992). O citoesqueleto do trofozoíto, têm 4 pares de flagelos (2 anteriores, 2 posteriores, 2 caudais e 2 ventrais) e um disco suatorial (figura 2 a e b).

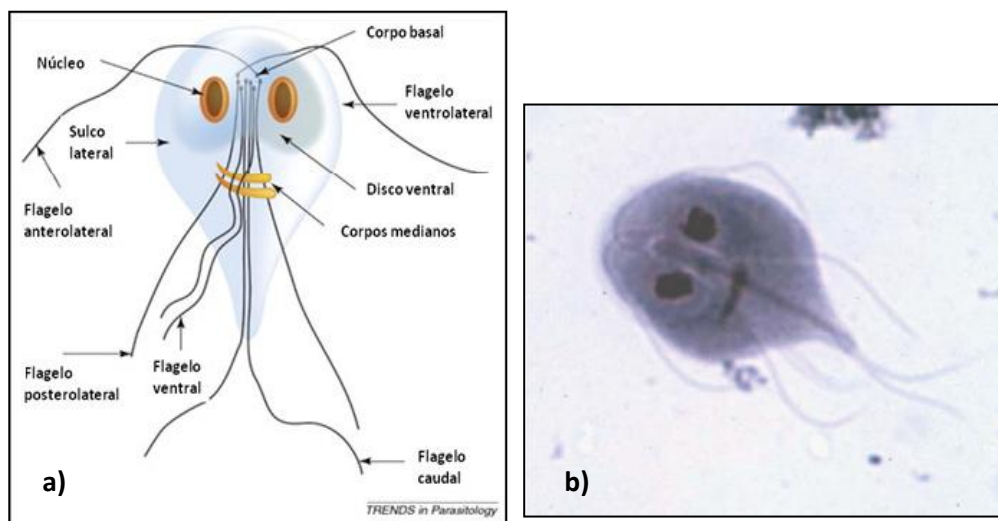


Figura 2 a) Morfologia do trofozoíto ou forma vegetativa de *G. lamblia*, com o disco suatorial, núcleos, corpos medianos e quatro pares de flagelos (fonte da imagem Monis *et al.*, 2009); b) imagem ao microscópio amplificação 1000x (fonte da imagem Ford, 2005).

2.2 Ciclo de vida e Patogénese

Os parasitas do género *Giardia* têm um ciclo de vida simples e direto (figura 3). Os quistos excretados nas fezes são resistentes e são capazes de permanecer infecciosos durante 3 meses em condições extremas de pH e temperatura, num ambiente húmido e frio, ou em água a 4°C (Faubert, 2000; Xiao & Fayer, 2008).

O inóculo necessário para infetar os seres humanos situa-se entre os 10-100 quistos (Faubert, 2000). O período de incubação é de 3-25 dias (média 7-10 dias) (Almerie *et al.*, 2008).

Após a ingestão dos quistos por parte do hospedeiro ocorre o desenquistamento dos mesmos na parte superior do intestino delgado, de onde emerge o exizoíto que se diferencia rapidamente em dois trofozoítos (Roxström-Lindquist, Palm, Reiner, Ringqvist, & Svärd, 2006a). O exizoíto é curto e oval, tem oito flagelos e 4 núcleos tendo um metabolismo intermediário entre o quisto e o trofozoíto (Roxström-Lindquist *et al.*, 2006).

O processo de desenquistamento é iniciado no estômago, onde os quistos são expostos ao pH ácido. O baixo pH do estômago e as protéases pancreáticas encontradas no intestino delgado promovem a desenquistação rápida dos trofozoítos que completam a divisão mitótica no duodeno e jejuno (Hawrelak, 2003; Xiao & Fayer, 2008). Os trofozoítos dividem-se por divisão binária no lúmen intestinal, e colonizam o intestino delgado ligando-se à superfície das microvilosidades intestinais por meio do disco suatorial ventral (Roxström-Lindquist *et al.*, 2006; Xiao & Fayer, 2008). Os sinais e sintomas geralmente começam dentro de 6 a 15 dias após o contacto com o organismo (Hawrelak, 2003)

Os trofozoítos recebem depois sinais na parte inferior do intestino delgado, onde sofrem o processo de enquistamento sendo posteriormente excretados nas fezes como quistos infeciosos. O disco suatorial e os flagelos são ‘desmontados’ durante o enquistamento sendo armazenados como fragmentos no quisto (Roxström-Lindquist *et al.*, 2006).

Durante a infeção os trofozoítos colonizam o intestino delgado e aderem à superfície do enterócito, sendo que esta associação inicia uma série de processos patofisiológicos que conduzem a danos nas microvilosidades epiteliais (Chin *et al.*, 2002; Hawrelak, 2003). Os mecanismos patogénicos incluem irritação direta da mucosa pela aderência dos trofozoítos e envolvem resposta imune humoral e celular por parte do hospedeiro (Noyer & Brandt, 1999). A redução da área de absorção do intestino causa défice de dissacaridases e má absorção de nutrientes, água e eletrólitos (Chin *et al.*, 2002). A perda de dissacaridases conduz à intolerância à lactose em 20 a 40% dos casos (Noyer & Brandt, 1999).

A rápida multiplicação dos trofozoítos cria uma barreira física entre os enterócitos e o lúmen intestinal, interferindo ainda mais com a absorção dos nutrientes

(Hawrelak, 2003). Este processo conduz a danos do enterócito, atrofia das microvilosidades, hiperplasia das criptas, hiperpermeabilidade intestinal e danos na borda em escova que provocam uma redução na secreção de dissacaridases. A presença de substâncias citopáticas como glicoproteínas, proteases e lecitinas também podem causar danos diretos na mucosa intestinal. Os trofozoítos não penetram no epitélio, nem invadem a corrente sanguínea, e sendo assim a infeção está geralmente restrita ao lúmen intestinal (Hawrelak, 2003). Embora já tenham sido encontrados casos de invasão na biliar e na vesícula biliar (Noyer & Brandt, 1999).

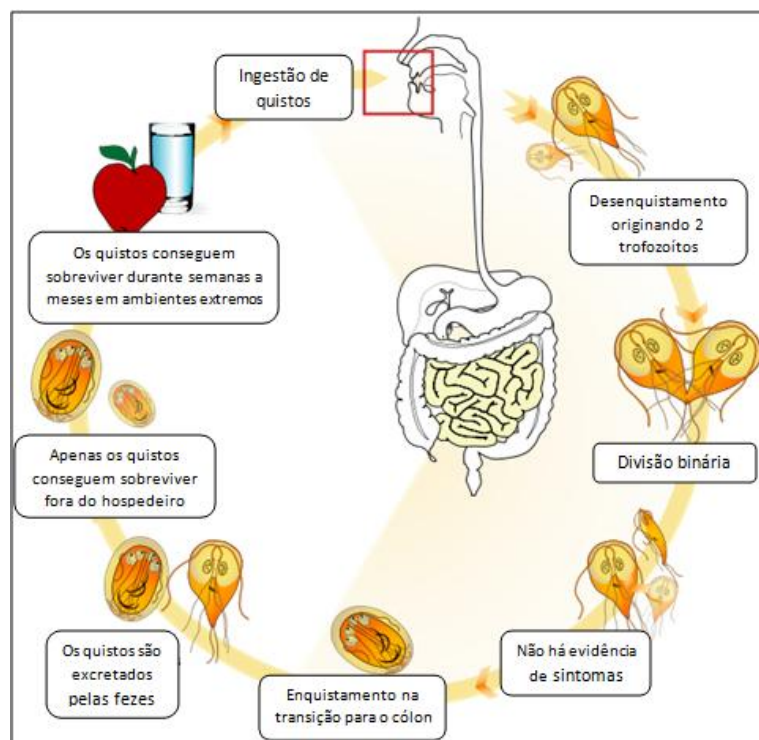


Figura 3 Ciclo de vida passo a passo (fonte <http://dc348.4shared.com/doc/uwnsbD-1/preview.html>)

2.3 Espécies de *Giardia*

Em 1980 e 1990 foram desenvolvidos métodos moleculares que permitiram identificar uma diversidade de espécies e subgenótipos de *Giardia* (Breathnach, McHugh, & Butcher, 2010; Ongerth, 2013). A maioria das 50 espécies de *Giardia*, foram descritas entre 1920 e 1930 (R. C. A. Thompson, 2004). A taxonomia de *Giardia* foi revista e atualmente 6 espécies são aceites pela maioria dos investigadores (Feng & Xiao, 2011).

A comunidade científica aceita a existência de 6 espécies diferentes de *Giardia*, caracterizadas por diferentes morfologias dos trofozoítos e hospedeiros específicos (tabela 1) (Smith, Cacciò, Cook, Nichols, & Tait, 2007). As seguintes designações *G. lamblia*, *G. duodenalis* e *G. intestinalis* são sinónimos e por isso referem-se ao mesmo organismo.

Tabela 1 Espécies pertencentes ao género *Giardia* (adaptado de (Monis *et al.*, 2009; R. C. A. Thompson, 2004)

Espécies	Hospedeiros	Características morfológicas	Dimensões do trofozoíto	
			Comprimento	Largura
<i>G. lamblia</i>	Mamíferos selvagens e domésticos, incluindo Homem	Trofozoíto em forma de pera com corpos medianos em forma de gancho	12-15µm	6-8µm
<i>G. agilis</i>	Anfíbios	Trofozoíto longo e estreito com corpos medianos em forma de gota alongada	20-30 µm	4-5 µm
<i>G. muris</i>	Roedores	Trofozoíto arredondado com pequenos corpos redondos médios	9-12 µm	5-7 µm
<i>G. ardeae</i>	Pássaros	Trofozoítos arredondado com disco ventral saliente e com flagelo caudal rudimentar. Corpos medianos ovais e em forma de garra	~10 µm	~6,5 µm
<i>G. psittaci</i>	Pássaros	Trofozoíto em forma de pera sem o flagelo ventro-lateral. Corpos medianos em forma de garra.	~14 µm	~6 µm
<i>G. microti</i>	Roedores	Trofozoíto semelhante à <i>G. lamblia</i> . Os quistos contêm trofozoítos totalmente diferenciados.	12-15 µm	6-8 µm

2.4 Genótipos da *Giardia lamblia*

G. lamblia é considerada um complexo de múltiplas espécies (Cacciò & Sprong, 2010; Feng & Xiao, 2011), cujos membros apresentam pouca variação na sua morfologia (Cacciò & Sprong, 2010). Os genótipos de *G. lamblia* são identificados com base na análise genética do *loci* conservado (Xiao & Fayer, 2008). São diferenciados pelos genes como o glutamato desidrogenase (gdh), isomerase triosefosfato (*tpi*) e β -giardina (bg) (Plutzer, Ongerth, & Karanis, 2010). Estas diferenças são a causa da heterogeneidade (Plutzer *et al.*, 2010). Atualmente estão definidos 7 genótipos da *G. lamblia*, de A a G, geneticamente distintos embora morfologicamente idênticos, que infetam animais domésticos, gado, animais selvagens bem como seres humanos (Paoletti *et al.*, 2011; Xiao & Fayer, 2008).

Atualmente existem dois grupos genéticos principais e distintos que são conhecidos por infetarem os seres humanos, os genótipos A e B (Breathnach *et al.*, 2010; Mahdy *et al.*, 2009). No entanto, também têm sido detetados em vários mamíferos, sendo considerados genótipos zoonóticos (Breathnach *et al.*, 2010) (Tabela 2).

O genótipo A consiste de isolados que podem ser agrupados em dois sub-grupos distintos (AI e AII). O sub-genótipo AI consiste numa mistura de animais estreitamente relacionados e isolados de humanos que estão geograficamente dispersos, sendo que a possibilidade de transmissão zoonótica tem-se centrado neste sub-grupo (Sousa, Morais, Machado, & Poiars-da-Silva, 2006; R. C. A. Thompson, 2004). Em contraste, o sub-genótipo AII consiste inteiramente de isolados humanos (R. C. A. Thompson, 2004). O genótipo B também está dividido em dois sub-grupos, BIII e BIV (Breathnach *et al.*, 2010). Este genótipo B compreende um grupo geneticamente diversificado de genótipos isolados principalmente a partir de seres humanos e de algumas outras espécies de mamíferos, mas curiosamente, nenhum foi isolado a partir de animais (Sousa *et al.*, 2006). O sub-genótipo BIV parece ser específico para os humanos (R. C. A. Thompson, 2004). O nível de diversidade genética do genótipo B é maior do que o genótipo A, em que muitos dos genótipos requerem hospedeiros específicos como por exemplo, chinchilas, primatas do género *Nycticebus* (vulgarmente conhecido por lóris lentos) e do género de *Gibão* (R. C. Thompson, 2000)

Os outros grupos de genótipos são mais específicos do hospedeiro e são raramente ou nunca encontrados em seres humanos, sendo que os grupos C e D infetam cães coiotes e lobos, o grupo E infeta o gados/animais domésticos criados em ambiente agrícola (bovinos, ovinos, porcos, búfalos e muflões), F para gatos e G para roedores/ratos (Breathnach *et al.*, 2010; Paoletti *et al.*, 2011; R. C. A. Thompson, 2004; Yang, Lee, Ng, & Ryan, 2010).

Tabela 2 Hospedeiros dos genótipos A e B (Fonte adaptada R. C. A. Thompson, 2004; R. C. Thompson, 2000)

Nome	Genótipo	Hospedeiro
<i>Giardia lamblia</i>	Zoonótico / Genótipo A	Humanos, cães, gatos, animais domésticos, ovelhas, veado, roedores, castor, porcos da Índia, loris lentos
	Zoonótico / Genótipo B	Humanos, primatas, cães, gado, cavalos, castor, chinchilas, siamang, lóris lentos
	Cão / Genótipo C	Cães, coiotes e lobos
	Cão / Genótipo D	Cães
	Animais domésticos e produção / Genótipo E	Gado, cabritos, ovelhas, porcos
	Gato / Genótipo F	Gatos
	Rato / Genótipo G	Roedores

A prevalência dos genótipos A e B variam consideravelmente de país para país, embora o genótipo B pareça ser mais comum (Yang *et al.*, 2010). Estes genótipos expressam diferentes proteínas de superfície, podendo conduzir a diferenças na capacidade do MO se espalhar e causar doença e diferentes sintomas clínicos (Breathnach *et al.*, 2010).

3. Doença: Giardiose

G. lamblia é um protozoário entérico responsável pela enteropatia parasitária conhecida como giardiose, que habita na parte superior do intestino delgado (Faubert, 2000; Xiao & Fayer, 2008). É um parasita flagelado, que pode estar presente no trato intestinal dos humanos e de vários mamíferos no mundo inteiro (R. C. A. Thompson, 2004).

É uma doença que está predominantemente associada aos países em desenvolvimento, onde as infraestruturas de higiene estão comprometidas havendo um aumento da transmissão (Robertson *et al.*, 2010).

3.1 Vias de transmissão e Fatores de risco

A infecção de novos hospedeiros ocorre geralmente pela ingestão de quistos viáveis de *G. lamblia*. A principal via de transmissão da giardiose é fecal-oral (Roxström-Lindquist *et al.*, 2006), sobretudo devido à ingestão de quistos viáveis presentes nas fezes de pessoas ou animais infetados que contaminaram a água e alimentos (Faubert, 2000; Wolfe, 1992; Xiao & Fayer, 2008). A infecção pode ocorrer também através do contato direto com pessoas infetadas sobretudo de instituições coletivas como creches, orfanatos ou quando as condições de higiene são deficientes, (Lucy J. Robertson *et al.*, 2010). A transmissão ao Homem pelo contato com os animais também é possível, implicando que os animais domésticos ou gado sejam portadores contaminando por exemplo os reservatórios de água (Faubert, 2000; Lucy J. Robertson *et al.*, 2010; Wolfe, 1992; Xiao & Fayer, 2008). A transmissão através do ambiente também é possível, quer seja pelo ar (Snel *et al.*, 2009), pelas piscinas ou pelos alimentos contaminados com a água que os prepara (Plutzer *et al.*, 2010; Smith *et al.*, 2007).

As pessoas do sexo masculino, homossexuais e crianças em creches são os que têm maior risco de infecção, sendo que os pacientes com imunodeficiência variável comum e crianças com agamaglobulinemia ligada ao X estão predispostos a infecções recorrentes (Noyer & Brandt, 1999).

A idade parece ser um fator de risco para a suscetibilidade à giardiose, uma vez que a infecção é mais comum em crianças com menos de 5 anos de idade, sendo no

entanto rara em crianças com idade inferior a seis meses, principalmente alimentadas com leite materno (Castro, 2001; Lucy J. Robertson *et al.*, 2010).

Outros fatores de risco para contrair infecção por *G. lamblia* são: consumo de água não tratada ou inadequadamente tratada; ingestão de água contaminada de piscinas ou de outras atividades aquáticas; viajar para áreas endêmicas; estar próximo de pessoas infetadas, o qual é promovido em instituições fechadas como infantários, orfanatos e hospitais; condições de higiene precárias; contato com os animais infetados e ainda contato sexual oral-anal e oral-genital (Ce, Reveiz, Lg, & Cp, 2012; EPA, 1999).

3.2 Manifestações clínicas

As infecções humanas por *Giardia* ocorrem geralmente na infância, idosos e imunodeprimidos (Paoletti *et al.*, 2011). As manifestações clínicas da infecção por parasitas de *G. lamblia* num indivíduo saudável são muito variáveis (Ignatius *et al.*, 2012), que vai desde infecção assintomática, passando pela infecção sintomática com diarreia aguda autolimitada (três a quatro dias) ou com diarreia crónica (meses a anos), associada ou não a perda de peso, síndrome de malabsorção e desidratação (Adam, 2001; Almirrall *et al.*, 2013; Ignatius *et al.*, 2012; Lucy J. Robertson *et al.*, 2010; Wolfe, 1992).

A maioria dos indivíduos infetados (60-80%) tem poucos sintomas (Abou-Shady *et al.*, 2011). Os sintomas variam com a idade e com o estado do sistema imunitário, sendo que as infecções sintomáticas ocorrem mais frequentemente nas crianças que nos adultos, porque as crianças têm um sistema imunitário mais imaturo sendo mais susceptíveis a ter infecções recorrentes. Os sintomas desenvolvem-se em quase 40-80% das crianças infetadas. (Abou-Shady *et al.*, 2011; Karakas *et al.*, 2001).

O período de incubação da giardiose em pessoas com infecção sintomática é de uma a três semanas. A giardiose é geralmente considerada uma doença autolimitada em mais de 85% dos casos (Almirrall *et al.*, 2013; Eckmann, 2003; Feng & Xiao, 2011). Uma vez infetado, os sintomas começam 7-10 dias após infecção (fase aguda da infecção) (Almirrall *et al.*, 2013; Eckmann, 2003). A diarreia é o principal sintoma, acompanhado de dores abdominais, náuseas, vômitos, flatulência, cefaleias, pirexia, fezes fétidas com quantidades excessivas de gordura e muco (esteatorreia) (tabela 3). Num indivíduo

saudável, os sintomas da fase aguda desaparecem em poucos dias (2 a 4 dias) sendo a infeção resolvida em 2-3 semanas (Almirrall *et al.*, 2013; Eckmann, 2003).

