

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

U LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



**PANORAMA DO PARASITISMO EM CÃES DE CANIL E EXTERIOR DO CONCELHO
DE VISEU, PORTUGAL**

SARA FRANCISCA JESUS ROCHA

ORIENTADOR:

Doutor David Wilson Russo Ramilo

CO-ORIENTADORA:

Doutora Isabel Maria Soares Pereira da
Fonseca de Sampaio

2022

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE
DE LISBOA



**PANORAMA DO PARASITISMO EM CÃES DE CANIL E EXTERIOR DO CONCELHO
DE VISEU, PORTUGAL**

SARA FRANCISCA JESUS ROCHA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE: Doutor José Augusto Farraia e
Silva Meireles

ORIENTADOR:

Doutor David Wilson Russo Ramilo

VOGAIS: Doutora Ana Rita Barroso Cunha de
Sá Henriques

Doutor David Wilson Russo Ramilo

CO-ORIENTADORA:

Doutora Isabel Maria Soares Pereira da
Fonseca de Sampaio

2022

DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA TESE OU DISSERTAÇÃO

Nome: Sara Francisca Jesus Rocha

Título da Tese ou Dissertação: PANORAMA DO PARASITISMO EM CÃES DE CANIL E EXTERIOR, DO CONCELHO DE VISEU, PORTUGAL

Ano de conclusão: 2022

Designação do curso de Mestrado ou de Doutoramento: Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

Clínica

Produção Animal e Segurança Alimentar

Morfologia e Função

Sanidade Animal

Declaro sob compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBOA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

1. Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
2. Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de 6 meses, 12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial*;

*Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

1. É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 6 de Julho de 2022

Assinatura:

SARA FRANCISCA JESUS ROCHA

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, cabe-me agradecer a todas as pessoas que de alguma maneira estiveram envolvidas neste projeto. Ao meu orientador, Professor David Ramilo - nunca terei a sua capacidade para me expressar em palavras, mas estou sinceramente agradecida por me ter acolhido neste percurso e por tudo o que se dispôs a partilhar comigo.

À Professa Isabel Fonseca, pela coorientação, disponibilidade e sabedoria que tranquilamente sempre me transmitiu.

À Doutora Lídia pela paciência, pelo conhecimento científico, pela cultura e pela arte. E ao CIISA, pelo financiamento que possibilitou a realização do estudo que culminou na escrita desta dissertação de mestrado.

Aos meus companheiros de laboratório, Ana Filipe, André Gomes, Joana Sequeira, Jorge Silva e Pedro Costa (e a ocasionalmente infiltrada, Daniela Silva) – obrigada por tudo! Uma vez que esta dissertação é o culminar do meu percurso académico na FMV-UL, tenho que realçar aqueles que me acompanharam de perto nesta viagem, que foi o curso de Medicina Veterinária. Bia, Bea, Catarina, César, Ruanita, Joana e Sofia. Bea Fernandes, um obrigada gigante. Obrigada pela amizade, pelo companheirismo, pela presença em tempos de desespero. Descobrimos Lisboa juntos e o carinho que tenho por esta cidade será sempre acompanhado pelas bonitas memórias que construímos nela.

À minha família académica, Inês Saraiva, Inês Silva, Sara Sequeira, Catarina Anastácio, Ana Valadas e, especialmente, ao Gonçalo Reis. Obrigada pela oportunidade de viver a tradição académica convosco, obrigada pelos conselhos e pela companhia. Gonçalo, um obrigado do tamanho do mundo, não me imagino a percorrer este caminho sem ti.

De seguida, os meus amigos de casa, que me fazem sentir tão especial e afortunada, por poder partilhar a vida com eles – André Santos, Beatriz Martinho, Catarina Aguiar, Carolina Santos, Filipe Ferreira, Joana Martins, Joana Monteiro, Margarida Lourenço e Sofia Oliveira. Adoro-vos. O André merece uma frase só para ele, partilhámos Viseu e Lisboa, o conforto de casa e a excitação de estar fora. Foi e é um amigo precioso.

Não me esqueço da minha família, somos tantos, que gastaria uma página a mencioná-los individualmente, mas destaco obviamente os meus pais, cujo apoio financeiro e emocional me permitiu estudar a 300 km de casa. Mãe, que tantas lágrimas viste e ouviste em épocas de exames, obrigada! À Bárbara e à Maria João, que privilégio é crescer com primas que se tornam amigas e confidentes na vida adulta. Ao Xano que durante o período de escrita desta dissertação, se tornou um amigo extremamente importante.

E finalmente, um agradecimento sentido aos que, neste momento, são a minha família veterinária, ao CAAV e a todo o seu corpo clínico e técnico- à Dr^a Margarida, ao Alex, à Andreia, à Arminda, à Beatriz, ao Dr Carlos, à Catarina, à Jéssica, à Maria, à Patrícia, à Sónia, à Tânia e, especialmente, ao Filipe, que se tornou um grande amigo.

PANORAMA DO PARASITISMO EM CÃES DE CANIL E EXTERIOR DO CONCELHO DE VISEU, PORTUGAL

Resumo

As populações animal e humana encontram-se epidemiologicamente ligadas e as zoonoses caninas representam um risco real para a saúde humana, especialmente quando existe uma permanente pressão de transmissão nas populações animais, como no caso dos animais errantes e residentes em canil. A falta de medidas preventivas e o controlo efetivo de doenças parasitárias continua a ser também um grande problema em cães com detentores, particularmente em áreas rurais, onde a maior parte dos animais permanece no exterior.

Este estudo teve como objetivos a identificação de endoparasitas (dos aparelhos gastrointestinal e respiratório e hemoparasitas) e ectoparasitas em cães errantes, cães com residência permanente em canil e cães de exterior com detentores, do concelho de Viseu, assim como a determinação da população parasitária zoonótica, avaliando o seu interesse para a saúde pública.

Foram recolhidas e analisadas laboratorialmente amostras fecais de 60 animais, amostras sanguíneas de 41 e em 63 foram pesquisados ectoparasitas.

Observaram-se formas parasitárias em 33,33% das amostras fecais analisadas, tendo sido identificados os parasitas gastrointestinais *Ancylostoma caninum*, *Toxocara canis*, *Trichuris vulpis*, *Uncinaria stenocephala*, *Dipylidium caninum*, *Cystoisospora* spp e *Giardia* spp.

A pesquisa de ectoparasitas permitiu a identificação de 19,05% de animais parasitados, tendo sido observados os géneros *Rhipicephalus*, *Ixodes*, *Pulex*, *Dermacentor* e a espécie *Ctenocephalides canis*.

A observação dos esfregaços sanguíneos resultou na deteção de *Mycoplasma haemocanis* em apenas num animal e a realização de testes serológicos para deteção de *L. infantum* nos cães errantes incluídos neste estudo sinalizaram anticorpos anti-*Leishmania* num animal. Dos catorze agentes identificados, doze têm potencial para infectar o ser humano. Percebe-se, desta forma, a importância da existência de medidas preventivas contra ectoparasitas e endoparasitas, em espaços que albergam grandes populações de animais, como canis, e da educação dos detentores de populações mais rurais relativamente aos riscos associados à falta destas mesmas medidas preventivas nos seus animais de companhia.

Palavras-chave: Endoparasitas, ectoparasitas, Viseu, zoonoses, cães

PARASITISM PROFILE OF KENNEL AND OUTDOOR DOGS IN VISEU MUNICIPALITY, PORTUGAL

Abstract

Animal and human populations are epidemiologically linked and canine zoonoses represent a serious hazard for human health, especially when there is a permanent pressure of transmission in animal populations, as in stray and kennel dogs). The lack of preventive measures and the effective control of parasitic diseases also remains a major problem in dogs with guardians, particularly in rural areas, where most animals stay outdoors.

This study aimed to identify endoparasites (from the gastrointestinal and respiratory systems and hemoparasites) and ectoparasites in stray dogs, dogs with permanent residence in kennels and outdoor dogs with owners, from Viseu municipality, as well as the determination of the zoonotic parasitic population, assessing its public health interest.

Fecal samples from 60 animals and blood samples from 41 were collected and analyzed in the laboratory. Sixty-three dogs were checked for ectoparasite presence. Parasitic forms were observed in 33.33% of the fecal samples, with identification of *Ancylostoma caninum*, *Toxocara canis*, *Trichuris vulpis*, *Uncinaria stenocephala*, *Dipylidium caninum*, *Cystoisospora* spp and *Giardia* spp.

The search for ectoparasites allowed the identification of 19,05% of parasitized animals, having been observed the genera *Rhipicephalus*, *Ixodes*, *Pulex*, *Dermacentor* and species *Ctenocephalides canis*. The microscopic observation of blood smears resulted in the detection of *Mycoplasma haemocanis* in only one animal and the performance of serological tests to detect *L. infantum* in the stray dogs included in this study only signalled antibodies anti-*Leishmania* in one animal.

Of the fourteen agents identified, twelve have the potential to infect humans. Thus, the importance of the existence of preventive measures against ectoparasites and endoparasites, in spaces that house large groups of animals, such as kennels, and of the education of tutors of rural areas regarding the risks associated with the lack of these preventive measures in their pets.