Contudo, cerca de 5-15% dos casos sintomáticos evoluem para fase crónica da doença, apresentando uma sintomatologia, recorrente, mais grave com diarreia profusa e persistente, cólicas abdominais, malabsorção, rápida perda de peso (10-20% do peso inicial), anorexia e desidratação (Almirrall *et al.*, 2013; Eckmann, 2003; Hanevik *et al.*, 2009; Roxström-Lindquist *et al.*, 2006).

A natureza das manifestações clínicas depende de uma série de fatores incluindo a interação entre o parasita e o hospedeiro, virulência do parasita, a carga parasitária, taxa de multiplicação, duração da infeção, estado nutricional, idade e a resposta imunitária do hospedeiro (Al-mohammed, 2011).

No entanto, alguns hospedeiros principalmente as crianças, podem desenvolver sintomas mais complexos após infeção. A principal complicação é a insuficiência nutricional, que nos adultos pode produzir uma variedade de deficiências em macro e micro nutrientes em geral sem grandes sequelas, desde que a infeção seja tratada, contudo nas crianças pode ter consequências mais graves comprometendo o crescimento e desenvolvimento (Almirrall *et al.*, 2013; Faubert, 2000; Feng & Xiao, 2011; Ignatius *et al.*, 2012; R. C. Thompson, 2000). Ocasionalmente, as manifestações da infeção por parasitas de *Giardia* podem ser fora do trato gastrointestinal, e incluem efeitos severos a nível da circulação (hipocaliemia), pele (prurido, urticária), desordens oculares (uveíte) e ainda défices nutricionais (Lucy J. Robertson *et al.*, 2010). Adicionalmente têm sido relatados casos de fadiga crónica (Mørch *et al.*, 2009; Lucy J. Robertson *et al.*, 2010; Wensaas *et al.*, 2012), síndrome do cólon irritável após infeção (Wensaas *et al.*, 2012) e sintomas de dispepsia (Yakoob *et al.*, 2005), perda da função cognitiva e défice no crescimento (Lucy J. Robertson *et al.*, 2010).

Tabela 3 Frequência dos sintomas (tabela adaptada Hill DR., 1993)

Sintomas	Frequência (%)
Diarreia	64-100
Indisposição, fraqueza	72-97
Distensão abdominal	42-97
Flatulência	35-97

Dor abdominal	44-81
Náuseas	14-79
Mau cheiro e fezes gordurosas	15-79
Anorexia	41-73
Perda de peso	53-73
Vómitos	14-35
Febre	0-28
Obstipação	0-27

3.3 Consequências e complicações da giardiose

Como já referido anteriormente, a giardiose nas crianças para além de causar diarreia crónica e malabsorção, também está geralmente associada a um atraso no crescimento e desenvolvimento (Abou-Shady *et al.*, 2011; Botero-Garcés *et al.*, 2009; Sullivan *et al.*, 1991).

Zinco, cobre e ferro são micronutrientes essenciais para a reprodução, crescimento e desenvolvimento. Baixos níveis séricos destes elementos podem resultar numa afeção grave da função celular, fisiológica e enzimática (Ertan *et al.*, 2002). O cobre e o zinco são cofatores da enzima superóxido dismutase. A superóxido dismutase é uma enzima capaz de eliminar radicais superóxido, catalisando a sua dismutação em oxigénio e peróxido de hidrogénio, sendo uma importante defesa antioxidante nas células expostas ao oxigénio (Demirci *et al.*, 2003). As consequências podem ser a peroxidação dos lípidos levando a danos na permeabilidade da membrana, danos no DNA levando a mutagénese, carcinogénese e apoptose celular (Demirci *et al.*, 2003)

O estudo realizado por Demirci *et al.* (2003) demonstrou que os níveis séricos de zinco e da atividade da superóxido dismutase foram significativamente menores em crianças com giardiose crónica em comparação com o grupo controlo. Yousef *et al.* em 2002 relatou que a deficiência dietética em zinco induziu um aumento da peroxidação dos lipídios no fígado, cérebro e testículos de ratos.

O estudo realizado por Abou-Shady *et al.* (2011) relatou que os níveis séricos de zinco foram significativamente reduzidos no grupo infetado por *Giardia* quando comparado ao grupo controlo. Um estudo semelhante no sudeste da Turquia realizado em crianças também relatou diminuição das concentrações de zinco e cobre devido à má

absorção na giardiose (Karakas *et al.*, 2001) sendo agravada pela diminuição da capacidade antioxidante devido ao défice de zinco e cobre (Demirci *et al.*, 2003; Ertan *et al.*, 2002)

No que respeita ao ferro Karakas *et al.* (2001) também relatou uma diminuição significativa nas crianças turcas infetadas com giardiose em comparação com o grupo controlo. Estes resultados estão em concordância com vários estudos (Abou-Shady *et al.*, 2011; Culha & Sangün, 2007; Demirci *et al.*, 2003; Ertan *et al.*, 2002), e foram explicados pela má absorção. Foi comprovado que não houve nenhuma mudança dos níveis séricos de ferro após a ingestão oral de suplementos de ferro no grupo infetado por *Giardia*.

Os baixos níveis de zinco e ferro podem ser explicados pelo facto de a *G. lamblia* produzir vários graus de lesão na mucosa o que prejudica a digestão e absorção. A multiplicação rápida dos trofozoítos pode levar à atrofia das microvilosidades e afetar a atividade das enzimas digestivas que interferem com a digestão e absorção e libertar substâncias citopáticas que danificam o epitélio intestinal (Ertan *et al.*, 2002; Hawrelak, 2003; Roxström-Lindquist *et al.*, 2006).

Em relação ao cobre, vários estudos relataram que não houve diferença significativa entre o grupo infetado pela giardiose e grupo controlo (Abou-Shady *et al.*, 2011; Demirci *et al.*, 2003; Karakas *et al.*, 2001). Apenas um autor relatou um aumento dos níveis séricos de cobre, devido aos níveis de ceruloplasmina, enzima que transporta o cobre, durante as infeções (Ertan *et al.*, 2002).

Nalguns casos, os sintomas podem persistir durante anos e resultar em esteatorreia e perda de peso significativa. A malabsorção de gorduras, açúcares bem como ácido fólico e vitaminas A, D, E, K e B12 têm sido reportadas nas crianças (Andrade *et al.*, 2010; EPA, 1999). Também pode surgir intolerância à lactose, principalmente em crianças, devido à perda da atividade enzimática na mucosa do intestino delgado (Andrade *et al.*, 2010)

A giardiose aguda também está associada a um aumento do risco de síndrome do cólon irritável e fadiga crónica passado 3 anos depois da infeção (Wensaas *et al.*, 2012). Síndrome do cólon irritável é uma doença crónica do trato gastrointestinal caracterizada por uma recorrente dor abdominal e hábitos intestinais alterados (Longstreth *et al.*, 2006). Existe uma associação entre o síndrome do cólon irritável e fadiga crónica após infeção. O sexo não é um fator de risco forte para a síndrome do cólon irritável (Longstreth *et al.*, 2006).

3.4 Métodos de diagnóstico laboratorial

A escolha de um método de diagnóstico eficaz tem sido bastante debatida ao longo dos últimos anos. A intermitência da excreção dos quistos e/ou trofozoítos é uma das principais barreiras no correto diagnóstico da giardiose, para além da sua reduzida dimensão, associada muitas vezes à falta de experiência necessária para uma correta identificação deste parasita. O diagnóstico parasitológico pode ser feito em fezes diarreicas ou em fezes formadas, sendo que nas formas diarreicas encontram-se mais trofozoítos e nas fezes formadas é usual visualizar grandes concentrações de quistos. Assim sendo, aconselha-se o exame direto das fezes diarreicas logo após a sua emissão (Chaia, 1975). As fezes devem ser conservadas em álcool polivinílico ou numa preparação de formaldeído caso não sejam imediatamente examinadas (Auerbach, 2012).

O método tradicional de diagnóstico da giardiose consiste no exame microscópico de fezes para pesquisa de quistos e/ou trofozoítos através do exame direto ou após aplicação de uma técnica de concentração (Bajer, 2008). A técnica mais utilizada é a de concentração pelo formol-éter, que pode ser usada em fezes frescas ou conservadas pelo formaldeído ou pelo álcool polivinílico. De seguida os quistos e/ou trofozoítos podem ser observados após coloração pelo tricrómio ou pela hematoxilina férrica (Auerbach, 2012).

É recomendada a recolha e análise de 3 a 5 amostras fecais recolhidas em dias alternados, ou dentro de um período máximo de 10 dias (Flanagan, 1992; Libman *et al.*, 2008; Wolfe, 1992). A recolha das fezes para pesquisa de quistos deve ser adiada por 5

a 10 dias quando o paciente está sujeito a antibióticos, enemas, antiácidos, laxantes e produtos de contraste radiológico (Flanagan, 1992; Auerbach, 2012).

As técnicas de concentração/enriquecimento têm a vantagem de detetar vários parasitas ao mesmo tempo com uma sensibilidade estimada entre 50 a 70%. Para além disso o diagnóstico da giardiose por microscopia ótica é um exame económico e simples, mas depende da experiência do microbiologista (Schuurman *et al.*, 2007).

Cerca de 85 a 90% dos casos são detetados quando três amostras de fezes são examinadas (Ce *et al.*, 2012). Uma amostra de fezes irá permitir a deteção de 60 a 80% das infeções, duas amostras de fezes irá permitir a deteção de 80 a 90%, e três amostras de fezes permitem a deteção de mais de 90% das infeções (Gardner *et al.*, 2001). Contudo, nalguns casos, é necessário analisar mais de três amostras de fezes devido ao carácter intermitente de excreção dos quistos e/ou às cargas parasitárias baixas (Gardner & Hill, 2001).

Todavia, a necessidade de haver métodos mais sensíveis e específicos, com maior rapidez e reprodutibilidade, tem levado ao desenvolvimento de imunoensaios (testes imunológicos) (Gardner & Hill, 2001). Os imunoensaios são menos demorados, mais fáceis de executar e são mais específicos e sensíveis (acima de 90%) comparativamente à análise de fezes por microscopia e para além disso podem ser utilizados em circunstâncias em que a microscopia não fornece um diagnóstico definitivo (Ce *et al.*, 2012; Lynne *et al.*, 2003). As técnicas imunológicas baseiam-se essencialmente na deteção de antigénios de *Giardia* nas amostras fecais. Podem ser pelo método de imunofluorescência direta (IFD) ou deteção do antigénio fecal por ensaio imunoenzimático (EIA) por ELISA (Ce *et al.*, 2012).

O método de imunofluorescência direta utiliza anticorpos marcados com fluoresceína contra antigénios de quistos de *Giardia* (Johnston *et al.*, 2003). Os quistos evidenciam fluorescência quando examinadas sob luz ultravioleta num microscópio de fluorescência. Este método apresenta uma alta sensibilidade (96 a 100%) e especificidade (99,8 a 100%) (Johnston *et al.*, 2003).

O ensaio imunoenzimático por ELISA tem uma especificidade entre 99 a 100% e sensibilidade que varia de 94 a 97% (Johnston *et al.*, 2003).

Nos casos em que a giardiose não pode ser confirmada pelos métodos citados, o diagnóstico pode ser feito pela análise do líquido duodenal obtido por endoscopia digestiva e/ou através da biopsia intestinal (Castro, 2001; Wolfe, 1992). Este método é realizado quando o paciente apresenta giardiose crónica em que o número de quistos eliminados pelas fezes é muito baixo e no caso em que o exame das fezes é negativo e é necessário excluir outras doenças não infecciosas (Castro, 2001). Também pode ser aplicado a indivíduos infetados pelo vírus da imunodeficiência apresentando um quadro de diarreia e cuja doença pode ter múltiplas etiologias (Gardner & Hill, 2001).

3.5 Tratamento

No sentido de atenuar os sintomas decorrentes de uma infeção por *G. lamblia*, evitando assim a evolução da doença e a sua transmissão, têm sido propostas diferentes alternativas terapêuticas que permitam o seu tratamento efetivo (Escobedo e Cimerman, 2007).

Embora ainda não existam dados concretos relativamente à melhor terapêutica a aplicar numa situação de giardiose, habitualmente os fármacos utilizados são: o metronidazol, tinidazol, secnidazol, ornidazol que pertencem ao grupo dos nitroimidazóis, a quinacrina, a furazolidona e a paromomicina. Posteriormente foram introduzidos outros fármacos como o albendazol que pertence ao grupo dos benzimidazóis e nitazoxanida (Argüello-García *et al.*, 2004; Gardner & Hill, 2001; R. C. A. Thompson, 2004). Apesar da terapia farmacológica ser eficaz, um grande número de fármacos apresenta reações adversas e contra indicações o que restringe a sua utilização (Gardner & Hill, 2001; Nash *et al.*, 2001). Para além disso, nem todos os fármacos se encontram disponíveis em todos os países, o que dificulta a implementação de um tratamento *standard* (Gardner & Hill, 2001; Nash *et al.*, 2001).

De todos os fármacos referidos, o metronidazol e o albendazol são considerados os fármacos mais prescritos. No entanto, devido à sua eficácia, biodisponibilidade, baixo custo e boa tolerância, o metronidazol é o fármaco de primeira linha no tratamento da giardiose, apesar de alguns efeitos secundários que lhe estão associados e das resistências que começam a ser conhecidas (Argüello-García *et al.*, 2004; Gardner & Hill, 2001; Nash *et al.*, 2001; Wolfe, 1992).

Na tabela seguinte (tabela 4) encontram-se descritos alguns fármacos e respetivas posologias recomendadas para o tratamento da giardiose, tanto em pediatria como em pacientes adultos (Gardner & Hill, 2001; Nash *et al.*, 2001).

Tabela 4 Fármacos e doses utilizados no tratamento de infeções por *G. lamblia* (adaptado de Gardner & Hill, 2001; Nash *et al.*, 2001)

Fármaco	Dosagem para crianças	Dosagem para adultos	Disponibilidade em Portugal
Metronidazol (Flagyl)	5 mg/kg 3x/dia durante 5-7dias	250mg 3x/dia durante 5-7dias	Comprimidos revestidos de 250mg
Albendazol (Zentel)	15mg/kg/dia durante 10 dias Máximo: 400mg	400mg/dia durante 10 dias	Comprimidos de 200mg Suspensão oral 20mg/mL com 20mL
Tinidazol (Fasigyn)	50mg/kg/dia Toma única	2g/dia Toma única	Comprimidos revestidos de 500mg
Secnidazol (Flagentyl)	25-30mg/kg/dia Toma única	2g/dia Toma única	Comprimidos revestidos de 500mg
Ornidazol	40-50mg/kg/dia Toma única Máximo: 2g	2g/dia Toma única	Indisponível
Furazolidona	2mg/kg 4x/dia durante 10 dias	100mg 4x/dia durante 7-10 dias	Indisponível
Paromomicina	30mg/kg em 3 doses, durante 5-10 dias	500mg 3x/dia durante 5-10 dias	Indisponível
Nitazoxanida	12-47 meses de idade: 100mg 2x/dia durante 3 dias 4-11 anos: 200mg 2x/dia durante 3 dias	500mg 2x/dia durante 3 dias	Indisponível
Quinacrina	2mg/kg 3x/dia durante 5-10 dias	100mg 3x/dia durante 5-7 dias	Indisponível

Em Portugal são comercializados sob a forma de administração oral, o metronidazol, albendazol, secnidazol e tinidazol, todos sob a forma de comprimidos, o que dificulta a administração em crianças. Como alternativa, os comprimidos podem ser triturados e ingeridos, mas o sabor desagradável não torna este método muito viável. Contudo, a comercialização do albendazol em suspensão oral permitiu diminuir esta limitação e melhorar adesão por parte das crianças (Gardner & Hill, 2001; Nash *et al.*, 2001; R. C. A. Thompson, 2004).

A inexistência de protocolos clinicamente estabelecidos e publicados para o tratamento desta doença, levou a Gardner & Hill (2001) compilar toda a informação importante sobre este tema. Não existindo muitas alternativas terapêuticas, e devido a uma prescrição indiscriminada de antiparasitários, são cada vez mais os casos de resistência registados (Abboud *et al.*, 2001; Argüello-García *et al.*, 2004; Nash *et al.*, 2001). Neste sentido, surge a necessidade de avaliar a sensibilidade de trofozoítos de *G. lamblia* a diferentes quimioterápicos de forma a determinar o perfil de resistências/sensibilidade desde parasita aos fármacos habitualmente prescritos (Gardner & Hill, 2001).

3.6 Profilaxia e controlo

Como já foi referido anteriormente, *G. lamblia* é transmitida mais frequentemente pela via fecal-oral, por isso os esforços de prevenção devem-se focar nessas vias de transmissão (Ortega & Adam, 1997) mas também deve-se concentrar em medidas de redução da transmissão de pessoa para pessoa (Snel *et al.*, 2009).

Nas creches, infantários e outros estabelecimentos com aumento de risco da transmissão fecal-oral de patógenos entéricos, deve ser tomado um cuidado especial (Ortega & Adam, 1997). Com base nas evidências existentes, alguns conselhos a dar são a lavagem das mãos com frequência, eliminação de fraldas sujas de forma adequada e outras medidas de higiene (Ortega & Adam, 1997; Snel *et al.*, 2009).

Fontes de água potável têm sido associados a surtos de giardiose, portanto a melhoria da qualidade da água potável através da filtração é muito eficaz para remover os quistos de *Giardia* da água e reduzir as taxas de giardiose (Ortega & Adam, 1997; Snel *et al.*, 2009). Por outro lado, a cloração é ineficaz na inativação de quistos viáveis e

não pode ser recomendado como o único tratamento da água (Ortega & Adam, 1997). Como *G. lamblia* é frequentemente encontrada em lagos e rios as pessoas devem ser advertidas para ferver ou filtrar a água antes da sua ingestão, uma vez que os quistos tornam-se rapidamente não infecciosos após ebulição (Ortega & Adam, 1997).

As infeções por *G. lamblia* estimulam a imunidade humoral, o que resulta numa infeção auto-limitativa em muitas espécies de animais. Infelizmente, pode levar meses para o hospedeiro produzir anticorpos protetores para eliminar o parasita (R. C. A. Thompson, 2004). O uso da vacina nas infeções causadas por *Giardia* induz uma resposta imune específica com uma rápida eliminação dos trofozoítos, mesmo que esteja com alto grau de contaminação, passando a ser uma forma de controlar os animais doentes e impedir a contaminação dos animais sãos (Olson, Morck, & Ceri, 1996). No entanto, a eficácia destas vacinas tem sido questionada pelos veterinários, com a maioria a considerar que possuem pouco valor terapêutico, com estudos realizados a demonstrar a incapacidade de eliminar os organismos das fezes dos animais (Mutapi, Billingsley, & Secor, 2013). Estudos realizados em vitelos não demonstraram uma capacidade imunitária humoral eficaz contra *Giardia*, mesmo após 100 dias de infeção. As vacas em lactação produzem colostro sendo que este tem atividade anti-giardia. O consumo de anticorpos do colostro poderá conferir proteções dos vitelos contra a infeção, uma vez que a *Giardia* é normalmente observada nos vitelos com mais de 3 a 4 semanas de idade. Estudos realizados em cães e gatos concluíram que após a vacinação estes estavam protegidos (R. C. A. Thompson, 2004)

4. Importância de *Giardia* em Saúde Pública

Giardia é o protozoário patogénico com maior distribuição mundial (Ongerth, 2013). É provavelmente o parasita intestinal mais comum que infeta os humanos e também os animais, sendo uma importante causa de diarreia nas crianças e nos adultos em todo o mundo (Almirrall *et al.*, 2013; Breathnach *et al.*, 2010; Paoletti *et al.*, 2011; R. C. A. Thompson, 2004). Acredita-se que a giardiose é responsável por 2,8 milhões de novos casos de diarreia e défices nutricionais em crianças nos países em desenvolvimento (Mahdy *et al.*, 2009; Neghina *et al.*, 2013) sendo particularmente comum em climas quentes, tropicais e subtropicais (Anuar *et al.*, 2012; Neghina *et al.*, 2013). Embora a infeção seja mais comum em áreas de grande pobreza e superlotação, *G. lamblia* também pode ser manifestada nos países desenvolvidos devido ao défice nos cuidados de higiene (em creches, centros de dia) ou devido às fontes de água estagnadas tais como, lagoas e sistemas de recuperação de águas pluviais (Breathnach *et al.*, 2010; Neghina *et al.*, 2013). Dados de pesquisa, excluindo os surtos, indicam que a prevalência nos países industrializados está entre 2% e 5%, e nos países em desenvolvimento varia entre 20 a 30% (Almirrall *et al.*, 2013). A OMS estima que 200 milhões de pessoas são infetadas todos os anos na Ásia, África e América Latina com infeções sintomáticas, com 500 mil novos casos registados anualmente (Anuar *et al.*, 2012; EPA, 1999; Feng & Xiao, 2011; Mahdy *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2010). No entanto, as prevalências mais elevadas foram encontradas em crianças que frequentam creches e escolas primárias (Almirrall *et al.*, 2013)

Este parasita tem uma ampla gama de hospedeiros, sendo frequentemente encontrado nos animais domésticos, especialmente em gado, cães e gatos, e em numerosas espécies de mamíferos selvagens e aves, embora o seu potencial patogénico seja melhor reconhecido em seres humanos (R. C. A. Thompson, 2004).

Giardiose é também uma doença comum entre os animais, sendo importante também na saúde veterinária (Feng & Xiao, 2011).

5. Ocorrência da infecção por *Giardia* nos humanos

5.1 Epidemiologia

A prevalência da *G. lamblia* é cerca de 2-3% nos países desenvolvidos, e 20-30% nos países em desenvolvimento (Speich *et al.*, 2013). A prevalência da giardiose varia muito porque a doença é reportada apenas em alguns países, os métodos de diagnóstico utilizados diferem sendo a sensibilidade dos mesmos diferentes, e em áreas endémicas muitas pessoas infetadas não apresentam sintomas, não têm acesso a cuidados médicos ou não procuram tratamento médico. No entanto, a *Giardia* é responsável como sendo a causa mais comum de diarreia no mundo.

A *G. lamblia* é o parasita intestinal mais comum identificado nos Estados Unidos. Nos Estados Unidos, durante o período 2009-2010 o número total de casos de giardiose aumentou ligeiramente, cerca de 1,9%, sendo que em 2009 foram reportados 19 562 e em 2010 foram reportados 19 927 (Yoder *et al.*, 2012). A taxa de ocorrência de giardia nos Estados Unidos tem sido bastante consistente, com cerca de 7,3-7,6 casos por cada 100 000 habitantes. A taxa de giardiose por 100 000 habitantes vai desde 2,6 em Arizona a 29,6 no Vermonte. O estado de Vermonte reportou a taxa mais alta em ambos os anos, embora tenha descido de 35,4 em 2009 para 29,6 em 2010. A região centro oeste dos Estados Unidos tem uma incidência mais alta com uma taxa de 11,4 / 100 000 habitantes, seguido da região noroeste com uma taxa de 10,3 (Yoder *et al.*, 2012). É importante referir que o número de casos nos Estados Unidos tem vindo a diminuir ao longo dos anos, em que a taxa diminuiu dos 13,8 em 1995 para 7,6 em 2010. O número de casos e incidência da doença parece ter estabilizado, quando a doença passou a ser de notificação obrigatória em 2002, em que as taxas de incidência permaneceram relativamente estáveis 8,7-7,2 (gráfico 1).

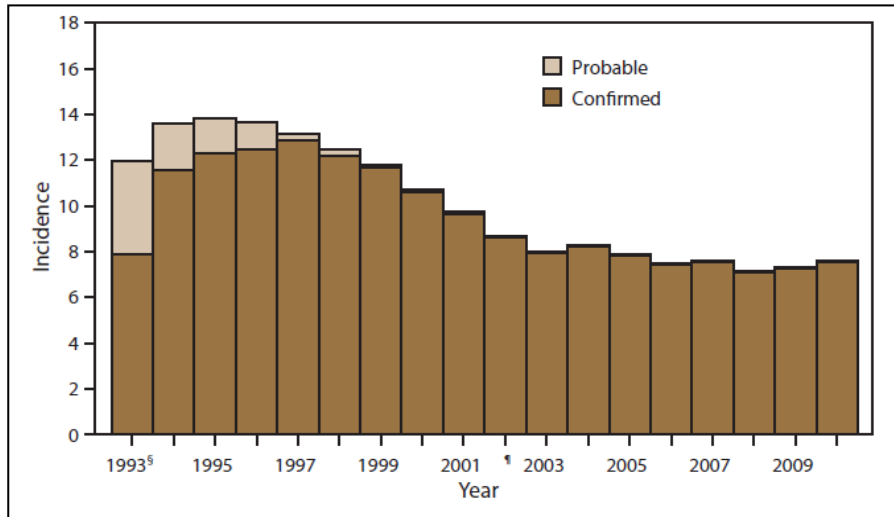


Gráfico 1 Incidência da giardiose ao longo dos anos nos Estados Unidos (1993-2009) (Fonte Yoder *et al.*, 2012)

Na Europa, os dados sobre a giardiose são recolhidos de 23 países e estão disponíveis no Centro Europeu de Controlo de Doenças (<http://www.ecdc.europa.eu/>). O estudo feito por Neighina *et al.*, durante o período de 1993-2006, concluiu que a média anual de incidência de giardiose era de 1076 casos por 100 000 habitantes. Constatou também que durante esses 14 anos a incidência mais alta foi relatada em pacientes dos 0-14 anos, com cerca de 3294 casos por 100.000 habitantes. É de destacar que durante o período de 2006-2008, 90,8% do total dos casos de giardiose a nível da União Europeia ocorreram na Roménia (Neghina *et al.*, 2013).

Num outro estudo, realizado em 2008, foram confirmados 167 328 casos de giardiose, dos quais 148 830 (691 por 100 000 habitantes) pertenciam à Roménia, sendo responsável por 89% do total de número de casos reportados (gráfico 2). Este valor tem vindo a diminuir, uma vez que em 2009 foram reportados 93 375 casos de giardiose, em que 76 671 casos (82%) pertenciam à Roménia, embora não tivessem sido confirmados. Como se pode ver pelo gráfico, a percentagem de incidência na Roménia tem vindo a diminuir ao longo dos últimos anos (gráfico 3). A seguir à Roménia, as taxas mais elevadas de casos confirmados por 100 000 habitantes no ano de 2009 foram da Bulgária (28 casos), seguido da Estónia (15 casos), Suécia (13 casos) e Islândia (8 casos). As taxas relatadas foram relativamente consistentes entre 2006 a 2009 (www.ecdc.europa.eu, 2011).

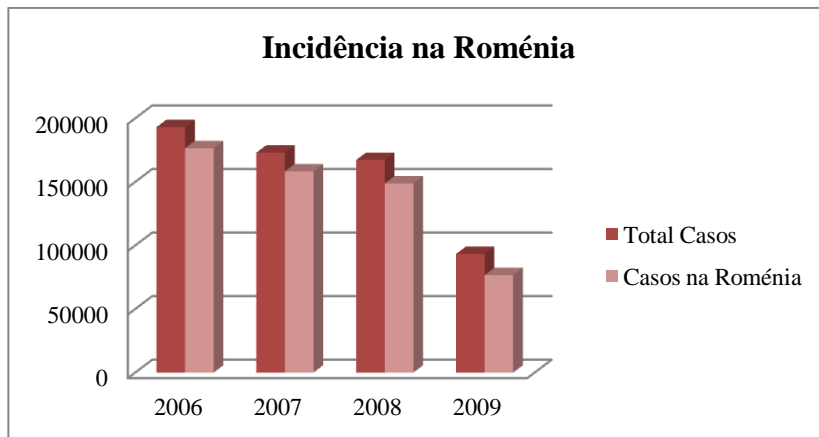


Gráfico 2 Número total de casos da giardiose na Roménia entre 2006 e 2009

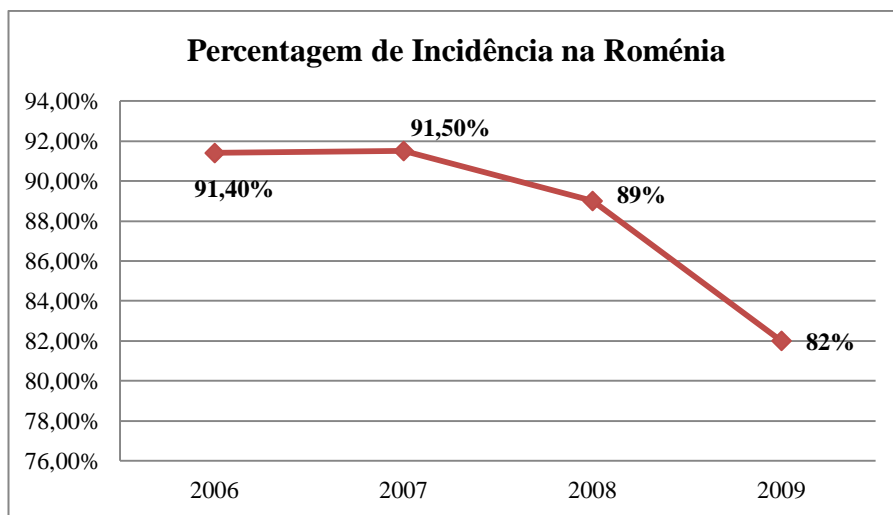


Gráfico 3 Percentagem de incidência da giardiose na Roménia entre 2006 e 2009

Na Nova Zelândia, a giardiose é de notificação obrigatória desde 1996. Numa pesquisa recente na Nova Zelândia (Snel *et al.*, 2009) foi confirmado que a giardiose tem uma das maiores taxas de incidência (44,1 casos por 100.000 habitantes), em comparação com outros países desenvolvidos, e isto pode estar relacionado com fatores ambientais ou sociais.

Como já referi, o parasita *G. lamblia* é amplamente distribuído em todo o mundo, com alta prevalência nos países em desenvolvimento tropicais e subtropicais, incluindo a Malásia (Anuar *et al.*, 2012). Um estudo feito por Speich *et al.*, estima que

cerca de 28,5 milhões de pessoas são afetadas por *Giardia lamblia* na China todos os anos (Speich *et al.*, 2013).

Numa recente revisão da giardiose na Ásia (Dib *et al.*, 2008), com base em 33 estudos publicados no período de 2002-2007, mostrou que a prevalência variou significativamente entre os estudos, sendo maior em áreas urbanas do que em áreas rurais; mais comum em comunidades pobres; uma prevalência maior no sexo masculino que feminino; com faixa etária em crianças com 2-5 anos, estudantes universitários e pessoas com idade mais avançada; pacientes com HIV positivo e pacientes com carcinoma gástrico. As taxas mais altas de prevalência foram observadas em crianças no Nepal (73,4%), na Tailândia (37,7%) e na Malásia (24,9%) (Dib *et al.*, 2008).

Num outro estudo, na Síria, não houve correlação entre giardiose e idade, sexo, residência em áreas urbanas ou rurais. Em contrapartida foram encontradas correlações no nível de educação da mãe e do pai bem como o número de irmãos em casa (Almerie *et al.*, 2008).

5.1.1 Distribuição por género e faixa etária

A giardiose afeta todos os grupos etários, no entanto a faixa etária mais afetada está compreendida entre os 0 e 14 anos (gráfico 4).

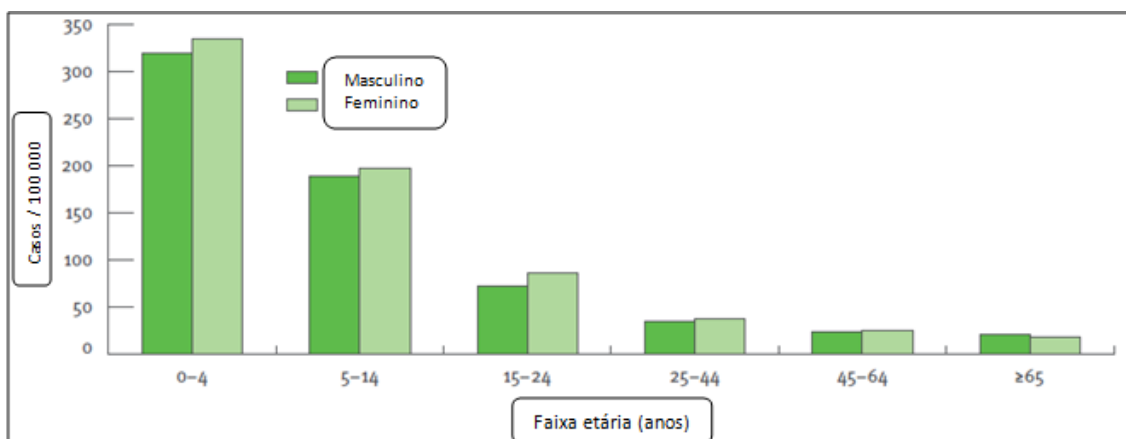


Gráfico 4 Distribuição da giardiose por faixa etária e género na Europa em 2008 (ECDC, 2010)

Em 2008 dos 167 328 casos confirmados na Europa, 164 026 forneceram dados sobre a idade e 164 053 forneceram dados sobre o sexo. A taxa de notificação foi maior

entre os 0-4 anos de idade (332 casos por 100 000 habitantes), seguida por 5-14 anos (195 por 100 000 habitantes). Em relação ao sexo, não há diferenças significativas nas taxas de notificação, sendo observada 68 e 67 casos por 100 000 habitantes no sexo masculino e feminino respetivamente (www.ecdc.europa.eu, 2010)

Em 2009, dezanove países forneceram informações sobre a idade e o sexo. Dos 93 375 casos confirmados, apenas 12 077 forneceram dados. Semelhante ao do ano anterior, a taxa de notificação maior ocorreu na faixa etária dos 0-4 anos, tanto para o sexo masculino como feminino. No entanto a faixa etária dos 25-44 teve um aumento significativo (www.ecdc.europa.eu, 2011) (gráfico 5).

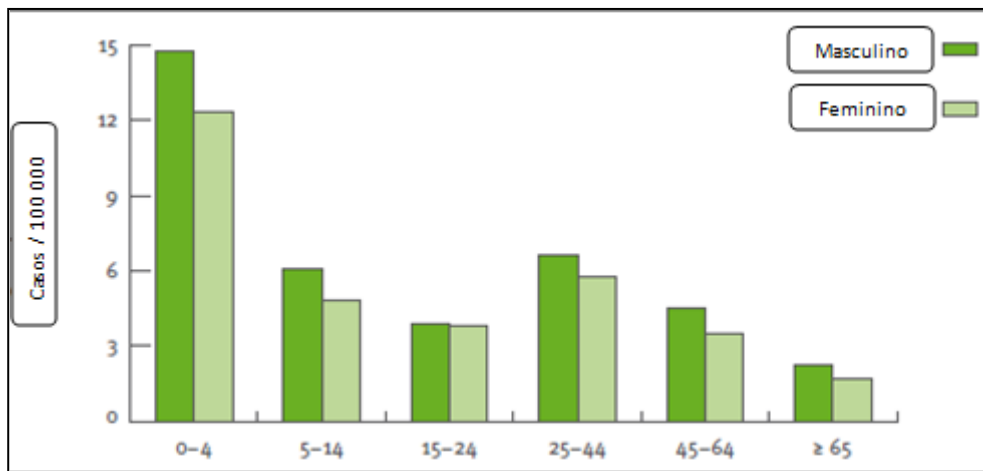


Gráfico 5 Distribuição por faixa etária e género na Europa em 2009 (ECDC, 2011)

Dados relativos ao ano 2009-2010 nos Estados Unidos (Yoder *et al.*, 2012) mostraram uma distribuição etária semelhante, com o maior número de casos ocorridos em crianças com idade entre 1-9 anos. A análise da incidência relativamente ao sexo, demonstrou que a giardiose é mais frequente nos homens (gráfico 6).

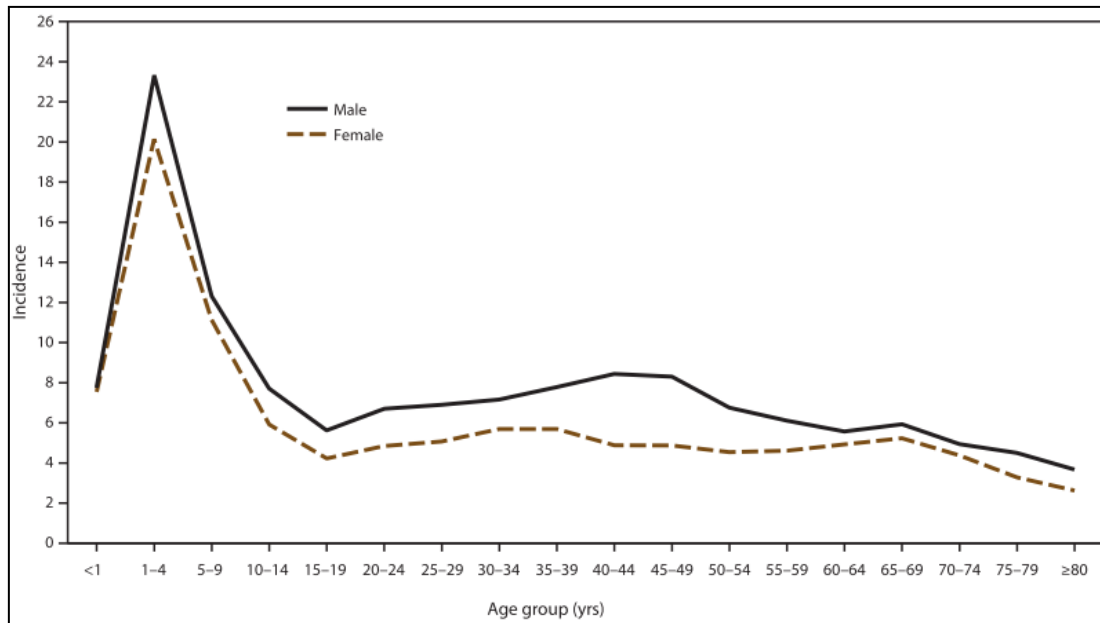


Gráfico 6 Distribuição por género nos Estados Unidos em 2009-2010 (Yoder et al., 2012).