Keywords: endoparasites, ectoparasites, Viseu, zoonoses, dogs

Índice

1. Introdução.....	1
2. Atividades desenvolvidas durante o estágio.....	2
2.1. Estágio extracurricular na Clínica do Cantinho dos Animais Abandonados de Viseu.....	2
2.2. Estágio extracurricular no Cantinho dos Animais Abandonados de Viseu.....	2
2.3. Estágio curricular no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.....	3
3. Revisão bibliográfica.....	4
3.1. Endoparasitas.....	4
3.1.1. Endoparasitas do Aparelho Gastrointestinal.....	4
3.1.1.1. Nematodes.....	4
3.1.1.1.1. <i>Ancylostoma caninum</i>	4
3.1.1.1.2. <i>Uncinaria stenocephala</i>	5
3.1.1.1.3. <i>Toxocara canis</i>	6
3.1.1.1.5. <i>Trichuris vulpis</i>	7
3.1.1.2. Cestodes.....	8
3.1.1.2.1. <i>Taenia</i> spp.	8
3.1.1.2.2. <i>Echinococcus granulosus</i>	9
3.1.1.2.3. <i>Dipylidium caninum</i>	10
3.1.1.3. Protozoários.....	11
3.1.1.3.2. <i>Cystoisospora</i> spp.	12
3.1.1.3.3. <i>Giardia duodenalis</i>	13
3.1.2. Endoparasitas dos Sistemas Respiratório e Cardiovascular.....	14
3.1.2.1. <i>Angiostrongylus vasorum</i>	14
3.1.2.2. <i>Dirofilaria immitis</i>	14
3.1.3. Endoparasitas do Órgão Visual.....	16
3.1.3.1. <i>Thelazia callipaeda</i>	16
3.1.4. Endoparasitas das células do sangue e sistema macrofágico fagocitário.....	17
3.1.4.1. <i>Leishmania infantum</i>	17
3.1.4.2. <i>Babesia</i> spp.	19
3.1.4.3. <i>Mycoplasma haemocanis</i>	21
3.2. Ectoparasitas.....	21
3.2.1. Ácaros.....	21
3.2.1.1. <i>Demodex canis</i>	22
3.2.1.2. <i>Sarcoptes scabiei</i>	23

3.2.2. Ixodídeos	23
3.2.2.1. <i>Ixodes</i> spp.....	24
3.2.2.2. <i>Rhipicephalus</i> spp.....	25
3.2.2.3. <i>Dermacentor</i> spp.....	25
3.2.3. Pulgas	25
3.2.3.1. <i>Ctenocephalides</i> ssp.	26
3.2.3.1.1. <i>Ctenocephalides felis</i>	26
3.2.3.1.2. <i>Ctenocephalides canis</i>	27
3.2.3.2. <i>Pulex irritans</i>	27
4. Objetivos.....	27
5. Materiais e Métodos	27
5.1. Caracterização da área geográfica.....	27
5.2. Caracterização da amostra populacional estudada	28
5.2.1. Cantinho dos Animais Abandonados de Viseu.....	29
5.2.2. Inquérito aos detentores de cães com residência no exterior, em meio rural	29
5.3. Colheita e processamento das amostras.....	30
5.4. Técnicas laboratoriais	31
5.4.1. Técnicas laboratoriais utilizadas na pesquisa de parasitas nas amostras fecais	31
5.4.1.1. Esfregaço fecal direto.....	31
5.4.1.2. Técnica de flutuação pelo método de Willis.....	31
5.4.1.3. Técnica de sedimentação natural.....	32
5.4.1.4. Técnica de Baermann	32
5.4.1.5. Esfregaço fecal corado pela técnica de Ziehl-Neelsen modificado.....	33
5.4.1.6. Teste de imunocromatografia Uranotest Giardia®	33
5.4.2. Técnicas laboratoriais utilizadas na pesquisa de parasitas nas amostras de sangue.....	34
5.4.2.1. Esfregaço sanguíneo corado pela técnica de Giemsa.....	34
5.4.2.2. Teste de imunocromatografia Speed Leish K®.....	34
5.5. Análise estatística.....	35
6. Resultados	35
6.1. Resultados das Amostras Fecais.....	35
6.1.1. Caracterização da amostra populacional	35
6.1.2. Resultados gerais dos parasitas gastrointestinais encontrados nas amostras fecais	36
6.1.3. Resultados por técnica coprológica.....	38

6.1.4. Resultados das amostras fecais do grupo de cães residentes no CAAV	39
6.1.5. Resultados das amostras fecais do grupo de cães com detentores.....	39
6.1.6. Resultados das amostras fecais do grupo de cães errantes	41
6.1.7. Associações estatísticas entre infeções por parasitas gastrointestinais e os fatores de risco analisados	42
6.2. Resultados da colheita de ectoparasitas	45
6.2.1. Caracterização da amostra populacional	45
6.2.2. Resultados gerais dos ectoparasitas recolhidos	45
6.2.3. Resultados da colheita de ectoparasitas no grupo de cães residentes no CAAV	46
6.2.4. Resultados da colheita de ectoparasitas do grupo de cães com detentores ..	46
6.2.5. Resultados da colheita de ectoparasitas do grupo de cães errantes	47
6.2.6. Associações estatísticas entre infeções por ectoparasitas e os fatores de risco analisados.....	48
6.3. Resultados das amostras sanguíneas	50
6.3.1. Caracterização da amostra populacional	50
6.3.2. Resultados da colheita e observação microscópica das amostras sanguíneas	51
7. Discussão.....	51
7.1. Discussão dos resultados das amostras fecais	51
7.1.1. Discussão da caracterização da amostra populacional	51
7.1.2. Discussão dos resultados gerais dos parasitas gastrointestinais encontrados nas amostras fecais	52
7.1.3. Discussão dos resultados das amostras fecais de acordo com o grupo de origem.....	56
7.1.4. Discussão dos resultados dos parasitas cardiopulmonares encontrados nas amostras fecais.....	58
7.2. Discussão dos resultados da colheita de ectoparasitas.....	59
7.3. Discussão dos resultados das amostras sanguíneas.....	62
7.4. Discussão das limitações do estudo.....	63
8. Conclusão	65
Bibliografia	66

Índice de Figuras

Figura 1. Lesões de LMC- adaptado de Saari, 2019.....	5
Figura 2. Nematode adulto <i>T. canis</i> , extremidade anterior.....	7
Figura 3. Ovo de <i>T. vulpis</i>	8
Figura 4. ovo de <i>D. caninum</i>	11
Figura 5. Nematodes adultos de <i>T. callipaeda</i> presentes no saco conjuntival de um cão.....	16
Figura 6. <i>Pulex irritans</i>	27
Figura 7. Instalações do CAAV.....	29
Figuras 8. Instalações do CAAV.....	29
Figura 9. Ovo de <i>Uncinaria stenocephala</i>	39
Figura 10. Ovo de <i>Toxocara canis</i>	42
Figura 11. Ovo de <i>Dipylidium caninum</i>	42
Figura 12. <i>Ixodes</i> spp.....	47
Figura 13. <i>Ctenocephalides canis</i>	47

Índice de Tabelas

Tabela 1. <i>Taenia</i> spp. que parasitam o cão, com o respetivo tamanho, HI, metacéstode e localização do metacéstode (adaptado de Taylor et al.2016 e ESCAAP 2020).....	9
Tabela 2. Espécies de Babesia reportadas em cães, em Portugal, com o respetivo vetor, apresentação clínica e prognóstico (adaptado de Bilic et al. 2018 e Solano-Gallego and Baneth 2011).....	20
Tabela 3. Prevalência dos diferentes parasitas encontrados nas amostras fecais.....	38
Tabela 4. Associação estatística entre o grupo de origem dos animais e a existência de infeção gastrointestinal.....	43
Tabela 5. Associação estatística entre os fatores de risco estudados e a existência de infeção gastrointestinal.....	44
Tabela 6. Associação estatística entre o grupo de origem dos animais e a existência de infeção por ectoparasitas.....	48
Tabela 7. Associação estatística entre os fatores de risco estudados e a existência de infeção por ectoparasitas.....	49

Índice de Gráficos

Gráfico 1. Distribuição das amostras fecais pelos grupos analisados.....	35
Gráfico 2. Distribuição por idades, dos cães dos quais foram recolhidas amostras fecais.....	35
Gráficos 3 e 4. Distribuição dos cães com detentores, de acordo com a existência de coabitação com outros animais e hábitos de desparasitação.....	36
Gráfico 5. Distribuição das amostras positivas, por grupo de origem.....	36
Gráficos 6. Distribuição das amostras positivas, por sexo.....	37
Gráficos 7. Distribuição das amostras positivas, por idades.....	37
Gráfico 8. Prevalência das infeções gastrointestinais.....	37
Gráfico 9. Distribuição dos cães residentes no CAAV, por sexo.....	39
Gráfico 10. Distribuição dos cães residentes no CAAV, por idade.....	30
Gráfico 11. Infeções gastrointestinais do grupo de cães com detentores.....	40
Gráfico 12. Distribuição das infeções gastrointestinais, do grupo de cães com detentores, por sexo.....	40
Gráfico 13. Distribuição das infeções gastrointestinais dos cães com detentores, de acordo com a existência ou não de coabitação com outros animais.....	41
Gráfico 14. Hábitos de desparasitação.....	41
Gráfico 15. Parasitas encontrados nos cães errantes.....	42
Gráfico 16. Distribuição da amostra populacional, por grupo.....	45
Gráfico 17. Ectoparasitas recolhidos e identificados no âmbito desta dissertação.....	46
Gráfico 18. Infeção por ectoparasitas, de acordo com os hábitos de desparasitação.....	47
Gráfico 19. Distribuição das amostras sanguíneas pelos grupos analisados.....	50
Gráfico 20. Distribuição da amostra populacional, por sexo.....	50
Gráfico 21. Distribuição da amostra populacional, por idade.....	50

Índice de Anexos

Anexo 1. Questionário entregue aos detentores dos cães de exterior incluídos neste estudo.....	75
Anexo 2. Técnica utilizada na realização do esfregaço fecal corado pelo método de Ziehl-Neelsen modificado	75
Anexo 3. Associação estatística entre os fatores de risco estudados e a presença de parasitas.....	76

Lista de Abreviaturas e Símbolos

< -menor

>- maior

= igual

% - Percentagem

® - Marca Registada

µm – Micrómetro

AHCC- *Active hexoses correlated compounds*

CAAV- Cantinho dos Animais Abandonados de Viseu

cm- centímetros

COVID-19- *Coronavirus disease of 2019*

CVBD- *Canine vector borne disease*

DRC- Doença renal crónica

ELISA- Ensaio de Imunoabsorção Enzimática, do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

ESCCAP- *European Scientific Counsel Companion Animal Parasites*

ESTGV-DEC- Escola Superior de Tecnologia e Gestão de Viseu, Departamento de Engenharia Civil

FMV-UL- Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

°C - graus Celsius

HD- Hospedeiro definitivo

HI- Hospedeiro Intermediário

HIV- vírus da imunodeficiência humana, do inglês *human immunodeficiency virus*

HP- Hospedeiro paraténico

IC- Intervalo de confiança

IRIS- *International renal interest society*

L1- larva de estadio 1

L2- larva de estadio 2

L3- larva de estadio 3

L4 – larva de estadio 4

LMC- Larva migrante cutânea

m- metros

ml- mililitros

mm- milímetros

min- minutos

n- número

p - nível de confiança

PCR- Reacção em Cadeia da Polimerase, do inglês *Polymerase Chain Reaction*

spp.- espécies

χ^2 – Teste Qui-quadrado de Pearson

1. Introdução

As populações animal e humana encontram-se epidemiologicamente ligadas e as zoonoses caninas representam um risco real para a saúde humana, especialmente quando existe uma permanente pressão de transmissão nas populações animais, como no caso dos animais errantes (Paul et al. 2010; Traversa et al. 2017). Uma grande proporção destes animais acaba em canis e abrigos e podem chegar a estas instalações já infetados por helmintes zoonóticos ou doenças transmitidas por vetores e/ou adquirir novas infeções no seu interior (Travessa et al. 2017). Sobrecarregados pelo crescente número de cães errantes e os escassos recursos humanos e económicos que não acompanham esse crescimento, o controlo da população de parasitas, nestes locais, não é tão eficaz como desejado (Otranto et al. 2017).