Embora a infeção seja mais prevalente em crianças do que em adultos, esta não ocorre nos lactentes alimentados com leite materno, dado que este possui anticorpos (Ig A) e ácidos gordos livres que são citotóxicos e protegem o lactente contra a infeção (Castro, 2001). Estudos recentes mostram que o contacto repetido com o parasita leva a um aumento da proteção atribuída a sensibilização do sistema imunitário, sendo esta uma das razões indicadas para justificar o facto de se observarem menos casos em adultos do que na população infantil (Langford *et al.*, 2002)

5.1.2 Sazonalidade

Os dados dos países europeus sobre a sazonalidade para 2009 estavam disponíveis em 11 435 casos notificados de 15 países. Os casos de giardiose ocorrem durante todo o ano, no entanto há um ligeiro aumento consistente observado nos meses de fim de verão/outono (setembro a novembro) (www.ecdc.europa.eu, 2011). O gráfico a seguir mostra a sazonalidade entre o ano 2006 e 2009 (gráfico 7).

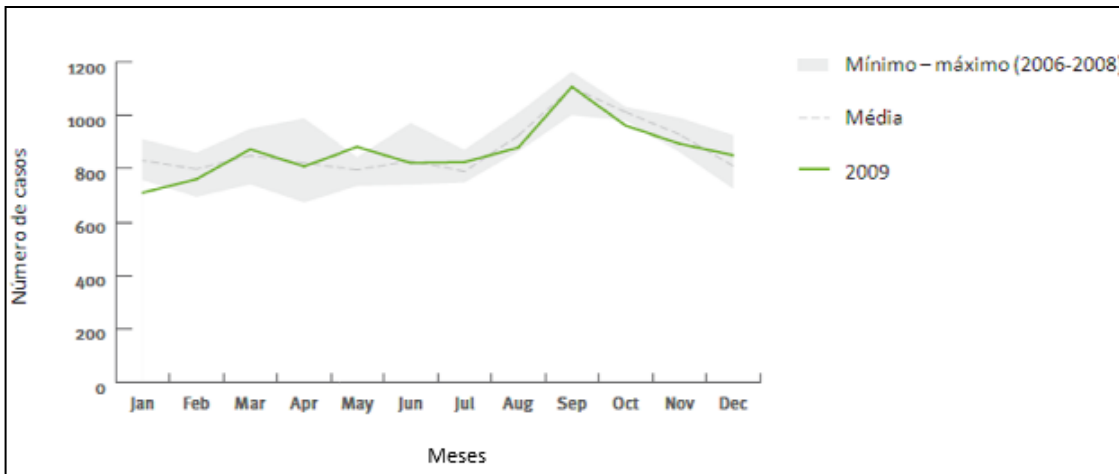


Gráfico 7 Distribuição sazonal média do número de casos de giardiose para o ano de 2009, comparativamente aos valores mínimos e máximos para o período de 2006 e 2009 (ECDC, 2011).

No último relatório da giardiose dos EUA (Yoder *et al.*, 2012) durante o período de 2009-2010, os dados sobre a sazonalidade mostram que há um aumento do número de casos em junho, atingindo o pico em agosto prolongando-se até setembro (gráfico 8).

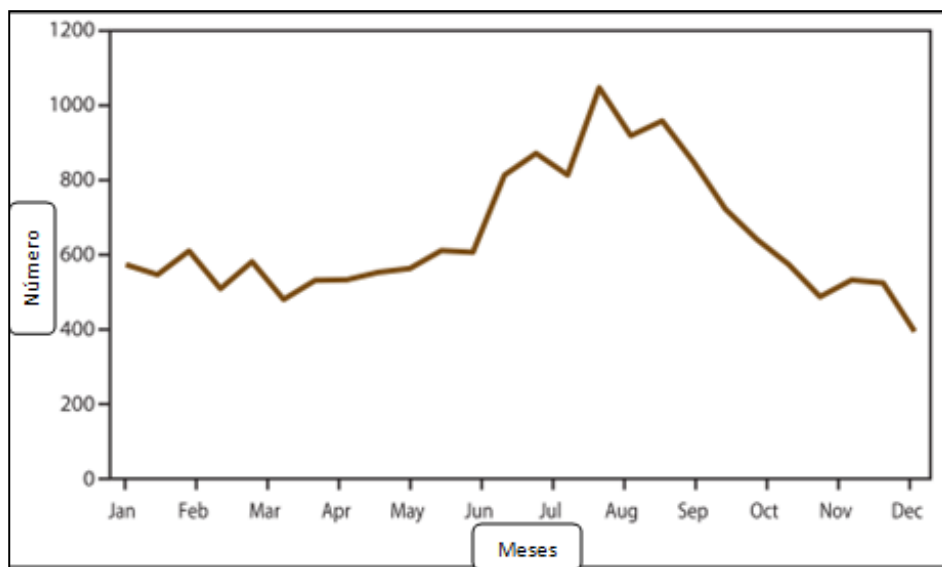


Gráfico 8 Sazonalidade da giardiose nos EUA durante o período de 2009-2010 (Yoder *et al.*, 2012)

O aumento da infecção durante o verão/outono, coincide com o aumento das atividades ao ar livre (natação, campismo), sendo esta uma possível explicação para esta tendência (Yoder *et al.*, 2012).

Contrariamente, o estudo realizado por Breathnach *et al.* (2010) demonstrou um pico de incidência entre outubro e dezembro.

5.1.3 Indivíduos imunodeprimidos

Globalmente, o número de indivíduos imunodeprimidos aumenta a cada ano, não só devido à propagação do vírus da imunodeficiência humana (VIH), mas também devido à desnutrição, quimioterapia e terapia imunossupressora. A imunodeficiência, independentemente da sua origem, predispõe à infeção por parasitas. A prevalência observada varia entre 1,5% na Coreia do sul e Austrália a 17,7% em Los Angeles (Stark *et al.*, 2009) (tabela 5).

Tabela 5 Prevalência da *G. lamblia* nos indivíduos infetados pelo VIH (tabela adaptada de Stark *et al.*, 2009)

Localização	Prevalência (%)
Sul Itália	6,15
França	5,8
Cuba	6
Coreia do Sul	1,5
Etiópia	3,8
Honduras	1,9
Norte da Índia	8,3
Norte da Índia	3,8
Austrália	1,5
Irão	7,3
Uganda	1,9
Brasil	16
Los Angeles	17,7

6. Distribuição geográfica dos genótipos A e B

A caracterização molecular de *Giardia* nos diferentes hospedeiros, revelou a existência de um certo número de conjuntos genótipos, algumas das quais parecem ser específicos para uns hospedeiros, enquanto que outros têm uma vasta gama de hospedeiros. Apenas os assemblages A e B têm genótipos que têm sido isolados a partir dos seres humanos (C. M. Read, Monis, & Thompson, 2004).

A distribuição dos dois genótipos da *Giardia* associados aos seres humanos varia consoante as diversas partes do mundo, e muitas vezes dentro do mesmo país. O genótipo B é predominante na maioria dos estudos recolhidos (38/71) comparativamente ao genótipo A (tabela 6-12).

Na Europa a maioria dos estudos mostram uma maior prevalência do genótipo B (Aydin, 2004; Berrilli *et al.*, 2006; Bertrand *et al.*, 2005; Breathnach *et al.*, 2010; Cardona *et al.*, 2011; Geurden *et al.*, 2009; Mank *et al.*, 2006; Mclauchlin *et al.*, 2002; L J Robertson *et al.*, 2007; Sahagún *et al.*, 2008). Contudo em Itália dois dos estudos mostraram uma maior prevalência do genótipo A, em que num deles 14% eram infeções mistas (genótipo A e B) (Lalle *et al.*, 2005) e num dos estudos uma igual distribuição de ambos os genótipos. Dois estudos realizados na Alemanha e Itália apenas o genótipo A foi detetado (Marangi *et al.*, 2010; Sagebiel *et al.*, 2009)

O continente Asiático parece ser semelhante à Europa no que respeita à distribuição dos genótipos, uma vez que é predominante o genótipo B. Contudo, dois estudos realizados na Coreia do Sul e na província Henan na China, com muito poucas amostras, o genótipo A foi predominante. O mesmo não acontece na Ásia ocidental sendo mais prevalente o genótipo A com exceção do estudo realizado no Iraque.

Em África encontramos uma distribuição variada, com predominância do genótipo A no Egipto, Nigéria, Etiópia e Uganda. Em praticamente todos os países se observou uma infeção mista, sendo que foi reportada uma infeção mista de genótipo A com F em 12% dos casos na Etiópia, e no Egipto 5% dos casos eram infeção mista de genótipo B com E. Foi detetado pela primeira vez o genótipo E nos humanos no Egipto, contudo estes resultados devem ser considerados como preliminares, uma vez que é necessária a análise baseada noutra *locus* para se poder confirmar (Foronda *et al.*, 2008).

Na América do Sul os estudos realizados no México e na Colômbia 100% dos isolados pertenciam ao genótipo A. Por outro lado, na Argentina, Equador e Nicarágua o genótipo B foi predominante. Os estudos no Peru, em Lima, reportam uma predominância do genótipo B, enquanto outro estudo realizado no distrito de Trujillo reporta uma predominância de A. No Brasil, as amostras recolhidas nas cidades do sul como São Paulo e Rio de Janeiro mostram uma alta prevalência do genótipo A, enquanto que numa favela do nordeste do Brasil, Ceará há maior prevalência do genótipo B. Cuba tem uma igual distribuição dos dois genótipos.

Nos Estados Unidos, um estudo realizado no Texas houve predominância do genótipo A, semelhante ao seu país vizinho México. Contudo, em São Francisco e no Canadá há predominância de B.

Os três estudos realizados na Austrália obtiveram todos os mesmos resultados, mostrando uma prevalência do genótipo B, enquanto que na Nova Zelândia tem uma predominância do genótipo A.

Estas diferenças de prevalência e distribuição de genótipos podem ser explicadas com base no método de detecção utilizado. Os investigadores detetam diferenças entre prevalências quando usam métodos morfológicos e métodos moleculares, sendo que existe maior prevalência quando é usado o método molecular. Portanto os dados da prevalência com base na detecção morfológica subestima a verdadeira prevalência devido à baixa sensibilidade (Foronda *et al.*, 2008)

Alguns estudos relataram uma forte evidência de transmissão antroponótica do genótipo B (Cardona *et al.*, 2011; Cordón *et al.*, 2008). O estudo realizado por Cardona *et al.* (2011) relatou uma forte evidência de transmissão antroponótica uma vez que todos os isolados pertenciam ao genótipo B ou AII. O estudo realizado por Geurden *et al.* (2009) na Bélgica concluiu que como o genótipo B não é prevalente no gado e como nenhuma das amostras positivas teve em contato com gado, a transmissão zoonótica parece ser improvável.

No caso do genótipo E ele é mais comum no gado particularmente no bovino (C. M. Read *et al.*, 2004) e noutros ruminantes incluindo o gado ovino (ovelhas) e caprino (cabras). Até agora não existem dados epidemiológicos ou genéticos que mostrem que o genótipo E infecta os seres humanos, e portanto não é considerado zoonótico. Contudo

como já referi Foronda *et al.* (2008) detetou pela primeira vez o genótipo E da *Giardia* em amostras de fezes humanas no Egito. Isto pode ser explicado pois dois terços dos habitantes pertencem a uma comunidade rural, em que as pessoas vivem em contacto com o gado. Portanto os animais devem ser considerados como uma fonte de quistos infecciosos para o meio ambiente infetando assim os humanos. No entanto a análise das fezes foi baseado no gene *tpi* e por isso uma análise mais aprofundada de um segundo locus é necessário para confirmar este resultado (Foronda *et al.*, 2008)

Tabela 6 Distribuição geográfica dos genótipos A e B na Europa

	País	Idade (anos)	Prevalência (%)	η positivos	η Genótipos / (%)			Referência
					A	B	Misto	
EUROPA	Albânia	< 9	17,6	22	10 / (45,5)	12 / (54,5)	0	(Berrilli <i>et al.</i> , 2006)
	Alemanha (Berlin)	<1 a 40+	1,5	3	3 / (100)	0	0	(Sagebiel <i>et al.</i> , 2009)
	Bélgica		4,0	72	18 / (25,6)	54 / (74,4)	0	(Geurden <i>et al.</i> , 2009)
	Espanha (saragoça)	2-72		108	43 / (39,8)	61 / (56,5)	4 / (3,7)	(Sahagún <i>et al.</i> , 2008)
	Espanha (Província Álvara)	Crianças	3,1	7	2 / (28,6)	4 / (57,1)	1 / (14,3)	(Cardona <i>et al.</i> , 2011)
	França			25	9 / (36)	16 / (64)	0	(Bertrand <i>et al.</i> , 2005)
	Holanda			98	34 / (35)	64 / (65)	0	(Mank <i>et al.</i> , 2006)
	Holanda	8-60	2,0	18	9 / (50)	9 / (50)	0	(Homan & Mank, 2001)
	Itália			30	24 / (80)	6 / (20)		(Caccio <i>et al.</i> , 2002)
	Itália	8 meses – 84 anos		37	17 / (46)	15 / (40,5)	5 / (13,5)	(Lalle <i>et al.</i> , 2005)
	Itália	2-13	42,9	6	6 / (100)	0	0	(Marangi <i>et al.</i> , 2010)
	Itália	1 –	0,4	11	5 /	5 /	1	(Crotti <i>et al.</i> ,

	+14			(40)	(40)	(10)	2004)
Noruega			63	3 (5)	60 (95)	0	(Robertson <i>et al.</i> , 2007)
Reino Unido (londres)			199	48 (24)	145 (73)	6 (3)	(Breathnach <i>et al.</i> , 2010)
Reino Unido			33	9 (27)	21 (64)	3 (9)	(Amar <i>et al.</i> , 2002)
Turquia			44	19 (43)	25 (57)	0	(Aydin <i>et al.</i> , 2004)

Tabela 7 Distribuição geográfica dos genótipos A e B na Ásia ocidental

	País	Idade (anos)	Prevalência (%)	η positivos	η Genótipos / (%)			Referência
					A	B	Misto	
ÁSIA OCIDENTAL	Arabia Saudita	Crianças	6,5	40	23 (57,5)	15 (37,5)	2 (5)	(Al-mohammed, 2011)
	Iémen	1-80		65	43 (66)	22 (34)	0	(Alyousefi <i>et al.</i> , 2013)
	Iraque (Bagdade)	1-12		17	5 (29,4)	12 (70,5)	0	(Qader & Bakir, 2011)
	Irão (Teerã)			38	33 (87)	3 (7,8)	2 (5,2)	(Babaei <i>et al.</i> , 2008)
	Irão (província de Fars - Sul)	6 meses até 65 anos		172	128 (74,4)	36 (20,9)	8 (4,7)	(Sarkari <i>et al.</i> , 2012)
	Irão (província de Fars)			40	32 (80)	8 (20)	0	(Rayani <i>et al.</i> , 2012)
	Irão (Isfahan)			67	40 (59,7)	25 (33,7)	2 (2,98)	(Pestehchian <i>et al.</i> , 2012)

Tabela 8 Distribuição geográfica dos genótipos A e B na Ásia

	País	Idade (anos)	Prevalência (%)	η positivos	η Genótipos (%)			Referência
					A	B	Misto	
ÁSIA	Bangladesh	≤ 10	12,7	267	20 (7,5)	231 (86,5)	16 (6)	(Haque <i>et al.</i> , 2005)
	China (província Anhui)			8	4 (50)	4 (50)	0	(Yong <i>et al.</i> , 2000)
	China (província Henan)	2-78		18	12 (66,6)	6 (33,4)	0	(Wang <i>et al.</i> , 2011)
	Coreia do sul			7	7 (100)	0	0	(Yong <i>et al.</i> , 2000)
	Filipinas	Todas		133	18 (13,5)	83 (62,4)	32 (24,1)	(Yason & Rivera, 2007)
	Índia (Calcutta)			9	0	9 (100)	0	(Sulaiman <i>et al.</i> , 2003)
	Índia	0 ->60		16	5 (31,3)	8 (50)	3 (18,7)	(Traub <i>et al.</i> , 2004)
	Malásia (comunidade Pahang)	2-76	23,7	42	1 (2)	41 (98)	0	(Mahdy <i>et al.</i> , 2009)
	Malásia	~7		71	30 (42)	32 (45)	0	(Seow <i>et al.</i> , 2013)
	Nepal		4,1	35	7 (20)	26 (74)	2 (6)	(Singh <i>et al.</i> , 2009)
	Tailândia	5-14	6,2	12	5 (41,7)	7 (58,3)	0	(Ratanapo <i>et al.</i> , 2008)
	Tailândia	5-15		79	17 (21,5)	62 (78,5)	0	(Kosuwin <i>et al.</i> , 2010)
	Tailândia	2-70	0,9	61	5 (8)	31 (51)	25 (41)	(Tungtrongchit <i>et al.</i> , 2010)
	Tailândia (província Chachoengsao)	3-9		10	3 (30)	7 (70)	0	(Boontanomet <i>et al.</i> , 2011)

Tabela 9 Distribuição geográfica dos genótipos A e B em África

	País	Idade (anos)	Prevalência (%)	η positivos	η Genótipos / (%)			Referência
					A	B	Misto	
ÁFRICA	Alegria	8-13		32	12 (37,5)	18 (56)	2 (6)	(Lalle <i>et al.</i> , 2009)
	Costa do Marfim			14	0	14 (100)	0	(Bertrand <i>et al.</i> , 2005)
	Egipto			105	51 (48,6)	10 (9,5)	16 (15,2)	(El-Shazly <i>et al.</i> , 2004)
	Egipto			89	58 (65,2)	10 (11,2)	19 (21,35)	(Abdel-Moneim <i>et al.</i> , 2008)
	Egipto		34,6	18	1 (5)	14 (80)	2 (E) / (10) ; 1 (B+E) / (5)	(Foronda <i>et al.</i> , 2008)
	Egipto	4-65		41	31 (75,6)	8 (19,5)	2 (5)	(Helmy <i>et al.</i> , 2009)
	Etiópia			59	31 (52)	13 (22)	8 (A+B) / (13) ; 7 (A+F) / (12)	(Gelanew <i>et al.</i> , 2007)
	Nigéria	0-17		5	5 (100)	0	0	(Maikai <i>et al.</i> , 2012)
	Uganda		5,0	3	3 (100)	0	0	(Graczyk <i>et al.</i> , 2002)

Tabela 10 Distribuição geográfica dos genótipos A e B na América do Norte

AMÉRICA DO NORTE	País	Prevalência (%)	η positivos	η Genótipos / (%)			Referência
				A	B	Misto	
	Canada	28,9	15	3 (20)	9 (60)	3 (20)	(Guy, Xiao, & Horgen, 2004)
	Estados Unidos (São Francisco)		2	0	2 (100)	0	(Sulaiman <i>et al.</i> , 2003)
	Estados Unidos (Texas)		8	6 (75)	2 (25)	0	(Hussein <i>et al.</i> , 2009)

Tabela 11 Distribuição geográfica dos genótipos A e B na América do Sul

AMÉRICA DO SUL	País	Idade (anos)	Prevalência (%)	η positivos	η Genótipos / (%)			Referência
					A	B	Misto	
	Argentina			43	3 (6,98)	40 (93,02)	0	(Minvielle <i>et al.</i> , 2008)
	Argentina (Berisso)			70	22 (31,4)	46 (65,7)	2 (2,8)	(Molina <i>et al.</i> , 2011)
	Brasil (Rio de Janeiro)	9 meses – 4 anos	23,8	62	62 (100)	0	0	(Volotão <i>et al.</i> , 2007)
	Brasil (São Paulo)			37	29 (78)	8 (22)	0	(Souza <i>et al.</i> , 2007)
	Brasil (Ceará)			58	9 (15,5)	43 (74,1)	6 (10,3)	(Kohli <i>et al.</i> , 2008)
	Brasil (São Paulo)	7-21		5	5 (100)	0	0	(Coradi <i>et al.</i> , 2011)
	Colômbia			24	24 (100)	0	0	(Ravid <i>et al.</i> , 2007)
	Cuba	6-11		20	9 (45)	11 (55)	0	(Pelayo <i>et al.</i> , 2008)
	Equador			69	22 (32)	42 (61)	5 (7)	(Atherton <i>et al.</i> , 2013)
	México			19	19	0	0	(Ponce-

				(100)			Macotela <i>et al.</i> , 2002)
México	5-9		7	7 (100)	0	0	(Lalle <i>et al.</i> , 2005)
México	3 anos		12	12 (100)	0	0	(Eligio-García <i>et al.</i> , 2008)
Nicarágua	1-53		119	25 (21)	94 (79)	0	(Lebbad <i>et al.</i> , 2008)
Peru (Lima)			25	6 (24)	19 (76)	0	(Sulaiman <i>et al.</i> , 2003)
Peru (Lima)	≤ 10	20,4	167	66 (39,5)	81 (48,5)	20 (12)	(Cooper <i>et al.</i> , 2010)
Peru (Trujillo)	1 mês – 9 anos	23,8	16	10 (62,5)	6 (37,5)	0	(Cordón <i>et al.</i> , 2008)

Tabela 12 Distribuição geográfica dos genótipos A e B na Austrália e Nova Zelândia

AUSTRÁLIA e NOVA ZELÂNDIA	País	Prevalência (%)	η positivos	η Genótipos / (%)			Referência
				A	B	Misto	
				Austrália	7,6	23	
Austrália		8	2 (25%)	6 (85%)	0	(Read <i>et al.</i> , 2004)	
Austrália		124	31 (25%)	93 (75%)	0	(Yang <i>et al.</i> , 2010)	
Nova Zelândia		30	23 (77%)	7 (23%)	0	(Winkworth <i>et al.</i> , 2008)	

7. Relação dos genótipos A e B com os humanos e animais

Uma vez que os seres humanos são infetados apenas pelos genótipos A e B, e ambos os genótipos são encontrados nos animais, os estudos sobre a transmissão zoonótica tem-se concentrado nestes dois genótipos. Isto aplica-se especialmente ao genótipo A que tem uma vasta gama de animais como reservatórios, sendo o genótipo mais provável pela transmissão zoonótica (Cordón *et al.*, 2008; Feng & Xiao, 2011; Xiao & Fayer, 2008). Inicialmente pensava-se que o genótipo B era restrito aos seres humanos, embora estudos recentes tenham demonstrado que o genótipo B possa estar presente com menor extensão noutras espécies de mamíferos incluindo gado bovino, cavalos, macacos, coelhos, ratos e ovelhas (Cacciò & Ryan, 2008; Feng & Xiao, 2011; Plutzer *et al.*, 2010) indicando que estas espécies podem atuar como um potencial reservatório de infeções da *Giardia*.

Existem dois sub-genótipos do genótipo A, AI e AII, que diferem significativamente nos hospedeiros específicos. Os seres humanos são infetados principalmente pelo sub-genótipo AII, embora o sub-genótipo AI possa estar presente em algumas áreas e em alguns estudos. Em contraste, os animais são infetados na sua maioria pelo AI, embora também possam ocasionalmente ser infetados pelo AII (Foronda *et al.*, 2008; Xiao & Fayer, 2008) (tabela 13 e 14). Baseado no gene β -giardina o sub-genótipo AIII foi encontrado em alguns seres humanos (Gelanew *et al.*, 2007). Não existem diferenças geográficas na distribuição dos dois sub-genótipos do genótipo A nos humanos.

Tabela 13 Sub-genótipos do genótipo A nos humanos

País	Tamanho amostra	Sub-genótipos				Referência
		AI	AII	AIII	Outros	
Austrália	9	4	5			(Read <i>et al.</i> , 2004)
Bangladesh	29	8	20		1 (AI+AII)	(Haque <i>et al.</i> , 2005)
Brasil (Rio de Janeiro)	62	60	2			(Volotão <i>et al.</i> , 2007)
Brasil (São Paulo)	29		29			(Souza <i>et al.</i> , 2007)
Brasil (São	5	1	4			(Coradi <i>et al.</i> ,

Paulo)						2011)
Etiópia	23	1	5	16	1	(Gelanew <i>et al.</i> , 2007)
Filipinas	50	3	47			(Yason & Rivera, 2007)
França	8		8			(Bertrand <i>et al.</i> , 2005)
Itália	13		10	2	1 (AII+AIII)	(Giacomo <i>et al.</i> , 2002)
Itália	17	1	7	3	6	(Lalle <i>et al.</i> , 2005)
México	19		19			(Ponce-Macotella <i>et al.</i> , 2002)
México	12	5	7			(Eligio-García <i>et al.</i> , 2008)
Reino Unido	9		9			(Amar <i>et al.</i> , 2002)

Tabela 14 Sub-genótipos do genótipo A nos animais

Animal	País	Tamanho amostra	Sub-genótipos				Referência
			AI	AII	AIII	Outros	
Bovino	Brasil	1	1				(Souza <i>et al.</i> , 2007)
Bovino	Dinamarca	8	8				(Langkjaer <i>et al.</i> , 2007)
Cão	México	19	10	9			(Eligio-García <i>et al.</i> , 2008)
Gato	Austrália	9	9				(Read <i>et al.</i> , 2004)
Gato	Brasil	8	8				(Souza <i>et al.</i> , 2007)
Porco	Dinamarca	10	10				(Langkjaer <i>et al.</i> , 2007)

8. Genótipos *versus* virulência e manifestações clínicas

A maioria dos isolados de *Giardia* apresenta diferenças nas características fenotípicas e genotípicas. A existência de variações genéticas pode explicar as diferenças em relação à infetividade no hospedeiro.

O desenvolvimento de ferramentas de biologia molecular para estudar os diferentes isolados de *G. lamblia* e o conhecimento do espectro de sintomas associados à giardiose, tem fomentado a busca de associações entre os genótipos e sintomatologia específica (Lucy J. Robertson *et al.*, 2010). Contudo, a análise dos resultados atuais é inconclusiva, uma vez que ambos os genótipos são capazes de causar diarreia sintomática, e o mesmo genótipo é capaz de causar diferentes sintomas (Lucy J. Robertson *et al.*, 2010) (tabela 15 e 16).

Diferenças na sintomatologia da giardiose associados aos genótipos foram inicialmente descritos na Holanda onde ficou demonstrado uma forte correlação entre o genótipo A e a infeção por *G. lamblia* com diarreia moderada e intermitente e, por outro lado, entre o genótipo B e a infeção com diarreia grave e persistente (Homan & Mank, 2001). Mais tarde, Helmy *et al.* (2009) também encontrou uma relação entre o genótipo A com diarreia intermitente e o genótipo B com diarreia persistente.

Na Malásia, onde a giardiose é endémica, Mahdy *et al.* (2009) demonstrou que a infeção pelo genótipo B confere um risco, duas vezes superior, de manifestações sintomáticas como diarreia, desconforto abdominal, náuseas e vômitos, demonstrando uma forte correlação entre o genótipo B e a infeção sintomática. Estes dados estão em concordância com outros estudos, que concluíram que a infeção sintomática em crianças está significativamente mais associada ao genótipo B do que ao genótipo A (Al-mohammed, 2011; Gelanew *et al.*, 2007; Pelayo *et al.*, 2008; Qader & Bakir, 2011)

Em contraste, estudos realizados na Austrália (C. Read *et al.*, 2002) e Bangladesh (Haque *et al.*, 2005) encontraram uma forte correlação entre genótipo A e a infeção sintomática, nomeadamente diarreia, e entre genótipo B e infeção assintomática em crianças com menos de 5 anos e 10 anos, respetivamente. Outro estudo, oriundo de Espanha (Sahagún *et al.*, 2008), demonstrou igualmente uma associação significativa entre o sub-genótipo AII e infeções sintomáticas, e genótipo B e infeções assintomáticas em todas as crianças com menos de 5 anos de idade.

Outros estudos também concluíram que o genótipo A está mais associado a sintomas principalmente com a diarreia (Ajjampur *et al.*, 2009; Aydin *et al.*, 2004; Cordón *et al.*, 2008).

Um estudo realizado por Sarkari *et al.* (2012) concluiu que ambos os genótipos causam doença similar, mas que o sub-genótipo AII está mais frequentemente associado a dor abdominal náuseas e vômitos. Outro estudo realizado por (Coradi *et al.*, 2011) fazendo apenas relação das manifestações clínicas com o genótipo A, concluiu que os indivíduos assintomáticos pertenciam ao subgenótipo AII e os sintomáticos ao subgrupo AI. Em contraste, o estudo realizado por (Qader & Bakir, 2011) concluiu que o subgenótipo AII foi detetado em crianças com giardiose sintomática leve e sem diarreia, e o genótipo B com infecção sintomática.

Um estudo realizado entre 1999 e 2005 por (Breathnach *et al.*, 2010) concluiu que ambos os genótipos têm semelhanças a nível das manifestações clínicas, sendo que o genótipo B está mais associado às infecções sintomáticas, havendo apenas diferenças em termos de presença de febre em que é mais prevalente no genótipo A.

Tabela 15 Sintomas dos genótipos A e B (tabela adaptada de Breathnach *et al.*, 2010)

Sintomas	Genótipo A		Genótipo B	
	Sim	Não	Sim	Não
Diarreia	17	2	37	3
Náuseas	8	11	22	18
Dores musculares	1	18	8	32
Vômitos	8	11	13	27
Fezes com sangue	0	19	3	37
Febre	8	11	5	35
Dores abdominais	10	9	22	18
Dor de cabeça	4	15	10	30
Fadiga	7	12	19	21
Perda de peso	2	17	3	37

A suscetibilidade aumentada nas crianças atribui-se ao facto de apresentarem maior exposição à infeção devido à falta de hábitos de higiene adequados e pode também estar relacionada com a falta de imunidade.

Curiosamente, a maioria dos estudos onde o genótipo A está associado com doença ou sintomas mais severos são de regiões onde o genótipo B é predominante. Alguns estudos no entanto não encontraram nenhuma associação entre o genótipo e sintomatologia (Kohli *et al.*, 2008; Lalle, Pozio, *et al.*, 2005; Lebbad *et al.*, 2008).

Tabela 16 Quadro resumo dos genótipos associados à gravidade da diarreia e a outras manifestações clínicas

País	Idade	Genótipo associado com sintomas	Referência
Austrália	< 5 anos	Genótipo A – diarreia	(C. Read <i>et al.</i> , 2002)
Bagdah	Crianças	Genótipo B – associado a infeção sintomática	(Qader & Bakir, 2011)
Bangladesh	Todas	Genótipo A – diarreia	(Haque <i>et al.</i> , 2005)
Cuba	Crianças	Genótipo B – associado a infeção sintomática	(Pelayo <i>et al.</i> , 2008)
Egipto	Todas	Genótipo A – diarreia intermitente Genótipo B – sintomas mais severos	(Helmy <i>et al.</i> , 2009)
Inglaterra	Todas	Genótipo A – mais associado a febre	(Breathnach <i>et al.</i> , 2010)
Etiópia	Todas	Genótipo B – forte associação com diarreia	(Gelanew <i>et al.</i> , 2007)
India	< 3 anos	Genótipo A – associado com diarreia	(Ajjampur <i>et al.</i> , 2009)
Malásia	Todas	Genótipo B – elevado risco de sintomas	(Mahdy <i>et al.</i> , 2009)
Holanda	Todas	Genótipo A – diarreia intermitente Genótipo B – doença mais severa	(Homan & Mank, 2001)
Peru	< 9 anos	Genótipo A – associado com diarreia	(Cordón <i>et al.</i> , 2008)
Espanha	< 5 anos	Sub-genótipo AII – associado a	(Sahagún <i>et al.</i> ,

		sintomas	2008)
Turquia	Todas	Genótipo A – associado com sintomas	(Aydin <i>et al.</i> , 2004)
Arábia Saudita	Crianças	Genótipo B – sempre sintomático	(Al-mohammed, 2011)
Irão		Sub-Genótipo AII – associado a sintomas	(Sarkari <i>et al.</i> , 2012)
Brasil		Sub-genótipo AI – sintomático Sub-genótipo AII – assintomático	(Coradi <i>et al.</i> , 2011)

9. Ocorrência da *Giardia* na água e nos alimentos

A transmissão da *Giardia* através da água ou de alimentos consiste num sério problema de saúde pública e tem vindo a ganhar muita importância (R. C. Thompson, 2000). Alguns dados sugerem que a transmissão da giardiose pela água é mais comum em comparação com a transmissão de origem alimentar (R. C. A. Thompson, 2004). Isto acontece provavelmente por causa da falta de ferramentas apropriadas e/ou porque os casos são mais difundidos, aparecendo esporadicamente, ao invés da água contaminada que está ‘presa’ nas redes de distribuição que estão em todo o lado (Smith *et al.*, 2007). O consumo de água potável, que não seja da rede metropolitana, ou outros materiais filtrados representa um risco significativo para a giardiose (R. C. A. Thompson, 2004).

Os quistos de *Giardia* têm um grande potencial para transmissão através da água potável porque os quistos humanos estão amplamente distribuídos no meio ambiente; os quistos são suficientemente pequenos e podem penetrar as barreiras físicas nos processos de tratamento da água; são resistentes aos desinfetantes utilizados na indústria; e é necessária uma baixa dose de quistos para infetar os seres humanos (Karanis *et al.*, 2007; Smith *et al.*, 2007).

Existem outras duas características do ciclo de vida de *Giardia* que aumentam a probabilidade de transmissão pela água. A primeira é o facto do ciclo de vida ser monoxeno, ou seja, completa o seu ciclo num único hospedeiro excretando um grande número de quistos pelas fezes. Em segundo lugar, a transmissão zoonótica pode ocorrer, aumentando tanto o reservatório de infeção como a contaminação do meio ambiente, aumentando assim a probabilidade de transmissão através da água (Karanis *et al.*, 2007).

A desinfecção com cloro é uma barreira importante para os agentes patogénicos, mas não é muito eficaz contra os quistos de *Giardia* (Karanis *et al.*, 2007).

A transmissão da *Giardia* através da água potável e águas recreativas é bem documentado, assim como surtos de giardiose após o consumo de água contaminada (Smith *et al.*, 2007). Águas recreativas abrangem piscinas, nascentes de água termal e natural, parques aquáticos e outros locais onde o contacto com a água ou atividades podem ocorrer.

Foram encontrados surtos associados ao consumo de água não filtrada ou proveniente de sistemas subterrâneos contaminados por fontes de superfície (R. C. A. Thompson, 2004).

Desde o início do século passado até 2004, *G. lamblia* foi responsável por 132 (40,6%) de 325 surtos através da água em todo o mundo (Karanis *et al.*, 2007). Desses 132 surtos, 103 (78%) foram associados aos sistemas de água potável contaminada.

Desde a revisão por Karanis *et al.* em 2007, outros surtos foram relatados nos EUA (Florida e New Hampshire) e na Finlândia (Plutzer *et al.*, 2010). O maior surto relacionado com a água potável descrito até ao momento ocorreu na Noruega durante o outono e inverno de 2004, afetando cerca de 1500 pessoas (L J Robertson *et al.*, 2006).

A maioria dos surtos de giardiose em humanos transmitidos pela água ocorreram em superfícies não filtradas ou sistemas de águas subterrâneas com escoamento superficial, ou descargas de águas residuais. As águas de irrigação usadas para os cultivos agrícolas de alimentos que são tradicionalmente consumidos crus, também representam um elevado risco enquanto fonte de infeção por *Giardia* (R. C. A. Thompson, 2004). Os quistos excretados através das fezes podem contaminar a água diretamente ou indiretamente, sendo que a eliminação de resíduos humanos e de animais continua a ser um problema significativo de saúde pública que tem que ser controlado em diversas partes do mundo (Smith *et al.*, 2007).

Normalmente, as águas de superfície podem ser contaminadas através da descarga de água não tratada e/ou drenagem do solo urbano ou rural contendo fezes de animais. Grandes rios e lagos muitas vezes recebem tanto escoamento agrícola como esgoto doméstico tratado e não tratado (Plutzer *et al.*, 2010).

A contaminação de frutas, legumes e frutos do mar com quistos de *Giardia* é uma consideração importante a nível de saúde pública, pois estes alimentos são frequentemente consumidos crus, sem o processamento térmico, o que mantém os quistos viáveis (Plutzer *et al.*, 2010). Apesar da maioria dos surtos documentados de giardiose tenham sido atribuídos à contaminação direta por um manipulador de alimentos, dois surtos relatados indicam um papel de transmissão zoonótica, ou seja, o consumo de um pudim de natal contaminados com fezes de roedores e sopa feita de tripas de ovelhas infetados (Smith *et al.*, 2007) (tabela 17).

Tabela 17 Alguns surtos de origem alimentar documentados (tabela adaptada de Smith *et al.*, 2007)

Nº de pessoas infetadas	Comida contaminada	Possível fonte
3	Pudim de natal	Fezes de roedores
29	Salmão enlatado	Manipulador de alimentos
13	Salada de macarrão	Manipulador de alimentos
88	Sandwiches	-
10	Salada de fruta	Manipulador de alimentos
-	Sopa de tripas	Ovelhas infetadas
27	Gelo	Manipulador de alimentos
26	Legumes cortados	Manipulador de alimentos

10. Realidade em Portugal

Em Portugal, os estudos epidemiológicos realizados nos últimos anos são escassos. No entanto, desde 1990 que se tem vindo a estudar a frequência da giardiose em Portugal como mostra a tabela 18.

Tabela 18 Quadro resumo adaptado de Cruz, 2003)

Tamanho da amostra	Idade	Prevalência %	Referência
61	2 aos 6 anos	27,9	Sousa, 1990
49	7 aos 13 anos	12,2	Sousa <i>et al.</i> , 1990
695	6 aos 14 anos	9,1	Trinca <i>et al.</i> , 1990
339	1 aos 7 anos	24,2	Cabral <i>et al.</i> , 1991
200	3 aos 16 anos	11	Poiares da Silva, 1992

Outros estudos foram posteriormente publicados (tabela19). Pode-se dizer que a frequência da giardiose em Portugal varia entre 4% a 28%.