A falta de medidas preventivas e o controlo efetivo de doenças parasitárias continua a ser também um grande problema em cães com detentores, particularmente em áreas rurais, onde a maior parte dos animais permanece no exterior, o que facilita o seu contacto com animais errantes, com gado e animais silváticos e as suas fezes. A falta de informação e educação dos donos sobre esta temática, assim como as condições de habitat destes animais, são fatores importantes na epidemiologia de determinadas doenças parasitárias (Otranto et al. 2017).

As infeções provocadas por parasitas podem resultar em graves consequências para a saúde animal e as parasitoses zoonóticas são um problema de saúde pública relevante, mesmo em países desenvolvidos da União Europeia (Otranto et al. 2017). Desta forma, estudos a nível regional proporcionam um conjunto de informações pertinentes e essenciais para o desenvolvimento e modificação de medidas de controlo de saúde pública e animal (Mateus et al. 2014).

A identificação de endoparasitas e ectoparasitas pode ser alcançada através da execução de diferentes métodos. Na identificação de endoparasitas dos aparelhos gastrointestinal e respiratório podem ser aplicados métodos qualitativos, como a técnica de flutuação ou método de Willis, a técnica de sedimentação natural, o esfregaço fecal, a técnica de Baermann e o método de coloração Ziehl-Neelsen. Os hemoparasitas podem ser identificados através da observação microscópica de esfregaços sanguíneos corados com Giemsa e os ectoparasitas podem também ser identificados, usando as suas características morfológicas.

A escolha do tema desta dissertação prende-se com o estudo da população parasitária numa região de Portugal continental onde esta informação ainda é escassa, contribuindo, assim, para um melhor entendimento do panorama parasitário em cães

errantes, em cães com residência permanente em canil e em cães de exterior com detentores, de zonas maioritariamente rurais do concelho de Viseu.

2. Atividades desenvolvidas durante o estágio

As atividades de estágio desenvolvidas pela aluna incluíram o estágio curricular no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-UL) e os estágios extracurriculares no Cantinho dos Animais Abandonados de Viseu (CAAV) e na Clínica do CAAV, efetuados de forma intercalada, de modo a que as amostras fecais recolhidas no âmbito desta dissertação fossem analisadas laboratorialmente, num período máximo de duas semanas após a sua recolha.

2.1. Estágio extracurricular na Clínica do Cantinho dos Animais Abandonados de Viseu

O estágio decorreu entre 23 de setembro de 2019 e 31 de agosto de 2020, perfazendo um total de 480 horas. Como já referido anteriormente, nenhum dos estágios decorreu num período contínuo e a pandemia de COVID-19 implicou a suspensão do mesmo de março a maio de 2020. Este estágio permitiu adquirir uma maior competência teórica e prática na área de Clínica de Animais de Companhia, complementando positivamente a formação adquirida na FMV-UL. Durante este período, a aluna acompanhou consultas de rotina, urgências e domicílios e foi uma participante ativa em todos os procedimentos, sempre sob orientação de um dos médicos veterinários do corpo clínico da CVCAAV. Foi também possível à aluna participar como ajudante em inúmeras cirurgias, incluindo enterostomias e uretostomias e envolver-se na discussão e acompanhamento de casos clínicos, bem como na seleção e execução de meios de diagnósticos complementares, como raio-X e ecografia. As atividades incluíram também a realização de esfregaços sanguíneos corados através da técnica Diff-Quick para diagnóstico de hemoparasitoses, nomeadamente babesiose e micoplasmose em canídeos, assim como realização de esfregaços fecais para confirmar a presença de parasitas gastrointestinais, e raspagens de pele, através das quais foi possível diagnosticar diversas demodécoses.

2.2. Estágio extracurricular no Cantinho dos Animais Abandonados de Viseu

O estágio no canil do Cantinho dos Animais Abandonados de Viseu iniciou-se a 1 de outubro de 2019 e terminou a 1 de junho de 2020, contabilizando um total de 280 horas.

Durante este período, foi possível à aluna envolver-se em atividades que caracterizam a medicina de abrigo, nomeadamente a participação em consultas de adoção, em cirurgias eletivas e no diagnóstico e tratamento de diversas doenças. Era também frequente a aplicação de medidas preventivas contra doenças infecciosas, através da administração de vacinas e doenças parasitárias, com a aplicação de desparasitantes aos animais do CAAV.

No CAAV, foram recolhidas pela aluna todas as amostras pertencentes a dois dos grupos estudados nesta dissertação. As amostras fecais foram armazenadas no frio e transportadas numa mala térmica até ao Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da FMV-UL, onde foram analisadas num período máximo de 15 dias após a sua recolha. Já os esfregaços sanguíneos foram realizados imediatamente após a recolha de sangue, pela aluna, com o auxílio da médica ou enfermeira veterinárias do CAAV e posteriormente coradas e observadas no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da FMV-UL.

2.3. Estágio curricular no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

O estágio curricular no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da FMV-UL teve início a 14 de outubro de 2019 e término a 11 de setembro de 2020, contabilizando um total de 500 horas, sob supervisão do Prof. Doutor David Wilson Russo Ramilo, da Prof. Doutora Isabel Pereira da Fonseca e da Dr^a Lídia Gomes. Durante o estágio no laboratório foi possível analisar todas as amostras recolhidas pela aluna. As amostras fecais foram analisadas utilizando as técnicas de observação microscópica de esfregaço fecal direto, técnica de flutuação pelo método de Willis, técnica de sedimentação natural, técnica de Baermann e esfregaço fecal corado pela técnica de Ziehl-Neelsen modificado. Os esfregaços sanguíneos efetuados no CAAV foram corados pela técnica de Giemsa e examinadas ao microscópio com objetiva de imersão. Os ectoparasitas recolhidos foram armazenados em álcool a 70% e identificados no laboratório através de observação microscópica ou à lupa. Durante este período, foi também possível à aluna auxiliar outros colegas na realização e interpretação de técnicas coprológicas dos seus respetivos projetos de investigação laboratorial.

3. Revisão bibliográfica

3.1. Endoparasitas

3.1.1. Endoparasitas do Aparelho Gastrointestinal

3.1.1.1. Nematodes

Os nematodes que infetam cães apresentam uma grande variedade de tamanhos, existindo dentro do filo Nematoda espécies microscópicas e espécies substancialmente grandes. São tipicamente longos, com forma cilíndrica, extremidades afuniladas e dispõem de sistema digestivo completo. A boca pode estar equipada com estruturas especializadas, como lábios, órgãos sensoriais ou dentes/placas quitinosas, que são utilizadas na identificação morfológica das diferentes espécies deste filo. Outras características, como a forma do esófago, as bursas e espículas do macho ou a localização da vagina nas fêmeas, são também relevantes para essa identificação (Saari et al. 2019).

Existe uma grande variedade de helmintes, incluindo nemátodes, que podem parasitar o cão, sendo os ascarídeos (*Toxocara* spp.), os ancilostomatídeos (*Ancylostoma* spp., *Uncinaria* spp.) e os tricurídeos (*Trichuris* spp.) os principais grupos com localização gastrointestinal (ESCCAP 2020).

3.1.1.1.1. *Ancylostoma caninum*

O género *Ancylostoma* apresenta uma distribuição cosmopolita e a espécie *A. caninum* encontra-se predominantemente no sul da Europa (Otranto et al. 2017; ESCCAP 2020).

Os machos adultos desta espécie possuem cerca de 12 mm de comprimento, enquanto o tamanho das fêmeas varia entre 15 e 20 mm de comprimento (Taylor et al. 2016).

O seu ciclo de vida é direto e a infeção do hospedeiro definitivo (HD) - cão e raposa - pode ocorrer por ingestão ou penetração cutânea. (ESCCAP 2020). Após a ingestão do estadio infetante [a larva do 3.º estadio (L3)] - do ambiente, leite ou em hospedeiros paraténicos (HP), pode ocorrer a sua penetração na mucosa bucal e suceder-se migração pulmonar, onde ocorre a evolução para L4; esta forma larvar migra para a traqueia e é posteriormente engolida. Alternativamente, após a ingestão, pode realizar-se a passagem direta da L3 para o intestino, onde atinge o estadio adulto. Caso a infeção seja percutânea, as larvas migram através da corrente sanguínea até aos pulmões, repetindo-se o processo descrito anteriormente. Independentemente da forma de infeção, o período pré-patente é de 14 a 21 dias (Taylor et al. 2016).

Os sinais clínicos de infeção por *Ancylostoma caninum* podem ser agudos ou crónicos e incluem diarreia, com ou sem sangue, perda de peso e anemia. (ESCCAP 2020)

O diagnóstico da infecção baseia-se na análise microscópica das fezes, geralmente recorrendo à técnica de flutuação para identificação de ovos de *A. caninum*, e ao exame *post-mortem* do animal (Palmer et al. 2006; Cringoli et al. 2011).

O tratamento desta parasitose pode incluir o uso de benzimidazóis, lactonas macrocíclicas e pirantel. (Saari et al. 2019).

A espécie *A. caninum* pode ser patogénica para os seres humanos e ocasionar uma manifestação dermatológica, conhecida como Larva Migrante Cutânea (LMC), devido à penetração transcutânea da L3 (Figura 1). Em casos raros, a larva pode migrar até ao intestino, ocasionando uma enterite eosinofílica (Saari et al. 2019).