Tabela 19 Quadro resumo dos estudos posteriormente publicados

Tamanho da amostra	Idade	Prevalência %	Referência
471	Crianças escola primária	10,2	(Cruz, 2003)
190	Pessoas do centro paroquial (todas as idades)	4	(A. A. Almeida <i>et al.</i> , 2006)
29	Crianças dos 4 meses aos 3 anos	13,8	(Eduardo, 2008)
844	Crianças de centros de saúde incluídas no plano nacional de vacinação	6,9	(Júlio <i>et al.</i> , 2012)

É de notar que a prevalência diminui com o aumento da idade, sendo que os estudos que se restringem a idades até aos 7 anos têm as prevalências maiores (Sousa 1990; Cabral 1991, Eduardo 2008).

10.1 Caracterização genética de *Giardia lamblia* de origem humana em Portugal

No estudo realizado em 2006 por Sousa *et al.* isolaram *G. lamblia* por dois métodos moleculares: análise do gene *tpi* por PCR-RFLP e por análise da sequência do gene β -giardina, tanto no norte de Portugal como no centro. A análise do gene *tpi* por PCR-RFLP revelou 12 amostras positivas de 25 amostras analisadas, de assemblage A para *G. lamblia*, em que 7 amostras pertenciam ao sub-genótipo AI e 5 ao sub-genótipo AII. Pela análise da sequência do gene β -giardina, foram analisadas 29 amostras das quais 25 foram positivas para Assemblage A, e 100% das amostras pertenciam ao sub-genótipo AI. (Sousa *et al.*, 2006). O potencial zoonótico do genótipo AI parece prevalecer no norte de Portugal uma vez que todas as amostras dessa região eram do tipo AI. O genótipo A parece estar associado a infeções sintomáticas na população portuguesa, no entanto nenhuma das amostras pertencia ao genótipo B e por isso não se pode tirar conclusões definitivas. A análise da sequência do gene b-giardina parece ser um bom método de genotipagem para *G. lamblia*. (Sousa *et al.*, 2006) (tabela 20).

Tabela 20 Caracterização genética de *G. lamblia* por dois métodos moleculares

Origem dos isolados	Nº amostras	Nº amostras positivas	Genótipo AI	Genótipo AII
Análise do gene <i>tpi</i> por PCR-RFLP				
Norte Portugal	90	3	3	0
Centro Portugal		9	4	5
Análise da sequência do gene b-giardina *				
Norte Portugal	29	17	16	0
Centro Portugal		12	9	0

*a sequência não teve sucesso em 4 das 29 amostras analisadas.

Outro estudo realizado no norte de Portugal em 2006 (A. A. Almeida *et al.*, 2006) avaliou a prevalência de infeção por *G. lamblia* de 190 pessoas assintomáticas de um centro paroquial Português dedicado à solidariedade social. Das 190 pessoas

analisadas no estudo, 13 eram adultos que trabalhavam no centro paroquial, e as restantes eram crianças com menos de 12 anos. Os quistos de *Giardia* foram detetados em 7 (3,7%) de 190 amostras fecais (tabela 21). Este foi o primeiro estudo que avaliou a prevalência em pessoas assintomáticas em Portugal. As amostras fecais foram positivas para crianças assintomáticas com menos de 12 anos do centro paroquial, sendo que 5 das amostras pertenciam ao assemblage B (Almeida *et al.*, 2006).

Comparando este estudo com o anterior pode-se concluir que o assemblage A parece estar ligado às infeções sintomáticas, e o Assemblage B às infeções assintomáticas.

Tabela 21 Prevalência da infeção por *G. lamblia* em crianças assintomáticas (Almeida *et al.*, 2006).

IDADE		4 anos	5 anos	6 anos	10 anos
Nº de amostras positivas	7 (3,7%)	3	1	2	1
Assemblage A	AII	//			
	AIII				
Assemblage B	B				
	BI				
	4	1			

Um estudo mais recente realizado entre fevereiro de 2002 e outubro de 2008 (Júlio *et al.*, 2012) selecionou um total de 844 crianças nos centros de saúde no distrito de Lisboa. As crianças do estudo foram distribuídas por dois grupos etários. A infeção por *Giardia* foi diagnosticada por exame direto às fezes e pela deteção de antigénios pelo método de ELISA. A distribuição etária foi de 47,4% para o grupo dos 0 aos 5 anos e 52,6% para o grupo dos 6 aos 15 anos. A distribuição do género foi similar, cerca de 52,8% eram do sexo masculino, e os restantes do sexo feminino (tabela 22).

A prevalência da infeção foi menor pelo exame direto às fezes (1,9%), e aumentou 4,8% usando o método ELISA (6,7%). Assim sendo, quando somados todos os resultados positivos, a frequência de giardiose encontrada para a população em estudo é de 6,9%. A prevalência foi maior em crianças dos 0-5 anos e semelhante entre os sexos (Júlio *et al.*, 2012) (tabela 23).

Tabela 22 Distribuição da prevalência por faixa etária e género (Júlio *et al.*, 2012)

Prevalência da infecção 0-5 anos (%)	Prevalência da infecção 6-15 anos (%)	Prevalência da infecção no sexo feminino (%)	Prevalência da infecção no sexo masculino (%)
7,8	5,8	6,5	6,9

Tabela 23 Prevalência da infecção por *G.lamblia* usando o método ELISA e pelo exame direto das fezes (Júlio *et al.*, 2012)

Origem dos isolados	Nº amostras	Nº amostras positivas	Prevalência (%)
Exame direto às fezes			
Lisboa	844	16	1,9%
Deteção de antígenos pelo método ELISA			
Lisboa	844	54	6,7%
Total	844	58	6,9%

Neste estudo, foi ainda possível concluir que a maioria das crianças infetadas reside na zona urbana (7,1%; 42/594), sendo o número de crianças infetadas na zona rural consideravelmente mais baixo (6,4%; 16/250). Outros fatores de risco associados à frequência de giardiose neste estudo são:

- O nível de educação dos pais: crianças com mães e pais com baixo grau de escolaridade são mais susceptíveis de serem infetadas do que as crianças cujos pais têm algum grau de escolaridade;
- Crianças que vivem em habitações com instalações sanitárias ligadas à rede de esgotos encontram-se mais protegidas da infecção por *Giardia* em comparação com as que não possuem instalações sanitárias ligadas à rede de esgotos;
- Crianças que vivem com animais de companhia principalmente o cão apresentam maior probabilidade de serem infetadas;
- A presença de infecção causada por *Helicobacter pylori* aumenta a frequência de infecção por *Giardia*.

Por último, o estudo realizado por um aluno da Universidade de Aveiro (Eduardo, 2008) avaliou crianças com idade compreendida entre os 4 meses e os 3 anos

que frequentavam uma creche do Norte. Das 90 amostras fecais, 29 de origem humana, submetidas ao teste imunocromatográfico, 34 foram positivas. A prevalência da giardiose nas crianças do estudo foi de 13,8% (4/29). A identificação dos genótipos foi realizada pela técnica de PCR-RFLP através do fragmento 511 pb do gene da β -giardina, em que 32 (94,1%) pertencem ao genótipo A e 2 (5,9%) ao genótipo B.

10.2 Situação da prevalência em amostras de água

Para perceber a situação da contaminação da água por *Giardia*, Almeida *et al.*, recolheram amostras de água bruta e água potável de 5 bacias hidrográficas do norte de Portugal desde Janeiro de 2004 até Dezembro de 2006 (Minho, Lima, Cávado, Ave e Douro) (Andre Almeida *et al.*, 2010 a; André Almeida *et al.*, 2010 b).

Recolheram um total de 283 amostras de água bruta, sendo que 15,2% (43 de 283 amostras) foram positivas para quistos de *G. lamblia*. Estas regiões são muito ricas em fazendas de gado o que favorece o ciclo da *Giardia*. Para além disso as fezes são diretamente lançadas aos rios, e a água do rio é utilizada como água potável para fins agrícolas e para os animais, amplificando ainda mais o ciclo do parasita (Almeida *et al.*, 2010 a). A caracterização genética foi positiva em 8 amostras. O genótipo A foi positivo em 7 amostras por PCR (1 AI e 6 AII). A presença do sub-genótipo AI foi sugerido como um indicador de contaminação de água por gado, enquanto que o sub-genótipo AII foi considerado como potencial indicador de contaminação de água pelos humanos. No entanto, as amostras do norte do país o subgenótipo AI foi encontrado nos humanos, enquanto que subgenótipo AII foi encontrado nos bovinos. O genótipo B foi detetado em 4 das 8 amostras, e tem sido reportado como um genótipo zoonótico. A presença de quistos deste genótipo em amostras de água tem sido atribuída à contaminação da água por seres humanos. O genótipo E foi detetado em duas amostras associadas com os genótipos A e B, o que sugere fonte de contaminação mista entre humano e animal (André Almeida *et al.*, 2010 a).

Recolheram um total de 167 amostras de água potável, sendo que 10,2% (17 de 167 amostras) foram positivas para quistos de *G. lamblia*. As fontes de água potável incluem rios, reservatórios, canais ou reservatórios de terras baixas. Os agentes patogénicos podem entrar nessas águas superficiais a partir de resíduos agrícolas ou

urbanos, descargas de tratamento de esgotos causando um ciclo de infeção para os seres humanos e animais. Em Portugal, não existem requisitos para testar as águas superficiais para a presença dos parasitas, e é agora certo que através da análise destes surtos que se percebe que os patogénos podem passar para as águas recreativas e potáveis (Andre Almeida *et al.*, 2010 b).

Outro estudo realizado em Portugal (Lobo, Xiao, Antunes, & Matos, 2009) foram recolhidas 175 amostras de água. Os quistos viáveis de *Giardia* foram detetados em 20,3% das amostras de água bruta (14 de 69 amostras), e 17,9% das amostras de água tratada (19 de 106). Apenas o subgenótipo AI foi identificado numa única amostra de água.

10.3 Epidemiologia nos animais em Portugal

Os sinais clínicos de giardíase nos animais ocorrem principalmente em animais jovens e/ou animais que vivem num ambiente agrícola e/ou produção, onde os efeitos de superlotação, desmame e défice nutricional podem causar *stress* e exacerbar os efeitos de uma infeção (Paoletti *et al.*, 2011).

Um estudo realizado por Ferreira *et al.* (2011) examinou microscopicamente 148 amostras de fezes de animais de companhia (126 cães e 22 gatos) para detetar a presença de quistos de *Giardia*. A prevalência de *Giardia* em cães e gatos no distrito de Évora foi de 23% (34 de 148), sendo que a maioria dos animais infetados pertenciam ao canil. A caracterização molecular do parasita concluiu a presença de hospedeiros específicos (C e D) e genótipos zoonóticos (A e B). Foram amplificadas com sucesso 30 amostras, sendo que 15 amostras pertencem ao genótipo C, 12 ao genótipo D, 2 amostras ao genótipo A e uma ao genótipo B (tabela 24).

Tabela 24 Resultado da genotipagem das amostras positivas para quistos de *Giardia* (tabela adaptada de (Ferreira *et al.*, 2011))

Genótipo	Animal doméstico (n=2)		Canil (n=28)	
	Cão	Gato	Cão	Gato
A	0	0	0	2
B	0	0	1	0
C	0	0	15	0

D	2	0	10	0
F	0	0	0	0

Em cães, o elevado número de animais num espaço limitado contribui para a propagação destes parasitas, aumentando assim o risco de infeção. Como esses animais são muitas vezes realojados, eles representam um risco potencial para a saúde dos futuros donos (Paoletti *et al.*, 2008). Os cães e os gatos podem ter infeções assintomáticas ou podem ter diarreia devido à má digestão, má absorção e/ou aumento da motilidade (Ballweber *et al.*, 2010). Os resultados dos estudos da prevalência de *Giardia* são muitas vezes influenciados pela sensibilidade do método de diagnóstico utilizado e pelo número de amostras examinadas, devido à natureza intermitente da excreção dos quistos (R. C. A. Thompson, Palmer, & O’Handley, 2008).

Os animais de companhia são conhecidos por serem portadores dos genótipos zoonóticos como genótipos específicos (C. M. Read *et al.*, 2004; R. C. A. Thompson *et al.*, 2008). Como já referido anteriormente os genótipos C e D são específicos dos cães e o genótipo F é específico para gato, não sendo conhecidos por serem genótipos zoonóticos, e por isso em princípio não constituem preocupação a nível da saúde pública (Ferreira *et al.*, 2011). No entanto, alguns trabalhos sugerem que os cães e os gatos podem ocasionalmente ser infetados pelo genótipo A, e menos frequentemente pelo genótipo B (Ballweber *et al.*, 2010). Sendo assim, o facto dos genótipos A e B poderem infetar também os gatos e os cães põe em risco a saúde dos humanos devido à possibilidade de transmissão zoonótica (Jaros, Zygnier, Jaros, & Wedrychowicz, 2011).

Os profissionais de saúde devem portanto, estar cientes desta possibilidade e elucidar os clientes sobre a possível transmissão da *Giardia*, mas sem prejudicar o vínculo humano-animal (Ballweber *et al.*, 2010)

Entre janeiro de 2004 e julho de 2006 outro estudo foi realizado em Portugal por Mendonça *et al.* (2007), utilizando animais provenientes de explorações agrícolas das duas principais regiões de criação de gado do centro e norte de Portugal: “Beira Litoral” e “Entre Douro e Minho”, compreendendo uma população de aproximadamente 490 mil litros de leite e de carne de bovino. As amostras de fezes foram recolhidas de 66 propriedades leiteiras que variam entre 3 a 310 animais e, recolhidas de 30 explorações

agrícolas variando de 2 a 45 animais. Dos 467 animais, 291 eram bezerros e 176 eram animais adultos.

As amostras foram positivas para 14,1% dos bezerros estudados (41 de 291) e 0,57% para os bovinos (1 de 176). A caracterização molecular concluiu que 2 isolados pertenciam ao genótipo A2, 1 ao genótipo B e 11 ao genótipo E (Mendonça *et al.*, 2007). Os genótipos AII e B, anteriormente descritos em seres humanos, são aqui identificados em bovinos. Estes resultados também indicam uma maior prevalência nos bovinos mais jovens que nos adultos.

Há um potencial para os parasitas do género *Giardia* contaminarem as terras e águas de superfície das explorações agrícolas e culturas irrigadas, pelo fato dos resíduos fecais poderem contaminar a água para consumo humano e animal através das águas superficiais ou subterrâneas. A aplicação de estrume fresco para fertilizar os solos agrícolas também pode levar a uma contaminação da água para consumo humano, e para além disso, a água utilizada para irrigação/rega pode estar contaminada e espalhar-se para frutas e legumes (Mendonça *et al.*, 2007).

Estes resultados sugerem que o gado pode representar um potencial risco de contaminação ambiental. Outros estudos moleculares de águas superficiais das principais áreas de produção de gado são necessários para determinar a importância do gado na transmissão de *G. lamblia* aos seres humanos.

11. Conclusão

G. lamblia é o parasita intestinal com maior distribuição mundial (Mahdy *et al.*, 2009) com uma estimativa de 280 milhões novos casos por ano (Laishram & Kang, 2012). A giardiose, doença causada por este protozoário, é uma das principais causas de diarreia, que afeta milhões de pessoas em todo o mundo (Lucy J. Robertson *et al.*, 2010). Estão já identificadas diversas vias de transmissão, embora a infeção ocorra sobretudo pela ingestão de quistos veiculados pela água ou alimentos contaminados. A dose infetante para o Homem é relativamente baixa, variando entre os 10 a 100 quistos (Faubert, 2000; R. C. A. Thompson, 2004). Os quistos, formas de resistência, após serem excretados, são capazes de permanecer infecciosos durante 3 meses em condições extremas de pH e temperatura (Xiao & Fayer, 2008), contaminando o ambiente, produção agrícola, reservatórios de água de consumo humano e de zonas de recreio (Cacciò & Sprong, 2010; Faubert, 2000).

As manifestações clínicas da infeção por *G. lamblia* são muito variáveis e, vão desde infeção assintomática a infeção sintomática aguda ou crónica com diarreia, acompanhada ou não de síndrome de desidratação, malabsorção intestinal e perda de peso (Almirrall *et al.*, 2013; Lucy J. Robertson *et al.*, 2010). Os sintomas da fase aguda desaparecem na maior parte dos casos em poucos dias, no entanto cerca de 5-15% dos casos a fase aguda evolui para fase crónica (Almirrall *et al.*, 2013; Lucy J. Robertson *et al.*, 2010; Roxström-Lindquist *et al.*, 2006).

Este parasita tem uma ampla gama de hospedeiros, sendo frequentemente encontrado nos animais domésticos, especialmente em gado, cães e gatos, e em numerosas espécies de mamíferos selvagens e aves, embora o seu potencial patogénico seja melhor reconhecido em seres humanos (R. C. A. Thompson, 2004).

Para melhor compreender o mecanismo epidemiológico deste tipo de infeções, é necessário determinar se a *G. lamblia* tem a capacidade de infetar humanos através de uma via zoonótica e conseguir identificar os grupos de animais que possam intervir nesse processo, atuando como fontes e veículos de transmissão. A caracterização molecular de isolados de *G. lamblia* tem-se revelado uma ferramenta muito útil em todo este processo, permitindo de facto identificar os diferentes genótipos da espécie (L J Robertson *et al.*, 2006). Atualmente estão definidos 7 genótipos da *Giardia lamblia*, de

A a G, sendo que as infeções humanas são causadas principalmente pelos genótipos A e B (Laishram & Kang, 2012).

A prevalência da *G. lamblia* nos países em desenvolvimento pode atingir os 35% diminuindo no entanto este valor nos países desenvolvidos para 2 a 7,6%. A prevalência dos genótipos A e B varia geograficamente e dentro do mesmo país. O genótipo B para além de ser mais comum em muitas partes do mundo, é também mais específico para os humanos (Laishram & Kang, 2012). Diferentes estudos têm demonstrado que a prevalência de *G. lamblia* é maior em crianças do que em adultos, fator este associado à falta de conhecimento e de consciencialização das regras básicas de higiene, bem como devido à imaturidade do sistema imune nesta fase da vida (Yoder *et al.*, 2012).

Tem vindo a ser mais evidente que os sintomas da infeção por giardia podem estar mais associados a genótipos específicos, principalmente ao genótipo A (Laishram & Kang, 2012). No entanto, um estudo realizado por Breathnach *et al.* concluiu que o genótipo B está mais associado às infeções sintomáticas, havendo apenas diferenças em termos de presença de febre em que é mais prevalente no genótipo A (Breathnach *et al.*, 2010). A análise dos resultados atuais é inconclusiva, uma vez que ambos os genótipos são capazes de causar diarreia sintomática, e o mesmo genótipo é capaz de causar diferentes sintomas (Lucy J. Robertson *et al.*, 2010).

Em Portugal ainda são escassos os estudos desenvolvidos, no entanto já foram efetuados levantamentos epidemiológicos pontuais que sugeriram uma elevada frequência de *G. lamblia*, especialmente na população infantil. A frequência da giardiose em Portugal varia entre 4% a 28%. Os resultados obtidos nas amostras de água sugerem que a giardiose deve ser considerada um problema de grande importância na saúde pública no norte de Portugal (André Almeida *et al.*, 2010).

A giardiose é considerada uma infeção zoonótica, embora o papel dos animais na transmissão aos seres humanos ainda não esteja completamente esclarecida (Mendonça *et al.*, 2007).

Os fármacos de eleição para o tratamento da giardiose são o metronidazol e albendazol, sendo que ambos são comercializados em Portugal. De uma maneira geral, a prevenção inclui medidas sanitárias, educativas e de controlo da infeção de animais domésticos.

12. Bibliografia

- Abdel-Moneim SM, Sultan DM. (2008). Genetic characterization of *Giardia lamblia* isolates from Egyptian patients with relation to clinical giardiasis. *J Egypt Soc Parasitol.* 38:547–60
- Abboud, P., Lemée, V., Gargala, G., Brasseur, P., Ballet, J. J., Borsa-Lebas, F., Caron, F., Favennec, L. (2001). Successful treatment of metronidazole- and albendazole-resistant giardiasis with nitazoxanide in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Clinical infectious diseases*, 32(12), 1792–4
- Abou-Shady, O., El Raziky, M. S., Zaki, M. M., & Mohamed, R. K. (2011). Impact of *Giardia lamblia* on growth, serum levels of zinc, copper, and iron in Egyptian children. *Biological trace element research*, 140(1), 1–6.
- Adam, R. D. (2001). Biology of *Giardia lamblia*. *American Society for Microbiology*, 14(3), 447–475.
- Abboud, P., Lemée, V., Gargala, G., Brasseur, P., Ballet, J. J., Borsa-Lebas, F., Caron, F. Favennec, L. (2001). Successful treatment of metronidazole- and albendazole-resistant giardiasis with nitazoxanide in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Clinical infectious diseases*, 32(12), 1792–4
- Abou-Shady, O., El Raziky, M. S., Zaki, M. M., & Mohamed, R. K. (2011). Impact of *Giardia lamblia* on growth, serum levels of zinc, copper, and iron in Egyptian children. *Biological trace element research*, 140(1), 1–6
- Adam, R. D. (2001). Biology of *Giardia lamblia*. *American Society for Microbiology*, 14(3), 447–475
- Ajjampur, S. S. R., Sankaran, P., Kannan, A., Sathyakumar, K., Sarkar, R., Gladstone, B. P., & Kang, G. (2009). Short Report: *Giardia duodenalis* Assemblages Associated with Diarrhea in Children in South India Identified by PCR-RFLP. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 80(1), 16–19
- Almeida, A. A., Delgado, M. L., Soares, S. C., Castro, A. O., Moreira, M. J., Mendonça, C. M., Canada, N. B., Costa, J. M. C. (2006). Genotype analysis of *Giardia*

isolated from asymptomatic children in northern Portugal. *The Journal of eukaryotic microbiology*, 53(1), 177–8

Almeida, A., Moreira, M. J., Soares, S., Delgado, M. de L., Figueiredo, J., Silva, E., Castro, A., Costa, J. M. C. (2010). Presence of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in drinking water samples in the north of Portugal. *The Korean Journal of Parasitology*, 48(1), 91–95

Almeida, A., Moreira, M. J., Soares, S., Lurdes Delgado, M., Figueiredo, J., Silva, E., Castro, A., Costa, A. V., Correia da Costa, J. M. (2010). Biological and genetic characterization of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* isolates from five hydrographical basins in northern Portugal. *The Korean journal of parasitology*, 48(2), 105–11

Almerie, M. Q., Azzouz, M. S., Abdessamad, M. A., Mouchli, M. A., Sakbani, M. W., Alsibai, M. S., Alkafri, A., Ismail, M. T. (2008). Prevalence and risk factors for giardiasis among primary school children in Damascus, Syria. *Saudi medical journal*, 29(2), 234–40

Almirrall, P., Escobedo, A. A., Salazar, Y., Alfonso, M., Ávila, I., Cimerman, S., & Dawkins, I. V. (2013). Parental Perceptions of Giardiasis: A Study in an Outpatient Paediatric Hospital Setting in Havana, Cuba. *ISRN Preventive Medicine*, 1–9

Al-mohammed, H. I. (2011). Genotypes of *Giardia intestinalis* clinical isolates of gastrointestinal symptomatic and asymptomatic Saudi children. *Parasitology research*, 108, 1375–1381

Alyousefi, N. A., Mahdy, M. A. K., Xiao, L., Mahmud, R., Lim, Y. a L. (2013). Molecular characterization of *Giardia duodenalis* in Yemen. *Experimental parasitology*, 134(2), 141–7

Amar, C. F. L., Dear, P. H., & Mclauchlin, J. (2002). Sensitive PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Assay for Detection and Genotyping of *Giardia duodenalis* in Human Feces. *Journal of clinical Microbiology*, 40(2), 446–452

America, S., Minvielle, M. C., Molina, N. B., Polverino, D., Basualdo, J. A. (2008). First genotyping of *Giardia lamblia* from human and animal feces in Argentina, South America. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 103(1), 98–103

Andrade, E. C., Cristina, I., Leite, G., Rodrigues, V. D. O., Cesca, M. G. (2010). Intestinal parasitic diseases: a review of social, epidemiologic, clinical and therapeutic aspects. *Rev. APS, Juiz de Fora, 13*(2), 231–240

Anuar, T. S., Al-Mekhlafi, H. M., Ghani, M. K. A., Osman, E., Yasin, A. M., Nordin, A., Azreen, S. N., Salleh, F. Md., Ghazali, M. B., Moktar, N. (2012). Giardiasis among different tribes of Orang Asli in Malaysia: highlighting the presence of other family members infected with *Giardia intestinalis* as a main risk factor. *International journal for parasitology, 42*(9), 871–80

Argüello-García, R., Cruz-Soto, M., Romero-Montoya, L., Ortega-Pierres, G. (2004). Variability and variation in drug susceptibility among *Giardia duodenalis* isolates and clones exposed to 5-nitroimidazoles and benzimidazoles in vitro. *The Journal of antimicrobial chemotherapy, 54*(4), 711–21

Atherton, R., Bhavnani, D., Calvopiña, M., Vicuña, Y., Cevallos, W., & Eisenberg, J. (2013). Molecular identification of *Giardia duodenalis* in Ecuador by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 108*(4), 512–515

Aydin, A. F., Besirbellioglu, B. A., Avci, I. Y., Tanyuksel, M., Araz, E., & Pahsa, A. (2004). Classification of *Giardia duodenalis* parasites in Turkey into Groups A and B using restriction fragment length polymorphism. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, 50*, 147–151

Babaei, Z., Oormazdi, H., Akhlaghi, L., Rezaie, S., Razmjou, E., Arabshahi, SK. S., Meamar, AR., Hadighi, R. (2008). Molecular characterization of the Iranian isolates of *Giardia lamblia*: application of the glutamate dehydrogenase gene. *Iranian J Pub Health, 37*(2), 75–82

Bajer, A. (2008). *Cryptosporidium* and *Giardia* spp. infections in humans, animals and the environment in Poland. *Parasitology research, 104*(1), 1–17

Ballweber, L. R., Xiao, L., Bowman, D. D., Kahn, G., & Cama, V. A. (2010). Giardiasis in dogs and cats: update on epidemiology and public health significance. *Trends in parasitology, 26*(4), 180–9

- Berrilli, F., Di Cave, D., D’Orazi, C., Orecchia, P., Xhelilaj, L., Bejko, D., Çaçça, P., Bebeci, D., Cenko, F., Donia, D., Divizia, M. (2006). Prevalence and genotyping of human isolates of *Giardia duodenalis* from Albania. *Parasitology international*, 55(4), 295–7
- Bertrand, I., Albertini, L., Schwartzbrod, J. (2005). Comparison of Two Target Genes for Detection and Genotyping of *Giardia lamblia* in Human Feces by PCR and PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism. *Journal of clinical Microbiology*, 43(12), 5940–5944
- Boontanom, P., Mungthin, M., Tan-ariya, P., Naaglor, T., Leelayoova, S. (2011). Epidemiology of giardiasis and genotypic characterization of *Giardia duodenalis* in preschool children of a rural community , central Thailand. *Tropical Biomedicine*, 28(1), 32–39
- Botero-Garcés, J. H., García-Montoya, G. M., Grisales-Patiño, D., Aguirre-Acevedo, D. C., & Álvarez-Uribe, M. C. (2009). *Giardia intestinalis* and nutritional status in children participating in the complementary nutrition program, Antioquia, Colombia, May to October 2006. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 51(3), 155–162
- Breathnach, a S., McHugh, T. D., Butcher, P. D. (2010). Prevalence and clinical correlations of genetic subtypes of *Giardia lamblia* in an urban setting. *Epidemiology and infection*, 138(10), 1459–67
- Cacciò, S. M., Ryan, U. (2008). Molecular epidemiology of giardiasis. *Molecular and biochemical parasitology*, 160(2), 75–80
- Cacciò, S. M., Sprong, H. (2010). *Giardia duodenalis*: genetic recombination and its implications for taxonomy and molecular epidemiology. *Experimental parasitology*, 124(1), 107–12
- Cardona, G. A., Carabin, H., Goñi, P., Arriola, L., Robinson, G., Fernández-Crespo, J. C., Clavel, A., Chalmers, R. M., Carmena, D. (2011). Identification and molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* in children and cattle populations from the province of Álava, North of Spain. *The Science of the total environment*, 412-413, 101–8
- Castro, H. (2001). Giardíase: considerações práticas. *Rev Port Clin Geral*, 17, 57–61

- Ce, G., Reveiz, L., Lg, U., Cp, C. (2012). Drugs for treating giardiasis (Review), (12)
- Chin, A. C., Teoh, D. A., Scott, K. G., Meddings, B., Macnaughton, W. K., Buret, A. G., Meddings, J. B. (2002). Strain-Dependent Induction of Enterocyte Apoptosis by *Giardia lamblia* Disrupts Epithelial Barrier Function in a Caspase-3-Dependent Manner. *Infection and Immunity*, 70(7), 3673–3680
- Cooper, M. A., Sterling, C. R., Gilman, R. H., Cama, V., Ortega, Y., Adam, R. D. (2010). Molecular Analysis of Household Transmission of *Giardia lamblia* in a Region of High Endemicity in Peru. *The Journal of Infectious Diseases*, 202(11), 1713–1721
- Coradi, S., David, E., Oliveira-sequeira, T., Ribolla, P., Carvalho, T., Guimarães, S. (2011). Genotyping of Brazilian *Giardia duodenalis* human axenic isolates. *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 17(3), 353–357
- Cordón, G. P., Soldan, O. C. P., Vásquez, F. V., Soto, J. R. V., Bordes, L. S., Moreno, M. S., Rosales, M. J. (2008). Prevalence of enteroparasites and genotyping of *Giardia lamblia* in Peruvian children. *Parasitology research*, 103, 459–465
- Cruz, A. L. da S. (2003). *Parasitoses intestinais em crianças de idade escolar. Giardia lamblia: ciclo de vida e sensibilidade a antiparasitários*
- Culha, G., Sangün, M. K. (2007). Serum levels of zinc, copper, iron, cobalt, magnesium, and selenium elements in children diagnosed with *Giardia intestinalis* and *Enterobiosis vermicularis* in Hatay, Turkey. *Biological trace element research*, 118(1), 21–6
- Crotti, D., D’annibale, M.L., Fonzo, G., Lalle, M., Cacciò S.M., Pozio, E. (2005). *Dientamoeba fragilis* is more prevalent than *giardia duodenalis* in children and adults attending a day care centre in central Italy. *Parasite*, 12, 165–170
- Demirci, M., Delibas, N., Altuntas, I., Oktem, F., Yönden, Z. (2003). Serum iron, zinc and copper levels and lipid peroxidation in children with chronic giardiasis. *Journal of health, population, and nutrition*, 21(1), 72–5
- Dib, H. H., Lu, S. Q., Wen, S. F. (2008). Prevalence of *Giardia lamblia* with or without diarrhea in South East , South East Asia and the Far East. *Parasitology research*, 103, 239–251.

- Eckmann, L. (2003). Mucosal defences against Giardia. *Parasite immunology*, 25(5), 259–70
- Eduardo, J. M. da C. (2008). *Caracterização genética de Giardia lamblia de origem humana e animal em Portugal*
- Eligio-García, L., Cortes-Campos, A., Cota-Guajardo, S., Gaxiola, S., Jiménez-Cardoso, E. (2008). Frequency of Giardia intestinalis assemblages isolated from dogs and humans in a community from Culiacan, Sinaloa, Mexico using beta-giardin restriction gene. *Veterinary parasitology*, 156, 205–9
- El-Shazly AM, Mowafy N, Soliman M, (2004). Egyptian genotyping of Giardia lamblia. *J Egypt Soc Parasitol.* 34:265–80.
- EPA. (1999). Giardia: Risk for Infants and Children
- Ertan, P., Yereci, K., Kurt, O., Balcioglu, I. C., Onağ, A. (2002). Serological levels of zinc, copper and iron elements among Giardia lamblia infected children in Turkey. *Pediatrics international*, 44(3), 286–8
- Escobedo AA, Cimerman S. (2007). Giardiasis: a pharmacotherapy review. *Aug;8(12):1885-902*
- Faubert, G. (2000). Immune Response to Giardia duodenalis. *Clinical microbiology reviews*, 13(1), 35–54.
- Feng, Y., Xiao, L. (2011). Zoonotic potential and molecular epidemiology of Giardia species and giardiasis. *Clinical microbiology reviews*, 24(1), 110–40.
- Ferreira, F. S., Pereira-Baltasar, P., Parreira, R., Padre, L., Vilhena, M., Távora Tavira, L., Atouguia, J., Centeno-Lima, S. (2011). Intestinal parasites in dogs and cats from the district of Évora, Portugal. *Veterinary parasitology*, 179(1-3), 242–5.
- Flanagan, P. A. (1992). Giardia - diagnosis, clinical course and epidemiology. A review. *Epidemiology and infection*, 1–22.
- Ford, B. J. (2005). The Discovery of Giardia. *Microscope*, 53(4), 147–153.

- Foronda, P., Bargues, M. D., Abreu-Acosta, N., Periago, M. V., Valero, M. A., Valladares, B., Mas-Coma, S. (2008). Identification of genotypes of *Giardia intestinalis* of human isolates in Egypt. *Parasitology research*, *103*(5), 1177–81.
- Gardner, T. B., & Hill, D. R. (2001). Treatment of Giardiasis. *Clinical infectious diseases*, *14*(1), 114–128.
- Gelaneu, T., Lalle, M., Hailu, A., Pozio, E., Cacci, S. M. (2007). Molecular characterization of human isolates of *Giardia duodenalis* from Ethiopia. *Acta Tropica*, *102*, 92–99.
- Geurden, T., Levecke, B., Cacció, S. M., Visser, A., De Groote, G., Casaert, S., Vercruysse, J., Claerebout, E. (2009). Multilocus genotyping of *Cryptosporidium* and *Giardia* in non-outbreak related cases of diarrhoea in human patients in Belgium. *Parasitology*, *136*(10), 1161–8.
- Giacomo, M. De, Pozio, E., Caccio, S. M. (2002). Sequence analysis of the b-giardin gene and development of a polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism assay to genotype *Giardia duodenalis* cysts from human faecal samples. *International journal for parasitology*, *32*, 1023–1030.
- Graczyk, T. K., Bosco-Nizeyi, J., Ssebide, B., Thompson, R. C. A., Read, C., Cranfield, M. R. (2002). Anthropozoonotic *Giardia duodenalis* genotype (assemblage) a infections in habitats of free-ranging human-habituated gorillas, Uganda. *The Journal of parasitology*, *88*(5), 905–9.
- Guy, R. A., Xiao, C., Horgen, P. A. (2004). Real-Time PCR Assay for Detection and Genotype Differentiation of *Giardia lamblia* in Stool Specimens. *Journal of clinical Microbiology*, *42*(7), 3317–3320.
- Hanevik, K., Dizdar, V., Langeland, N., & Hausken, T. (2009). Development of functional gastrointestinal disorders after *Giardia lamblia* infection. *BMC gastroenterology*, *9*, 27.
- Haque, R., Roy, S., Kabir, M., Stroup, S. E., Mondal, D., & Houpt, E. R. (2005). *Giardia* Assemblage A Infection and Diarrhea in Bangladesh. *The Journal of Infectious Diseases*, *192*, 2171–2173.

- Hawrelak, J. (2003). Giardiasis: pathophysiology and management. *Alternative medicine review*, 8(2), 129–42.
- Helmy, M. M. F., Abdel-Fattah, H. S., & Rashed, L. (2009). Real-time pcr/rflp assay to detect giardia intestinalis genotypes in human isolates with diarrhea in Egypt. *American Society of Parasitologists*, 95(4), 1–5.
- Hill DR. (1993). Giardiasis. Issues Issues in diagnosis and management. *Infect Dis Clin North Am*. Sep;7(3):503-25.
- Homan, W. L., Mank, T. G. (2001). Human giardiasis: genotype linked differences in clinical symptomatology. *International journal for parasitology*, 31, 822–826.
- Hussein, A. I. A., Yamaguchi, T., Nakamoto, K., Iseki, M., Tokoro, M. (2009). Multiple-subgenotype infections of Giardia intestinalis detected in Palestinian clinical cases using a subcloning approach. *Parasitology International*, 58(3), 258–262.
- Ignatius, R., Gahutu, J. B., Klotz, C., Steininger, C., Shyirambere, C., Lyng, M., Musemakweri, A., Aebischer, T., Martus, P., Harmns, G., Mockenhaupt, F. P. (2012). High Prevalence of Giardia duodenalis Assemblage B Infection and Association with Underweight in Rwandan Children. *Neglected Tropical Diseases*, 6(6).
- Jaros, D., Zygnier, W., Jaros, S., Wedrychowicz, H. (2011). Detection of Giardia intestinalis assemblages A, B and D in domestic cats from Warsaw, Poland. *Polish journal of microbiology*, 60(3), 259–63.
- Johnston, S. P., Ballard, M. M., Beach, M. J., Causer, L., Wilkins, P. P. (2003). Evaluation of Three Commercial Assays for Detection of Giardia and Cryptosporidium Organisms in Fecal Specimens. *Journal of clinical Microbiology*, 41(2), 623–626.
- Júlio, C., Vilares, A., Oleastro, M., Ferreira, I., Gomes, S., Monteiro, L., Nunes, B., Tenreiro, R., Angelo, H. (2012). Prevalence and risk factors for Giardia duodenalis infection among children: a case study in Portugal. *Parasites & vectors*, 5, 22.
- Karakas, Z., Demirel, N., Tarakcioglu, M., & Mete, N. (2001). Serum zinc and copper levels in southeastern Turkish children with giardiasis or amebiasis. *Biological trace element research*, 84(1-3), 11–8.