Figura 1. Lesões de LMC- adaptado de Saari, 2019

3.1.1.1.2. *Uncinaria stenocephala*

O parasita *U. stenocephala* é o ancilostomatídeo mais frequente no norte e centro da Europa (Postigo et al. 2006; Montgomery 2019).

O género *Uncinaria* compreende apenas uma espécie, cujos elementos são pequenos, com comprimento máximo de 1 cm. Os machos têm geralmente 5-8,5 mm e as fêmeas 7-12 mm (Taylor et al. 2016).

Os seus HD- cão, gato, raposa- infetam-se pela ingestão de ovos embrionados do solo ou larvas nos HP; porém, a infecção oral sem migração pulmonar é o cenário mais comum. Ainda que a larva infetante possa penetrar a pele, raramente evolui de estadio e ainda não existem evidências de transmissão transmamária ou transuterina (ESCCAP 2020; Taylor et al. 2016). O período pré-patente é de 2 a 3 semanas (Traversa 2012). Clinicamente, grandes cargas parasitárias podem originar anemia ligeira, hipalbuminémia, anorexia, diarreia e letargia, sobretudo em animais mais jovens (Traversa 2012).

O diagnóstico da infecção por *U. stenocephala* engloba a análise de amostras fecais, recorrendo à deteção de ovos pelo técnica de flutuação e a avaliação dos sinais clínicos (Postigo et al. 2006; Saari et al. 2019).

Estudos constataam que o uso de formulações contendo febendazol ou febantel em associação com praziquantel são eficazes no tratamento de infecções por acilostomatídeos em cães, com eficácia terapêutica até 100% (Traversa 2012).

O parasita *U. stenocephala* também apresenta potencial zoonótico, ainda que apenas tenham sido reportados casos esporádicos ou experimentais de Larva Migrante Cutânea envolvendo este parasita (Robertson and Thompson 2002; Bowman 2014).

3.1.1.1.3. *Toxocara canis*

A infecção por *T. canis* é considerada uma das parasitoses zoonóticas com maior distribuição a nível mundial (Abdel Azizet et al.2019).

Esta espécie é a maior das espécies de ascarídeos que infetam o cão, já que os machos adultos podem medir até 10 cm de comprimento e as fêmeas até 18 cm. A sua extremidade anterior possui um par de largas asas cervicais lanceoladas e a boca é rodeada de três grandes lábios (Figura 2) (Traversa 2012; Taylor et al. 2016).

Esta é também a espécie com o ciclo de vida mais complexo da superfamília Ascaroidea. Uma das vias de infecção é a ingestão de ovos embrionados; outra via de infecção passa pela ingestão de L2 em hipobiose nos HP. Após a ingestão e a eclosão dos ovos, as larvas migram até ao fígado e pulmões e, através da traqueia, voltam ao intestino delgado, onde atingem o estadio adulto (Baneth et al. 2016). Esta migração é típica nos animais mais jovens e a partir dos 4 a 6 meses é praticamente nula, sendo substituída pela migração somática por vários tecidos, incluindo o fígado, pulmões, cérebro, coração, músculo esquelético e mucosa do sistema gastrointestinal, seguida de hipobiose (Taylor et al. 2016).

As cadelas são uma potencial fonte de infecção para a sua descendência, uma vez que as larvas em hipobiose são mobilizadas e infetam os cachorros durante o segundo mês de gestação (Traversa 2012). Embora com menos frequência, estes podem também ser infetados através do leite da progenitora durante as primeiras 3 semanas de lactação (Baneth et al. 2016; Taylor et al. 2016).

O período pré-patente é, geralmente, 21 dias após infecção pré-natal; 27 a 35 dias após infecção lactogénica e 32 a 39 dias após ingestão de ovos embrionados (ESCCAP 2020). A manifestação de sinais clínicos em animais adultos é extremamente rara; no entanto, a migração larvar pode ocasionar tosse e dispneia e, em alguns casos, enterite associada a inapetência, diarreia e fraqueza (Scheider et al. 2011).

Em animais muito jovens, com elevadas cargas parasitárias, pode observar-se caquexia e abdómen pendular e, menos frequentemente, obstrução ou invaginação intestinal (ESCCAP 2020).

As infecções por *T. canis* podem ser diagnosticadas através da deteção dos ovos do parasita por realização de uma flutuação fecal e posterior observação microscópica. Estas são facilmente controladas com a administração de benzimidazóis, pirantel e

lactonas macrocíclicas (Baneth et al. 2016, Saari et al. 2019). A espécie *T. canis* apresenta potencial zoonótico e, ainda que algumas infecções em seres humanos sejam assintomáticas, existem duas grandes síndromes resultantes da infecção pelo parasita - a Larva Migrante Visceral, que engloba a lesão de vários órgãos, como o fígado, pulmões e cérebro, e a Larva Migrante Ocular, que se manifesta através de lesões oculares, incluindo lesões no nervo óptico. A síndrome de Larva Migrante Visceral afeta com maior frequência crianças, que geralmente desenvolvem sintomas graves da doença, como febre, dor abdominal, hepatomegalia e hepatite granulomatosa. Existem também casos com manifestações resultantes do comprometimento de outros aparelhos, como bronquite/pneumonia, miocardite, nefrite e alterações neurológicas. Alterações dermatológicas, como prurido, urticária e lesões eczematosas, têm sido encontradas em associação à toxocaríose, tanto em crianças como em adultos (Taversa 2012).



Figura 2. Nematode adulto *T. canis*, extremidade anterior (original)

3.1.1.1.5. *Trichuris vulpis*

O género *Trichuris* apresenta distribuição mundial, com maior prevalência em áreas de climas quentes e húmidos (Spickler 2019).

Estes nematodes são conhecidos pela sua típica extremidade anterior em forma de chicote e os adultos apresentam um comprimento compreendido entre os 4,5 e 7,5 cm (Taylor et al. 2016).

O seu ciclo de vida é direto e os ovos são libertados no solo com as fezes do hospedeiro, tornando-se infetantes um mês depois, dependendo das condições ambientais. Os ovos infetantes são ingeridos e, após eclosão, as larvas penetram a mucosa do íleo distal, ceco e colón, onde ocorrem todas as etapas do seu desenvolvimento (Elsemore et al. 2014; Taylor et al. 2016; Bowman 2014). O período pré-patente é, aproximadamente, de 7 a 10 semanas (Taylor et al. 2016).

A maior parte dos animais não apresenta sinais clínicos quando infetados; no entanto, elevadas cargas parasitárias podem causar diarreia, ocasionalmente hemorrágica, perda de peso e anemia, podendo, em casos extremos, ocorrer invaginação intestinal devido a doença intestinal crónica (Spickler 2019; Elsemore et al. 2014).

O diagnóstico da infecção realiza-se, geralmente, utilizando técnicas de flutuação de amostras fecais e observação microscópica dos ovos nas fezes (Figura 3). Os princípios ativos usados no tratamento desta parasitose são os mesmos utilizados em infecções por outros nemátodes, como benzimidazóis e lactonas macrocíclicas (Spickler 2019).

Pensa-se que as infecções zoonóticas por *T. vulpis* sejam raras; contudo, alguns casos de tricurirose humana têm sido atribuídos a esta espécie. Os pacientes infetados exibem principalmente diarreia mucóide, dor abdominal e perda de apetite (Spickler 2019, Areekul et al. 2014).



Figura 3. Ovo de *T. vulpis* (original). Observado com uma objetiva de 400x

3.1.1.2. Cestodes

A classe Cestoda é bastante abrangente no que toca ao comprimento dos seus elementos, contendo espécies de apenas alguns milímetros e outras com vários metros (Taylor et al. 2016).

São seres hermafroditas e não dispõem de sistema digestivo, sendo que todos os nutrientes são absorvidos pelo tegumento especializado (Bowman 2014).

São parasitas segmentados (proglótides ou proglotes), com constante formação de novos segmentos a partir do colo ou pescoço, dos quais os mais distais são ocupados por um útero preenchido de ovos embrionados (proglotes gravídicos) (Saari et al. 2019).

O primeiro estadio larvar desenvolve-se dentro do ovo, denominando-se de oncosfera, que, quando totalmente formada, apresenta o característico embrião hexacanto (com três pares de ganchos) (Bowman 2014). Os proglotes gravídicos desprendem-se da parte posterior do céstode e são libertados com as fezes, ocorrendo a sua desintegração e consequente libertação dos ovos (Saari et al. 2019).

Taenia multiceps, *Taenia serialis*, *Echinococcus granulosus* e *Dipylidium caninum* são exemplos de espécies de cestodes com potencial zoonótico (ESCCAP 2020).

3.1.1.2.1. *Taenia* spp.

O género *Taenia* tem distribuição mundial (Bowman, 2014; ESCCAP 2020). A identificação das suas diferentes espécies é geralmente feita com base no tamanho do escólex e do rostelo, no número de ganchos e na morfologia do aparelho genital nos proglotes maduros (Taylor et al. 2016). Os ovos são tipicamente redondos, com aproximadamente 30 micra de diâmetro; no entanto, a sua morfologia não permite a distinção entre espécies (Saari et al. 2019).

Os HD - cão, gato e raposa - infetam-se através da ingestão de larvas presentes no hospedeiro intermediário (HI), que variam de acordo com a espécie. Este estadio larvar presente no HI denomina-se de metacestode. O período pré-patente é de 4 a 10 semanas e o período patente de vários meses ou anos (ESCCAP 2020).

Infeções por parasitas do género *Taenia* raramente estão associadas a sinais clínicos em canídeos. O diagnóstico é baseado na deteção de ovos ou proglotes nas amostras fecais por observação microscópica (Saari et al. 2019).

O cão é parasitado pelas seguintes espécies: *T. hydatigena*, *T. multiceps*, *T. ovis*, *T. pisiformis* e *T. serialis* (Taylor, 2016). A Tabela 1 mostra as principais características das espécies de ténia que parasitam o cão.

Tabela 1. *Taenia* ssp. que parasitam o cão, com o respetivo tamanho, HI, metacestode e localização do metacestode (adaptado de Taylor et al.2016 e ESCAAP 2020)

Espécie	Comprimento	HI	Metacestode	Localização do metacestode
<i>T. hydatigena</i>	Até 5 m	Ovinos; caprinos; bovinos e suínos	<i>Cysticercus tenuicollis</i>	Peritoneu e fígado
<i>T. multiceps</i>	até 0,4-1 m	Ovinos; caprinos; bovinos; suínos; equinos; cervídeos e ser humano	<i>Coenurus cerebralis</i>	Cérebro; medula espinhal e tecido subcutâneo
<i>T. ovis</i>	0,5-1,5 m	Ovinos	<i>Cysticercus ovis</i>	Musculo esquelético; coração; diafragma; tecido conjuntivo intramuscular
<i>T. pisiformis</i>	Até 2 m	Lagomorfos	<i>Cysticercus pisiformis</i>	Parede do mesentério e omento
<i>T. serialis</i>	0,5-0,7 m	Lagomorfos e ser humano	<i>Coenurus serialis</i>	Tecido subcutâneo e tecido conjuntivo intramuscular

3.1.1.2.2. *Echinococcus granulosus*

O género *Echinococcus* está distribuído mundialmente. A espécie *E. granulosus* apresenta o papel mais relevante no que diz respeito à equinococose canina no sul da Europa, uma vez que é prevalente em zonas de grande atividade pecuária envolvendo ovinos, como é o caso das penínsulas Ibérica, Balcânica e Itálica. Já *E. multilocularis*, também agente de equinococose canina, está restringido a zonas mais a norte, sendo endémico em países como a Suíça e algumas zonas de França, Alemanha e Áustria,

apresentando, por isso, um papel marginal em Portugal (Carmena and Cardona 2013; Baneth et al. 2016).

Morfologicamente, é um cestode pequeno, que apresenta aproximadamente 6 mm de comprimento. Possui um escólex e três ou quatro segmentos, sendo que o terminal/gravídico ocupa, aproximadamente, metade do comprimento do parasita (Taylor, 2016; Saari, 2019).

O HD infeta-se pela ingestão de vísceras infetadas do HI - ovelhas, bovinos, porcos - cuja infecção resulta da ingestão acidental de ovos, normalmente de alimentos contaminados (Taylor et al. 2016; Robertson and Thompson 2002). Os adultos permanecem no intestino do HD e os ovos são libertados com as fezes, sendo imediatamente infetantes (Robertson and Thompson 2002). O período pré-patente no HD é de 40 a 50 dias (Taylor et al. 2016).

A infecção intestinal por parasitas do género *Echinococcus* spp. em adultos não apresenta, tipicamente, sinais clínicos (Carmena and Cardona 2013). Estes, quando existentes, resumem-se a diarreias (Otranto et al. 2017).

A observação microscópica é o método clássico para a deteção de ovos nas fezes dos HD; no entanto, os ovos das diferentes espécies da família Taeniidae não são distinguíveis morfologicamente. Desta maneira, pode-se recorrer a técnicas com maior sensibilidade e especificidade, como reação da cadeia em polimerase (PCR) e o *real-time* PCR, para o seu diagnóstico (Avila et al. 2020).

No tratamento desta parasitose utilizam-se fármacos cestocidas, como o praziquantel e epsiprantel (Saari et al. 2019).

Cães infetados com *E. granulosus* e *E. multilocularis* são a principal fonte de infecção na hidatidose quística humana e hidatidose alveolar humana, respetivamente (Carmena and Cardona 2013). A hidatidose alveolar humana é uma das zoonoses mais patogénicas na Europa (Baneth et al. 2016; Deplazes et al. 2017). Dependendo da localização dos quistos, o ser humano pode apresentar sintomas respiratórios ou hepatomegália, associada a dor abdominal, náuseas e vómitos (Saari et al. 2019).

3.1.1.2.3. *Dipylidium caninum*

D. caninum é um céstode cosmopolita, que exhibe um comprimento máximo de 50 cm. Os proglotes gravídicos são facilmente reconhecidos, devido à sua forma oval, que se assemelha a um grão de arroz (Otranto et al. 2017; Taylor et al. 2016).

Os HD - cão, gato e raposa - infetam-se pela ingestão da larva cisticercóide presente nos HI - pulgas e piolhos - geralmente durante o *grooming* (Taylor et al. 2016). A larva cisticercóide desenvolve-se até ao estágio adulto no intestino delgado do HD (Beugnet et al. 2014). No HI, a infecção é adquirida através da ingestão de ovos de *D. caninum*,

que eclodem e libertam o embrião hexacanto, no interior do HI (Beugnet et al. 2014; Robertson and Thompson 2002).

O período pré-patente é de 3 semanas e a infecção raramente está associada a sinais clínicos; no entanto, podem surgir diarreia e prurido anal (ESCCAP 2020; Saari et al. 2019; Otranto et al. 2017).

O diagnóstico é determinado pela observação e identificação dos proglotes e ovos (Figura 4) do parasita nas amostras fecais (ESCCAP 2020). O tratamento com cestocidas, como o praziquantel, deve ser sempre complementado com o eficaz controlo de pulgas e piolhos (Robertson and Thompson 2002; Saari et al. 2019).

A dipilidiose também é uma zoonose. O ser humano é normalmente infetado pela ingestão acidental de HI infetados. Os sinais clínicos são idênticos aos observados no cão (Otranto et al. 2017).



Figura 4. ovo de *D. caninum* (original). Observado com uma objetiva de 400x

3.1.1.3. Protozoários

3.1.1.3.1. *Cryptosporidium* spp.

Os membros deste género são parasitas microscópicos, cujos oocistos possuem forma oval ou esférica e aproximadamente 5 µm de tamanho (Taylor et al. 2016).

O cão é parasitado por duas das espécies pertencentes ao género, nomeadamente, *C. canis* e *C. parvum* e é infetado através da ingestão oral dos seus oocistos (Taghipour et al. 2020).

Após a sua ingestão, os esporozoítos contidos nos oocistos, são libertados e invadem as microvilosidades da porção terminal do intestino delgado. Inicialmente verifica-se reprodução assexuada (esquizogonia ou merogonia) e, posteriormente, reprodução sexuada (gametogonia). Após fertilização, podem ser produzidos dois tipos de oocistos. O mais comum possui parede espessa e é libertado com as fezes, para o exterior, já esporulado, permitindo transmissão fecal-oral direta e imediata (Bowman 2014, Taylor et al. 2016). Os oocistos de parede fina libertam os esporozoítos no intestino, perpetuando a autoinfecção (Taylor et al. 2016).

Infeções por *Cryptosporidium* spp. estão associadas a atrofia, fusão e inflamação das microvilosidades intestinais, o que resulta numa diminuição da superfície de absorção e, conseqüentemente, um reduzido aporte de nutrientes. (Palmer et al. 2008). Em animais adultos imunocompetentes a infecção é usualmente subclínica; no entanto,

animais muito jovens ou imunocomprometidos podem desenvolver diarreia acompanhada por dor abdominal, vômito e febre (ESCCAP 2018).

O diagnóstico pode ser obtido através da observação microscópica de oocistos em esfregaços fecais utilizando a técnica de coloração Ziehl-Neelsen, realização de ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISAs) comerciais, técnicas de imunofluorescência e PCR (Saari et al. 2019).

Até à data, não existe tratamento para criptosporidiose em animais de companhia e, uma vez que, geralmente, a infecção se resolve espontaneamente. (ESCCAP 2018).

Os animais domésticos não parecem representar um grande risco de saúde pública no que concerne a transmissão de *Cryptosporidium* spp. ao ser humano, exceto em indivíduos imunocomprometidos (Palmer et al. 2008). *C. hominis* e *C. parvum* são responsáveis pela grande maioria dos casos de criptosporidiose humana, contudo *C. canis* é responsável por alguns casos diagnosticados (Taghipour et al. 2020).

3.1.1.3.2. *Cystoisospora* spp.

A infecção por *Cystoisospora* spp. é comum em cães a nível mundial (Matsubayashi et al. 2011). As espécies deste género são hospedeiro-específicas e o cão pode ser parasitado por *C. canis*, *C. ohioensis* e *C. burrowsi*. As últimas duas são frequentemente referidas como complexo *C. ohioensis*, uma vez que não são facilmente distinguíveis morfologicamente (ESCCAP 2018).

Os cachorros são infetados através da ingestão de oocistos esporulados provenientes do meio ambiente. A superfície dos oocistos é quebrada e os esporozoítos são libertados no trato gastrointestinal, invadindo as células epiteliais intestinais e reproduzindo-se assexuadamente, por merogonia, em ciclos repetidos. A estes ciclos, segue-se a fase de reprodução sexuada, denominada gametogonia. O período pré-patente é de 8 a 12 dias para *C. canis* (Saari et al. 2019).

As coccídias são organismos patogénicos oportunistas e a sua virulência pode ser influenciada por fatores de stress, como mudanças nas condições ambientais ou na alimentação (Saari et al. 2019).

Os sinais clínicos podem preceder a excreção de oocistos nas fezes, particularmente em casos de infeções agudas por *C. canis* (Bowman 2014). Estes resultam da destruição das células epiteliais intestinais, o que leva à diminuição da área de absorção intestinal, que pode ser acompanhada por hemorragia e inflamação. O sinal clínico mais importante é a diarreia aquosa ou hemorrágica, que pode durar várias semanas. Ainda assim, é geralmente autolimitante (Saari et al. 2019).

O diagnóstico da infecção ocorre essencialmente pela deteção de oocistos nas fezes através de técnicas de flutuação, seguidas de observação microscópica, e o tratamento

consiste na administração de toltrazuril e diclazuril (Matsubayashi et al. 2011; ESCCAP 2018). A cistisosporose canina não tem implicação zoonótica devido à especificidade do parasita ao hospedeiro (ESCCAP 2018).

3.1.1.3.3. *Giardia duodenalis*

Giardia spp. são protozoários intestinais cosmopolitas, muito comuns nos animais domésticos, incluindo o cão (Otranto et al. 2017).

O seu ciclo de vida é direto e o hospedeiro infeta-se quando ingere quistos de *Giardia* spp. No duodeno, há libertação dos trofozoítos que se reproduzem assexuadamente, ocasionando a produção intermitente de quistos bastante resistentes, que são imediatamente infetantes quando libertados com as fezes (Baneth et al. 2016; ESCCAP 2018; Bowman 2014). O período pré-patente é de 4 a 16 dias (ESCCAP 2018).