- Karanis, P., Kourenti, C., & Smith, H. (2007). Waterborne transmission of protozoan parasites: A worldwide review of outbreaks and lessons learnt. *Journal of Water and Health*, 5(1), 1.
- Kohli, A., Bushen, O. Y., Pinkerton, R. C., Houpt, E., Newman, R. D., Sears, C. L., Lima, A. A. M., Guerrant, R. L. (2008). *Giardia duodenalis* assemblage, clinical presentation and markers of intestinal inflammation in Brazilian children. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 102(7), 718–725.
- Kosuwin, R., Putaporntip, C., Pattanawong, U., Jongwutiwes, S. (2010). Clonal diversity in *Giardia duodenalis* isolates from Thailand: Evidences for intragenic recombination and purifying selection at the beta giardin locus. *Gene*, 449, 1–8.
- Laishram, S., Kang, G. (2012). Giardiasis: A review on assemblage distribution and epidemiology in India. *Indian J Gastroenterol*, 31(1), 3–12.
- Lalle, M., Bruschi, F., Castagna, B., Campa, M., Pozio, E., Cacciò, S. M. (2009). High genetic polymorphism among *Giardia duodenalis* isolates from Sahrawi children. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 103(8), 834–8.
- Lalle, M., Jimenez-Cardosa, E., Caccio, S. M., Pozio, E. (2005). Genotyping of *Giardia duodenalis* From Humans and Dogs From Mexico Using a b-Giardin Nested Polymerase Chain Reaction Assay. *The Journal of parasitology*, 91(1), 203–205.
- Lalle, M., Pozio, E., Capelli, G., Bruschi, F., Crotti, D., Caccio, S. M. (2005). Genetic heterogeneity at the b -giardin locus among human and animal isolates of *Giardia duodenalis* and identification of potentially zoonotic subgenotypes. *International Journal for Parasitology*, 35, 207–213.
- Langford, T. D., Housley, M. P., Boes, M., Chen, J., Kagnoff, M. F., Gillin, F. D., Eckmann, L. (2002). Central Importance of Immunoglobulin A in Host Defense against *Giardia* spp. *Infection and Immunity*, 70(1), 11–18.
- Langkjaer, R. B., Vigre, H., Enemark, H. L., Maddox-Hyttel, C. (2007). Molecular and phylogenetic characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* from pigs and cattle in Denmark. *Parasitology*, 134(Pt 3), 339–50.

- Lebbad, M., Ankarklev, J., Tellez, A., Leiva, B., Andersson, J. O., Svärd, S. (2008). Dominance of *Giardia* assemblage B in León , Nicaragua. *Acta Tropica*, 106, 44–53.
- Libman, M. D., Gyorkos, T. W., Kokoskin, E., Maclean, J. D. (2008). Detection of pathogenic protozoa in the diagnostic laboratory: result reproducibility, specimen pooling, and competency assessment. *Journal of clinical microbiology*, 46(7), 2200–5.
- Lobo, M. L., Xiao, L., Antunes, F., Matos, O. (2009). Occurrence of *Cryptosporidium* and *Giardia* genotypes and subtypes in raw and treated water in Portugal. *The society for Applied Microbiology*, 48(6), 732–7.
- Longstreth, G. F., Thompson, W. G., Chey, W. D., Houghton, L. a, Mearin, F., Spiller, R. C. (2006). Functional bowel disorders. *Gastroenterology*, 130, 1480–91.
- Lynne, S. G., Shimizu, R. Y., Novak, S., Carroll, M., Chan, F. (2003). Commercial Assay for Detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum* Antigens in Human Fecal Specimens by Rapid Solid-Phase Qualitative Immunochromatography. *Journal of clinical Microbiology*, 41(1), 209–212.
- Mahdy, A. K. M., Surin, J., K.L.Wan, Mohd-Adnan, Al-Mekhlafi, M. S. H., Lim, Y. A. L. (2009). *Giardia intestinalis* genotypes: Risk factors and correlation with clinical symptoms. *Acta tropica*, 112(1), 67–70.
- Maikai, B. V, Umoh, J. U., Lawal, I. A., Kudi, A. C., Ejembi, C. L., Xiao, L. (2012). Molecular characterizations of *Cryptosporidium*, *Giardia*, and *Enterocytozoon* in humans in Kaduna State, Nigeria. *Experimental Parasitology*, 131, 452–456.
- Mank, T. G., Vries, A. De, Roos, M., Wielinga, P., Kortbeek, L. M., Surveillance, D. (2006). Genotyping of *Giardia* in Dutch patients and animals: A phylogenetic analysis of human and animal isolates, 36(7), 849–858.
- Marangi, M., Berrilli, F., Otranto, D., Giangaspero, A. (2010). Genotyping of *Giardia duodenalis* Among Children and Dogs in a Closed Socially Deprived Community From Italy. *Zoonoses and Public Health Short*, 57, 54–58.
- Mendonça, C., Almeida, A., Castro, A., de Lurdes Delgado, M., Soares, S., da Costa, J. M. C., Canada, N. (2007). Molecular characterization of *Cryptosporidium* and *Giardia* isolates from cattle from Portugal. *Veterinary parasitology*, 147(1-2), 47–50.

- Molina, N., Pezzani, B., Ciarmela, M., Orden, A., Rosa, D., Basualdo, J., Minvielle, M. (2011). Intestinal parasites and genotypes of *Giardia intestinalis* in school children from Berisso, Argentina. *J Infect Dev Ctries*, 5(7), 527–534.
- Monis, P. T., Caccio, S. M., Thompson, R. C. A. (2009). Variation in *Giardia*: towards a taxonomic revision of the genus. *Trends in parasitology*, 25(2), 93–100.
- Mørch, K., Hanevik, K., Rortveit, G., Wensaas, K.-A., Eide, G. E., Hausken, T., Langeland, N. (2009). Severity of *Giardia* infection associated with post-infectious fatigue and abdominal symptoms two years after. *BMC infectious diseases*, 9, 206.
- Mutapi, F., Billingsley, P. F., Secor, W. E. (2013). Infection and treatment immunizations for successful parasite vaccines. *Trends in parasitology*, 29(3), 135–41.
- Nash, T. E., Ohl, C. a, Thomas, E., Subramanian, G., Keiser, P., Moore, T. a. (2001). Treatment of patients with refractory giardiasis. *Clinical infectious diseases*, 33(1), 22–8.
- Neghina, R., Dumitrascu, V., Neghina, A. M., Vlad, D. C., Petrica, L., Vermesan, D., Tirnea, L., Mazilu, O., Olariu, T. R. (2013). Epidemiology of ascariasis, enterobiasis and giardiasis in a Romanian western county (Timis), 1993-2006. *Acta tropica*, 125(1), 98–101.
- Noyer, C. M., Brandt, L. J. (1999). Parasitic infections of the gastrointestinal tract. *Current gastroenterology reports*, 1(4), 282–91.
- Olson, M. E., Morck, D. W., Ceri, H. (1996). The efficacy of a *Giardia lamblia* vaccine in kittens. *Canadian journal of veterinary research*, 60(4), 249–56.
- Ongerth, J. E. (2013). The concentration of *Cryptosporidium* and *Giardia* in water - the role and importance of recovery efficiency. *Water research*, 47(7), 2479–88.
- Ortega, Y. R., Adam, R. D. (1997). *Giardia* : Overview and Update. *Clinical infectious diseases*, 25, 545–549.
- Paoletti, B., Otranto, D., Weigl, S., Giangaspero, A., Di Cesare, A., Traversa, D. (2011). Prevalence and genetic characterization of *Giardia* and *Cryptosporidium* in cats from Italy. *Research in veterinary science*, 91(3), 397–9.

Paul S. Auerbach (2012). *Wilderness Medicine*. Cap 68, Elsevier

Pelayo, L., Nuñez, F. a, Rojas, L., Furuseth Hansen, E., Gjerde, B., Wilke, H., Mulder, B., Robertson, L. (2008). Giardia infections in Cuban children: the genotypes circulating in a rural population. *Annals of tropical medicine and parasitology*, 102(7), 585–95.

Pestehchian, N., Rasekh, H., Babaei, Z., Yousefi, H. A., Eskandarian, A. A., Kazemi, M., Akbari, M. (2012). Identification of genotypes of Giardia duodenalis human isolates in Isfahan, Iran, using polymerase chain reaction - Restriction Fragment Length polymorphism. *Advanced biomedical research*, 1(2), 1–6.

Plutzer, J., Ongerth, J., Karanis, P. (2010). Giardia taxonomy, phylogeny and epidemiology: Facts and open questions. *International journal of hygiene and environmental health*, 213(5), 321–33.

Ponce-Macotela, M., Martínez-Gordillo, M. N., Bermúdez-Cruz, R. M., Salazar-Schettino, P. M., Ortega-Pierres, G., Ey, P. L. (2002). Unusual prevalence of the Giardia intestinalis A-II subtype amongst isolates from humans and domestic animals in Mexico. *International Journal for Parasitology*, 32, 1201–1202.

Qader, A. M., Bakir, T. Y. (2011). Molecular Identification of Giardia duodenalis Parasite Isolates from Human by Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism Technique (PCR-RFLP) in Baghdad Province, 7(October), 54–66.

Ratanapo, S., Mungthin, M., Soontrapa, S., Faithed, C., & Siripattanapipong, S. (2008). Multiple Modes of Transmission of Giardiasis in Primary Schoolchildren of a Rural Community, Thailand. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 78(4), 611–615.

Ravid, Z., Duque, S., Arévalo, A., & Nicholls, R. S. (2007). Genetic diversity of Giardia intestinalis populations in Colombia. *Biomédica*, 27(1), 34–41.

Rayani, M., Unyah, N. Z., Hatam, G. R., Abdullah, W. O., Hamat Awang, R. (2012). Prevalence and molecular genotypic characterization of Giardia duodenalis isolates from Iranian patients (Fars province). *Parasitology & Parasitic Infections*, 165, 173.

Read, C. M., Monis, P. T., Thompson, R. C. A. (2004). Discrimination of all genotypes of *Giardia duodenalis* at the glutamate dehydrogenase locus using PCR-RFLP. *Infection, Genetics and Evolution*, 4, 125–130.

Read, C., Walters, J., Robertson, I. D., Thompson, R. C. A. (2002). Correlation between genotype of *Giardia duodenalis* and diarrhoea. *International journal for parasitology*, 32, 229–231.

Robertson, L J, Forberg, T., Hermansen, L., Gjerde, B. K., Langeland, N. (2007). Molecular characterisation of *Giardia* isolates from clinical infections following a waterborne outbreak. *Journal of Infection*, 55, 79–88.

Robertson, L J, Hermansen, L., Gjerde, B. K., Strand, E., Langeland, N., Alvsva, J. O. (2006). Application of Genotyping during an Extensive Outbreak of Waterborne Giardiasis in Bergen, Norway, during Autumn and Winter 2004. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(3), 2212–2217.

Robertson, Lucy J., Hanevik, K., Escobedo, A. A., Mørch, K., Langeland, N. (2010). Giardiasis - why do the symptoms sometimes never stop? *Trends in parasitology*, 26(2), 75–82.

Roxström-Lindquist, K., Palm, D., Reiner, D., Ringqvist, E., Svärd, S. G. (2006). *Giardia* immunity - an update. *Trends in parasitology*, 22(1), 26–31.

Sagebiel, D., Weitzel, T., Stark, K., Leitmeyer, K. (2009). Giardiasis in kindergartens: prevalence study in Berlin, Germany, 2006. *Parasitology research*, 105(3), 681–7.

Sahagún, J., Clavel, A., Goñi, P., Seral, C., Llorente, M. T., Castillo, F. J., Capilla, S., Arias, A., Gómez-Lus, R. (2008). Correlation between the presence of symptoms and the *Giardia duodenalis* genotype. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 27(1), 81–3.

Sarkari, B., Ashrafmansori, A., Hatam, G. R., Motazedian, M. H., Asgari, Q., Mohammadpour, I. (2012). Genotyping of *Giardia lamblia* isolates from human in southern Iran. *Tropical Biomedicine*, 29(3), 366–371.

Schuurman, T., Lankamp, P., Van Belkum, A., Kooistra-Smid, M., Van Zwet, A. (2007). Comparison of microscopy, real-time PCR and a rapid immunoassay for the

detection of *Giardia lamblia* in human stool specimens. *Clinical microbiology and infection Diseases*, 13(12), 1186–91.

Seow, C., Mahdy, M. A. K., Al-mekhlafi, H. M., Nasr, N. A., Lim, Y. A. L., Mahmud, R., & Surin, J. (2013). Multilocus genotyping of *Giardia duodenalis* in Malaysia. *Infection, Genetics and Evolution*, 17, 269–276.

Singh, A., Janaki, L., A., W. P. J., & Houpt, E. R. (2009). *Giardia intestinalis* Assemblages A and B Infections in Nepal. *Am J Trop Med Hyg.*, 81(3), 538–539.

Smith, H. V, Cacciò, S. M., Cook, N., Nichols, R. a B., & Tait, A. (2007). *Cryptosporidium* and *Giardia* as foodborne zoonoses. *Veterinary parasitology*, 149(1-2), 29–40.

Snel, S. J., Baker, M. G., Venugopal, K. (2009). The epidemiology of giardiasis in New Zealand, 1997–2006. *Journal of the New Zealand Medical Association The*, 122(1290), 62–75.

Sousa, M. C., Morais, J. B., Machado, J. E., Poiares-da-Silva, J. (2006). Genotyping of *Giardia lamblia* human isolates from Portugal by PCR-RFLP and sequencing. *The Journal of eukaryotic microbiology*, 53(1), S174–6.

Souza, L. P., Gennari, S. M., Richtzenhain, L. J., Soares, R. M. (2007). Molecular identification of *Giardia duodenalis* isolates from humans , dogs , cats and cattle from the state of São Brazil, by sequence analysis of fragments of glutamate dehydrogenase (gdh) coding gene. *Veterinary parasitology*, 149, 258–264.

Speich, B., Marti, H., Ame, S. M., Ali, S. M., Bogoch, I. I., Utzinger, J., Albonico, M., Keiser, J. (2013). Prevalence of intestinal protozoa infection among school-aged children on Pemba Island, Tanzania, and effect of single-dose albendazole, nitazoxanide and albendazole-nitazoxanide. *Parasites & vectors*, 6(3), 1–8.

Stark, D., Barratt, J. L. N., van Hal, S., Marriott, D., Harkness, J., & Ellis, J. T. (2009). Clinical significance of enteric protozoa in the immunosuppressed human population. *Clinical microbiology reviews*, 22(4), 634–50.

Sulaiman, I. M., Fayer, R., Bern, C., Gilman, R. H., Trout, J. M., Schantz, P. M., Das, P., Lal, A. A., Xiao, L. (2003). Triosephosphate Isomerase Gene Characterization and

Potential Zoonotic Transmission of *Giardia duodenalis*. *Emerging Infectious Diseases*, 9(11), 15–17.

Sullivan, P. B., Marsh, M. N., Phillips, M. B., Dewit, O., Neale, G., Cevallos, A. M., Yamson, P., Farthing, M. J. (1990). Prevalence and treatment of giardiasis in chronic diarrhoea and malnutrition. *Archives of disease in childhood*, 66(3), 304–6.

Thompson, R. C. (2000). Giardiasis as a re-emerging infectious disease and its zoonotic potential. *International journal for parasitology*, 30, 1259–67.

Thompson, R. C. A. (2004). The zoonotic significance and molecular epidemiology of *Giardia* and giardiasis. *Veterinary parasitology*, 126(1-2), 15–35.

Thompson, R. C. A., Palmer, C. S., O’Handley, R. (2008). The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. *Veterinary journal (London, England : 1997)*, 177(1), 18–25.

Traub, R. J., Monis, P. T., Robertson, I., Irwin, P., Mencke, N. (2004). Epidemiological and molecular evidence supports the zoonotic transmission of *Giardia* among humans and dogs living in the same community. *Parasitology*, 128, 253–262.

Tungtrongchitr, A., Sookrung, N., Indrawattana, N., Kwangsi, S. (2010). *Giardia intestinalis* in Thailand: Identification of Genotypes. *Journal of health, population, and nutrition*, 28(1), 42–52.

Volotão, A. C., Costa-macedo, L. M., Haddad, F. S. M., Brand, A., Peralta, J. M., Fernandes, O. (2007). Genotyping of *Giardia duodenalis* from human and animal samples from Brazil using b-giardin gene: A phylogenetic analysis. *Acta Tropica*, 102, 10–19.

Wang, R., Zhang, X., Zhu, H., Zhang, L., Feng, Y., Jian, F., Ning, C., Qi, M., Zhou, Y, Fu, K., Wang, Y., Sun, Y., Wang, Q., Xiao, L. (2011). Genetic characterizations of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* in humans in Henan, China. *Experimental Parasitology*, 127(1), 42–45.

Wensaas, K.-A., Langeland, N., Hanevik, K., Mørch, K., Eide, G. E., & Rortveit, G. (2012). Irritable bowel syndrome and chronic fatigue 3 years after acute giardiasis: historic cohort study. *Gut*, 61(2), 214–9.

Winkworth, C. L., Learmonth, J. J., Christoph, D., Townsend, C. R., & Matthaei, C. D. (2008). Molecular Characterization of Giardia Isolates from Calves and Humans in a Region in Which Dairy Farming Has Recently Intensified. *Applied and Environmental Microbiology*, 74(16), 5100–5105.

Wolfe, M. S. (1992). Giardiasis. *Clinical microbiology reviews*, 5(1), 93–100.

Www.ecdc.europa.eu. (2010). Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe 2010. *European centre for disease prevention and control*, 75–77.

www.ecdc.europa.eu. (2011). Annual epidemiological report 2011. *European centre for disease prevention and control*, 87–89.

Xiao, L., & Fayer, R. (2008). Molecular characterisation of species and genotypes of Cryptosporidium and Giardia and assessment of zoonotic transmission. *International journal for parasitology*, 38(11), 1239–55.

Yakoob, J., Jafri, W., Abid, S., Jafri, N., Hamid, S., Shah, H. A., Rizvi, L., Islam, M., Shaikh, H. (2005). Giardiasis in patients with dyspeptic symptoms. *World journal of gastroenterology : WJG*, 11(42), 6667–70.

Yang, R., Lee, J., Ng, J., & Ryan, U. (2010). High prevalence Giardia duodenalis assemblage B and potentially zoonotic subtypes in sporadic human cases in Western Australia. *International journal for parasitology*, 40(3), 293–7.

Yason, J. A. D. L., & Rivera, W. L. (2007). Genotyping of Giardia duodenalis isolates among residents of slum area in Manila, Philippines. *Parasitology research*, 101, 681–7.

Yoder, J. S., Gargano, J. W., Wallace, R. M., & Beach, M. J. (2012). Giardiasis Surveillance — United States, 2009 – 2010. *Surveillance Summaries Giardiasis*, 61(5), 13–23.

Yong, T.-S., Park, S.-J., Hwang, U.-W., Yang, H.-W., Lee, K.-W., Min, D.-Y., Rim, H.-J., Wang, Y., Zheng, F. (2000). Genotyping of Giardia lamblia Isolates from Humans in China and Korea Using Ribosomal DNA Sequences. *Journal of Parasitology*, 86(4), 887–891.

Yousef, M. I., El-Hendy, H. a, El-Demerdash, F. M., & Elagamy, E. I. (2002). Dietary zinc deficiency induced-changes in the activity of enzymes and the levels of free radicals, lipids and protein electrophoretic behavior in growing rats. *Toxicology*, 175(1-3), 223–34