A infeção é, frequentemente, subclínica; no entanto, pode-se manifestar clinicamente através de diarreia e má-absorção crónica (Palmer et al. 2008; Bowman 2014). A diarreia é autolimitante se o sistema imunitário do animal funcionar normalmente e a imunidade adquirida pode prevenir futuros sinais clínicos da doença, mas não necessariamente uma nova infeção (Saari et al. 2019).

Alguns estudos demonstram que o parasita é também responsável pela atrofia das microvilosidades intestinais, redução da função da barreira epitelial, aumento da permeabilidade e apoptose dos enterócitos (Palmer et al. 2008).

Outros sinais clínicos podem incluir anorexia, vômito, letargia e perda de peso. A ocorrência de febre é rara (Saari et al. 2019).

O diagnóstico desta parasitose pode ser realizado através da observação microscópica de esfregaços fecais ou análise microscópica após flutuação, imunofluorescência, ELISA ou PCR (Baneth et al. 2016; Tysnes et al. 2014).

O fenbendazole parece ser consensual como primeira escolha no tratamento da giardiose; contudo, o metronidazole e combinações incluindo febentel, pirantel e praziquantel são também eficazes no seu tratamento (Tysnes et al 2014; Bowman 2014; ESCCAP 2018).

Uma vez que as infeções em animais são bastante comuns, a importância da sua transmissão zoonótica é bastante debatida (Tysnes et al. 2014). A maior parte dos especialistas concorda que as *assemblages* A e B de *G. duodenalis* são potencialmente zoonóticas (Feng e Xiao 2011). Nos seres humanos, a doença é geralmente autolimitante e manifesta-se clinicamente através de diarreia, dores abdominais, perda de peso e má-absorção. Todavia, é também frequente giardiose assintomática nos seres humanos (Baneth et al. 2016).

3.1.2. Endoparasitas dos Sistemas Respiratório e Cardiovascular

3.1.2.1. *Angiostrongylus vasorum*

A. vasorum é um pequeno nematode amplamente distribuído pelos continentes europeu, americano e africano, que parasita várias espécies de canídeos selvagens e domésticos (Angelou et al. 2020).

O macho, mais fino, apresenta, aproximadamente, 14 a 18 mm de comprimento e a fêmea, 18 a 25 mm (Taylor et al. 2016).

O HD infeta-se pela ingestão de larvas do parasita em moluscos (HI) ou sapos e pássaros que podem atuar como HP, após a qual há desenvolvimento larvar e migração para o lado direito do coração e artéria pulmonar. As fêmeas depositam os ovos nos grandes vasos pulmonares, que são transportados até aos capilares, onde eclodem. De seguida, as L1 chegam aos alvéolos e migram, pela traqueia, até ao trato gastrointestinal, alcançando as fezes. O restante desenvolvimento ocorre no HI, onde é alcançado o terceiro estágio infetante. O período pré-patente é de 7 semanas e o parasita pode permanecer no HD durante mais de 2 anos (ESCCAP 2020; Taylor et al. 2016).

A angiostrongilose canina tem um extenso espectro de sinais clínicos, podendo existir doença subclínica, crónica e aguda letal. Os sinais são predominantemente respiratórios, mas também podem ser reflexo de problemas de coagulação, cardiovasculares ou neurológicos (Angelou et al. 2020). Ocasionalmente, as larvas e, raramente, os adultos podem estar localizados em regiões ectópicas, como o cérebro, bexiga, rim ou câmara anterior do olho, o que pode resultar em sinais clínicos relacionados com a invasão destes órgãos (ESCCAP, 2020).

Atualmente, o método de Baermann é frequentemente utilizado no diagnóstico desta parasitose, devido à sua simplicidade e rápido resultado do teste. Para além da análise coprológica, podem ser utilizadas outras técnicas de diagnóstico, como a análise de lavados broncoalveolares ou traqueais, PCR e ELISA (Angelou et al. 2020).

O tratamento consiste na administração de anti-helmínticos como fenbendazole, moxidectina ou milbemicina-oxima (Angelou et al. 2020).

Esta espécie não é considerada zoonótica (Alho et al. 2018).

3.1.2.2. *Dirofilaria immitis*

D. immitis é o agente causal da dirofilariose canina e também pode afetar felídeos e o ser humano. Este parasita apresenta distribuição cosmopolita, com maior incidência em regiões temperadas e tropicais (Simón et al. 2009). Portugal é, historicamente, um país

onde a dirofilariose canina por *D. immitis* é endêmica e, ainda que a prevalência varie geograficamente, existem evidências de infecção em cães de praticamente todas as regiões do país (Alho et al. 2018).

Morfologicamente, são nematodes delgados com cor branca-acinzentada e com, aproximadamente, 15 a 30 cm de comprimento (Taylor et al. 2016).

A dirofilariose é uma doença transmitida por vetores, na qual várias espécies de culicídeos servem de HI. Estudos evidenciam que, em Portugal continental, várias espécies dos géneros *Culex*, *Anopheles* e *Aedes* se encontram naturalmente infetadas com *D. immitis* (Ferreira et al. 2015).

O culicídeo vetor infeta-se pela ingestão de microfilárias circulantes na corrente sanguínea do HD durante a sua alimentação. No HI sofrem duas mudas, de L1 para L2 e L2 para L3. Para que este desenvolvimento seja possível são necessárias temperaturas constantes, acima dos 14 °C, e humidades suficientemente altas. As L3 são inoculadas no HD na alimentação seguinte do mosquito e, passados alguns meses, alcançam o estágio adulto. O período pré-patente é, frequentemente, de 9 meses (Saari et al. 2019).

A infecção pode ser subclínica, quando existem baixas cargas parasitárias (ESCCAP 2020). Quando presentes, os sinais clínicos são o resultado de lesões vasculares, distúrbios no fluxo sanguíneo cardíaco e pulmonar e aumento da pressão arterial na artéria pulmonar (Saari et al. 2019). Inicialmente, a doença manifesta-se por perda de peso, tosse e dispneia, podendo evoluir cronicamente e causar alterações vasculares e pulmonares graves, com falência cardíaca, que pode levar à morte (ESCCAP 2020; Alho et al. 2018).

O diagnóstico desta parasitose pode ser alcançado através da deteção microscópica de microfilárias no sangue do hospedeiro, pelo teste de Knott, do uso de testes de deteção de antigénio circulante comerciais (imunocromatografia) e realização de PCR (ESCCAP 2020; Krstic et al. 2017).

O uso profilático de lactonas macrocíclicas, que são eficazes contra o terceiro e quarto estádios larvares, assim como medidas de controlo que evitem a picada do mosquito, são vitais para a redução da taxa de infecção na população canina (Alho et al. 2018).

A melarsomina é o adulticida mais comum, sendo eficaz em parasitas com mais de 4 meses. Este tratamento é geralmente combinado com medicação de suporte como anti-inflamatórios, glucocorticóides e doxiciclina. Em casos de dirofilariose com sinais clínicos muito graves, os nemátodes podem ser removidos cirurgicamente (Saari et al. 2019).

D. immitis possui potencial zoonótico e, uma vez que algumas espécies de mosquitos vetores da dirofilariose se alimentam indiscriminadamente em diferentes espécies de

animais, incluindo no ser humano, a existência de dirofilariose nos animais domésticos implicam um risco de infecção para os seres humanos (Simón et al. 2009). A infecção humana raramente está associada a sinais clínicos graves e pode resultar em alterações radiográficas que podem ser mal-interpretadas como neoplasias (Bowman 2014).

3.1.3. Endoparasitas do Órgão Visual

3.1.3.1. *Thelazia callipaeda*

O parasita *T. callipaeda* é um helminte transmitido por vetores, que se encontra amplamente distribuído na Ásia e na Europa (Otranto and Deplazes 2019). Portugal é um dos países onde esta parasitose é considerada endêmica (Baneth et al. 2016).

Morfologicamente, é um nematode filiforme, com comprimentos compreendidos entre os 7,5 mm e 13 mm nos machos e os 12 mm e 18,5 mm nas fêmeas (do Vale et al. 2019).

Os elementos desta espécie são parasitas do saco conjuntival e do ducto lacrimal (Figura 5) (Taylor et al. 2016). As fêmeas adultas libertam o primeiro estadio larvar nas secreções lacrimais. As L1 são posteriormente ingeridas pela mosca zoofílica da fruta, dos géneros *Phortica* spp. e *Amiota* spp. No HI, dá-se o desenvolvimento até L3, que é transmitida para o HD enquanto a mosca se alimenta nas secreções lacrimais (Baneth et al. 2016).

Os animais podem ser assintomáticos; no entanto, sinais clínicos ligeiros, como conjuntivite, epífora e queratite, são frequentes. Úlceras na córnea e cegueira são raros, mas podem ocorrer (do Vale et al. 2019; Otranto and Deplazes 2019).

A inspeção ocular, durante o exame físico, é essencial para detetar infeções subclínicas. Esta espécie pode ser identificada microscopicamente ou através de análises moleculares (do Vale et al. 2019). O tratamento pode envolver a remoção mecânica dos parasitas, depois de anestesia local ou geral. Ainda assim, a administração de substâncias ativas, como a moxidectina e milbemicima-oxima, é o tratamento mais eficaz no combate à telaziose canina (do Vale et al. 2019). O tratamento de raças sensíveis às lactonas macrocíclicas, como os cães da raça *Border Collie*, com mebendazole por via oral, também já demonstrou ser eficaz (Calero- Bernal et al. 2014).

T. callipaeda representa um potencial risco de saúde pública, devido ao seu impacto zoonótico (Baneth et al. 2016). No entanto, a telaziose humana é considerada uma doença negligenciada, o que pode estar relacionado com



Figura 5. Nematodes adultos de *T. callipaeda* presentes no saco conjuntival de um cão (original)

a sua associação a comunidades rurais, com condições de vida inadequadas e baixos padrões socioeconómicos (do Vale et al. 2019).

3.1.4. Endoparasitas das células do sangue e sistema macrofágico fagocitário

3.1.4.1. *Leishmania infantum*

O parasita *L. infantum* é um protozoário pertencente à família Trypanosomatidae, que se apresenta sob duas formas - a forma amastigota e a forma promastigota (Saari et al. 2019). A primeira é pequena e oval, com cerca de 2 a 6 µm de diâmetro, contrariamente à segunda, que apresenta uma forma alongada, com um flagelo na extremidade anterior e, aproximadamente, 15 a 30 µm de comprimento (Taylor et al. 2016; Saari et al. 2019). O parasita completa o seu ciclo de vida em dois hospedeiros: um vetor flebotomídeo, que alberga a forma promastigota flagelada extracelular e um mamífero, onde se desenvolve a forma amastigota intracelular (Taylor et al. 2016).

As fêmeas do vetor de *L. infantum* - o artrópode do género *Phlebotomus*, no Velho Mundo, ou do género *Lutzomyia*, no Novo Mundo- realizam refeições hematófagas nos cães, em zonas escassas em pelos, como a cabeça, nariz, orelhas e regiões inguinal e perianal, ocasionando a transmissão do parasita. Assim que este ganha acesso à derme do hospedeiro vertebrado, inicia-se a fagocitose pelos macrófagos que o envolvem, numa tentativa de o eliminar. Desta forma, a progressão da infeção depende da eficácia da resposta imunitária do hospedeiro (Solano- Gallego et al. 2009). Em alguns casos, a resposta imunitária elimina rapidamente o parasita, noutros, instala-se uma infeção, limitada a uma lesão local. A doença mais grave desenvolve-se quando o sistema imunitário não é eficaz na eliminação ou limitação do parasita a uma zona, espalhando-se pelo organismo (Saari et al. 2019).

Transmissão vertical de fêmeas para as crias e infeções resultantes de transfusões sanguíneas também já foram descritas (Taylor et al. 2016).

Os cães são o principal reservatório urbano, com taxas de infeção na ordem dos 20% em alguns países, sendo a principal fonte de infeção humana (Taylor et al. 2016).

A infeção por espécies do género *Leishmania* não é sinónimo de sintomatologia clínica, uma vez que existe uma elevada prevalência de infeções subclínicas (Solano- Gallego et al. 2009). Mesmo quando presentes, os sinais clínicos podem levar meses ou anos a manifestar-se num cão infetado. A doença é geralmente crónica, com baixa mortalidade, ainda que se possa apresentar de forma aguda e fatal (Taylor et al. 2016).

Os sinais sistêmicos incluem fraqueza, perda de peso, perda de apetite, fadiga, linfadenomegália, febre e mucosas pálidas. É comum a presença de hepatomegália, esplenomegália e proteinúria (Saari et al. 2019).

As lesões dermatológicas são a manifestação clínica mais comum de leishmaniose canina em cães admitidos para tratamento (Ordeix et al. 2005). Dermatite exfoliativa não pruriginosa, com ou sem alopecia, que pode ser generalizada ou localizada nas zonas da cabeça, orelhas e membros e dermatite ulcerativa nas proeminências ósseas, junções mucocutâneas, patas e orelhas, são as apresentações dermatológicas descritas mais frequentemente em cães com leishmaniose (Solano- Gallego et al. 2009, Ordeix et al. 2005).

Em cães com leishmaniose é fundamental avaliar a função renal e, caso haja indicações de doença renal, estadiar de acordo com as recomendações da International Renal Interest Society (IRIS), uma vez que, a doença está associada a altas prevalências de doença renal crônica (DRC) (Costa et al. 2003, Solano-Gallego et al. 2009). A DRC é uma manifestação grave da progressão da doença e é a principal causa de morte em cães com leishmaniose (Solano- Gallego et al. 2009).

As lesões oculares podem ser, também, a única manifestação da doença em alguns casos. As alterações mais frequentes são conjuntivite, blefarite, uveíte anterior e queratoconjuntivite (Peña et al. 2000).

Com menos regularidade, é possível observar, em pacientes com leishmaniose, lesões a nível das mucosas (Solano- Gallego et al. 2009), edema das articulações com poliartrite erosiva, lesões ósseas osteolíticas ou osteoproliferativas (Solano- Gallego et al. 2009), hepatite crônica (Rallis et al. 2005), colite crônica (Adamama-Moraitou et al. 2007), doença neurológica (Vamvakidis et al. 2000) e alterações cardiovasculares, como pericardite (Solano- Gallego et al. 2009).

Um diagnóstico apropriado requer uma abordagem integrada, consistindo no diagnóstico clínico-patológico e em testes laboratoriais específicos. (Solano- Gallego et al. 2009). ELISA, IFAT e PCR são alguns dos testes laboratoriais utilizados no diagnóstico da leishmaniose canina (Saari et al. 2019).

Antimoniato de meglumina, aminosidina e miltefosina são os únicos fármacos licenciados na Europa, especificamente para o tratamento da leishmaniose canina. A utilização destes fármacos, especialmente a combinação de antimoniato de meglumina e alopurinol, levam frequentemente à cura clínica. Ainda assim, a cura parasitológica raramente é atingida, mesmo em animais em tratamento prolongado, que continuam a albergar o parasita e a transmiti-lo ao vetor artrópode (Solano- Gallego et al. 2009). A administração oral de suplementos alimentares que contêm nucleótidos e compostos correlacionados com hexose activa (AHCC) tem-se mostrado eficaz quer na redução da

taxa de progressão de doença em cães infetados clinicamente saudáveis, quer no tratamento em cães que demonstram sinais clínicos de leishmaniose (Segarra et al. 2018; Segarra et al. 2017)

A prevenção da infeção deve incluir a aplicação de um inseticida tópico de longa ação, durante o período de atividade do flebótomo, que nos países mediterrânicos ocorre desde o início da primavera até fim do outono (Solano- Gallego et al. 2009). Adicionalmente, deve ser considerada a administração de vacina, como uma abordagem multimodal, uma vez que reduz o risco de progressão da doença e a probabilidade de desenvolvimento de sinais clínicos (Leishvet 2019).

A espécie *L. infantum*, assim como outras do género *Leishmania*, apresenta potencial zoonótico (Taylor et al. 2016). Na Europa, apenas uma proporção de infetados apresenta quadro clínico de leishmaniose visceral ou cutânea (Miró & López-Véles, 2018). A primeira pode ser fatal sem tratamento devido ao comprometimento de órgãos internos (Solano- Gallego et al. 2009). Assim como nos cães, o sistema imunitário desempenha um papel fundamental no desenvolvimento, ou não, da doença em indivíduos imunocomprometidos, como pacientes com HIV ou pacientes que estejam sujeitos a tratamentos com imunossuppressores, pois apresentam um maior risco de progressão da doença após infeção (Miró & López-Véles, 2018).

3.1.4.2. *Babesia* spp.

A babesiose canina é uma parasitose mundialmente distribuída, que resulta da infeção por hemoparasitas do género *Babesia* (Bilic et al. 2018).

Sendo uma doença transmitida por vetores, a distribuição geográfica do agente causativo depende maioritariamente do habitat da espécie de carraça que lhe serve de vetor (Solano- Gallego and Baneth 2011).

A infeção do ixodídeo vetor ocorre durante a hematofagia no hospedeiro mamífero infetado. O protozoário penetra o epitélio intestinal da carraça, multiplica-se e migra para diferentes órgãos, incluindo o ovário e glândulas salivares (ESCCAP 2019). Os esporozoítos infetantes são inoculados no hospedeiro mamífero com a saliva quando o ixodídeo vetor se alimenta. A multiplicação no hospedeiro vertebrado pode ocorrer por merogonia, entre outras formas, dando origem a merozoítos. Os eritrócitos sofrem lise durante repetidas fases de merogonia, libertando os merozoítos, que invadem posteriormente outros eritrócitos (Taylor et al. 2016).

O cão pode albergar várias espécies do género *Babesia* que podem originar manifestações clínicas sistémicas ligeiras a graves, de acordo com a espécie infetante (Solano-Gallego and Baneth 2011). A anemia hemolítica e a síndrome de resposta inflamatória sistémica são responsáveis pela maior parte dos sinais clínicos observados

na babesiose canina. Hemólise intensa resulta em hemoglobinémia, hemoglobinúria, hipóxia, bilirrubinemia e bilirrubinúria. A hipóxia tecidual resultante é também um fator importante, que contribui para muitos dos sinais clínicos de babesiose e afeta maioritariamente o sistema nervoso central (SNC), rim e músculos (Solano Gallego and Baneth 2011).

Em Portugal, existem relatos de infeção por *Babesia canis*, *Babesia vogeli* e *Babesia microti-like*, cujos vetores, apresentação clínica e prognóstico variam consoante a espécie infetante, como descrito abaixo na Tabela 2 (Bilic et al. 2018; Solano-Gallego and Baneth 2011).

Tabela 2. Espécies de *Babesia* reportadas em cães, em Portugal, com o respetivo vetor, apresentação clínica e prognóstico (adaptado de Bilic et al. 2018 e Solano-Gallego and Baneth 2011).

Espécie	Vetor	Apresentação clínica	Prognóstico
<i>Babesia canis</i>	<i>Dermacentor reticulatus</i>	Doença ligeira a grave, em que a parasitémia é frequentemente baixa e não se correlaciona com a gravidade dos sinais clínicos, que se caracterizam por febre, letargia, anorexia e icterícia.	Bom
<i>Babesia vogeli</i>	<i>Rhipicephalus sanguineus</i>	Doença ligeira a moderada, manifestando-se por febre, letargia, anorexia e icterícia. Anemia hemolítica grave a fatal é possível em cães mais jovens.	Bom

O diagnóstico fundamenta-se na avaliação da sintomatologia clínica, avaliação microscópica de esfregaços sanguíneos, ELISA e PCR. (Bilic et al. 2018)

Antiprotozoários, antibióticos e tratamento de suporte representam a base do tratamento desta parasitose. O dipropionato de imidocarb é o tratamento de eleição consensual entre os vários autores (Bilic et al. 2018, Solano Gallego and Baneth 2011, ESCCAP 2019).

A babesiose é reconhecida como uma zoonose importante e potencialmente fatal; no entanto, infeções humanas com espécies que afetam cão e gato não foram reportadas até ao momento (Solano Gallego and Baneth 2011).

3.1.4.3. *Mycoplasma haemocanis*

Mycoplasma haemeocanis é uma bactéria pleomórfica com distribuição mundial, transmitida ao cão por carrças da espécie *Rhipicephalus sanguineus* (Do Nascimento et al. 2012; Bowman 2014). A sua distribuição está, por isso, relacionada com a distribuição do seu vetor ixodídeo. (Novacco et al. 2010).

Este infetam-se quando se alimenta num animal infetado e o agente é mantido nesta população pelas vias transovárica e transestadial (Bowman 2014).

A infeção do HD advém, na maioria dos casos, da alimentação da carrça, ainda que seja possível que se suceda após transfusão sanguínea com sangue de um cão infetado (CVBD 2020).

A infeção por *M. haemocanis*, geralmente, só apresenta relevância clínica em cães esplenectomizados ou imunodeprimidos (Baker et al. 2010).

No cão, foram reportadas duas formas de infeção: aguda e crónica. A forma aguda é caracterizada pela presença de grandes quantidades de bactérias e pelo rápido desenvolvimento de anemia. Os sinais clínicos incluem anorexia, letargia, perda de peso e febre. Em casos mais graves, a anemia hemolítica aguda pode resultar na morte do animal. Nesta forma de infeção, o mais frequente é a recuperação do animal, que se mantém cronicamente infetado (Messick 2003).

Na forma crónica, as bactérias são encontradas periodicamente e em pequenos números no sangue periférico. Esta forma tem sido associada a anemia ligeira, leucopénia e prostração em cães experimentalmente infetados (Messick 2003).

É da experiência de alguns autores que a infeção possa ocorrer de forma latente e generalizada em cães de canil (Messick 2003).

O diagnóstico pode ser feito com recurso à observação microscópica de esfregaços sanguíneos, ainda assim o PCR é método de eleição no diagnóstico da infeção por *M. haemocanis*, devido à sua alta sensibilidade (CVBD 2020). O tratamento recorre ao uso de doxiciclina, como antibiótico de primeira escolha. (Messick 2003). Devido ao importante papel dos ixodídeos, como vetores, o controlo com produtos ectoparasiticidas, como fipronil, piretrinas e permetrinas, é a base da prevenção da doença (CVBD 2020; Bowman 2014).

3.2. Ectoparasitas

3.2.1. Ácaros

Os ácaros que parasitam cães podem permanecer no hospedeiro durante todo o seu ciclo de vida, ou apenas realizar a alimentação no hospedeiro e passar o resto do seu ciclo de vida no ambiente (Saari et al. 2019).

Os sinais clínicos associados com a presença de ácaros são resultado das reações do hospedeiro às suas picadas e secreções (Saari et al 2019).

Estes são pequenos, tendo a maior parte menos de 0,5 mm de comprimento, ainda que algumas espécies hematófagas possam atingir alguns milímetros quando completamente ingurgitadas. Existe quatro estádios ao longo do seu ciclo de vida - ovo, larva, ninfa e adulto. O ciclo de vida pode ficar completo em menos de 4 semanas e, em algumas espécies, menos de 8 dias (Taylor et al. 2016).

3.2.1.1. *Demodex canis*

Os ácaros das espécies do género *Demodex* são parasitas hospedeiro-específicos, altamente especializados, que se localizam nos folículos pilosos e glândulas sebáceas de animais domésticos e selvagens, incluindo o ser humano. (Taylor et al. 2016).

Morfologicamente, são pequenos e alongados, com comprimentos que podem atingir os 0,4 mm (Taylor et al. 2016). Estes ácaros comensais estão presentes em pequenos números na pele da maior parte dos cães, uma vez que os cachorros adquirem a infeção através da mãe, durante a alimentação, sendo que a maior parte dos casos de sarna demodécica ocorre entre os 3 e os 6 meses de idade (Six et al. 2016). Os cães infetados albergam populações muito superiores àquelas consideradas normais, aparentemente como resultado de algum tipo de imunodeficiência (Bowman 2014).

Clinicamente, a sarna demodécica pode manifestar-se de duas formas - localizada ou generalizada (Six et al 2016). A primeira caracteriza-se pela existência de áreas circunscritas de eritema e alopecia à volta dos olhos, boca e sobre as proeminências ósseas nas extremidades. Se as lesões se mantiverem localizadas, o prognóstico é bom (Bowman 2014). A maior parte dos casos são considerados ligeiros e os animais recuperam espontaneamente com o atingir da idade adulta. No entanto, alguns casos persistem e tendem a generalizar-se. Nestes casos, o pelo torna-se escasso em áreas mais alargadas e a pele torna-se mais áspera, seca e eritematosa, ocasionando piodermatites concomitantes por *Staphylococcus* spp. (Bowman 2014).

O diagnóstico da sarna demodécica é baseado na interpretação dos sinais clínicos e na realização de raspagens profundas de pele que confirmem a presença do parasita (Six et al. 2016).

O seu tratamento depende da forma como a doença se manifesta e apenas é iniciado se esta evoluir para demodicose generalizada. A maior parte dos regimes de tratamento são baseados no uso de lactonas macrocíclicas como a milbemicina oxima, ivermectina, moxidectina ou doramectina ou da classe das isoxazolininas como sarolaner e furalaner (Saari et al. 2019).

3.2.1.2. *Sarcoptes scabiei*

S. scabiei é o agente responsável pela sarna sarcóptica, que afeta o ser humano, cão, entre outras espécies de mamíferos (Bowman 2014). Esta parasitose é comum em cães de todas as raças e idades e está distribuída mundialmente (Saari et al. 2019).

Estes ácaros vivem em galerias que escavam nas camadas superficial queratinizada da epiderme. Ainda assim, todos os estádios do seu desenvolvimento, exceto as fêmeas adultas, podem também ser encontrados à superfície da pele (Saari et al. 2019). Todo o seu ciclo de vida é passado no hospedeiro (Taylor et al. 2016).

O ácaro adulto possui uma forma arredondada, com cerca de 0,3 mm a 0,6 mm de comprimento nas fêmeas e até 0,3 mm nos machos (Taylor et al. 2016).

Esta sarna é facilmente transmitida entre cães e as manifestações dermatológicas, geralmente, iniciam-se com áreas localizadas de alopecia, usualmente nos cotovelos e orelhas, que se podem generalizar (Saari et al. 2019; Bowman 2014). As lesões consistem em pápulas, áreas de eritema, crostas e escoriações, que resultam do incessante coçar provocado pelo intenso prurido. Consequentemente, as infeções bacterianas secundárias são uma das complicações frequentes (Bowman 2014).

Os sinais clínicos, associados a uma história de contacto com potenciais fontes de infeção, ocasionam a suspeita de sarna sarcóptica. O diagnóstico pode ser confirmado através da visualização dos ácaros numa amostra de pele, que deve ser recolhida de diferentes locais, com profundidades diferentes (Saari et al. 2019).

Os produtos médico-veterinários registados para tratamento da infeção por *S. scabiei* contêm substâncias ativas dos grupos das lactonas macrocíclicas, como por exemplo, selamectina ou da classe das isoxazolininas, como por exemplo, sarolaner (Saari et al. 2019; Becskei et al. 2016).

A sarna sarcóptica canina é uma zoonose e rapidamente origina dermatite em pessoas expostas a cães infetados. Normalmente, as lesões são autolimitantes, com duração de 2 a 6 semanas (Saari et al. 2019).

3.2.2. Ixodídeos

Os ixodídeos são ectoparasitas hematófagos obrigatórios dos animais e seres humanos. Apesar dos esforços de controlo de infestações, estes e os agentes patogénicos que transmitem continuam a ser um problema importante de saúde pública e animal, a nível mundial (Estrada-Peña et al. 2011).

As carraças da família *Ixodidae* são relativamente grandes, com 2 a 20 mm de comprimento e apresentam-se achatadas dorso-ventralmente. (Taylor et al. 2016). A

sua superfície dorsal contém um escudo que a cobre totalmente, no caso do macho, mas que apenas cobre parcialmente a fêmea. (Bowman 2014).

Os ixodídeos são endêmicos praticamente por toda a Europa, onde a maior parte das espécies encontradas pertencem aos géneros *Ixodes*, *Rhipicephalus* e *Dermacentor* e, menos frequentemente, aos géneros *Haemaphysalis* e *Hyalomma* (ESCCAP 2018).

Estes agentes são vetores importantes de protozoários, bactérias e vírus, que afetam animais de companhia e seres humanos (Taylor et al. 2016). As infeções podem ser transmitidas aos hospedeiros pela saliva, durante a alimentação hematófaga da carraça ou, mais raramente, decorrente da sua ingestão (ESCCAP 2018).

Relativamente ao seu ciclo de vida, a fêmea ingurgitada pode colocar milhares de ovos numa única postura e o número de hospedeiros pode ir de um a três. (Taylor et al. 2016). Uma grande infestação pode ocasionar sinais clínicos típicos de anemia e a ocorrência de infeção no local da picada é possível, assim como o desenvolvimento de micro-abscessos, em consequência da permanência das peças bucais na pele quando se remove incorretamente a carraça (ESCCAP 2018).

Quando notadas no cão, devem ser imediatamente removidas e deve ser aplicado um tratamento eficaz para controlo destes ectoparasitas (Saari et al. 2019). Este é efetivado, geralmente, através da aplicação tópica de fipronil, piretrinas e permetrinas (Bowman 2014).

A principal importância dos ixodídeos prende-se como o seu importante papel como vetor de agentes patogénicos. (ESCCAP 2018).

3.2.2.1. *Ixodes* spp.

O género *Ixodes* é o maior género da família, com cerca de 250 espécies. Os seus elementos distinguem-se morfológicamente de outros géneros, por não possuírem ornamentos, olhos ou festões e pela posição anterior do sulco anal. As peças bucais são longas, sendo mais compridas na fêmea que no macho (Taylor et al. 2016).

Em Portugal, aparecem de norte a sul, com maior predominância em regiões com grande cobertura vegetal e com elevados níveis de humidade relativa (Dumont et al. 2014; Silva et al. 2006).

Este género apresenta um papel importante devido à capacidade de transmissão dos agentes responsáveis pela borreliose e a anaplasmose (Saari et al. 2019).

I. ricinus é a espécie que apresenta maior destaque em Saúde Pública, uma vez que é o principal vetor de *Borrelia burgdorferi*, agente da doença de Lyme (Silva et al. 2006).

3.2.2.2. *Rhipicephalus* spp.

O género *Rhipicephalus* é, provavelmente, o género de ixodídeos mais distribuído pelo mundo. Na Europa, é especialmente abundante nas regiões mediterrâneas, sendo a espécie *Rhipicephalus sanguineus* uma das mais relevantes no nosso país (Saari et al 2019; Silva et al 2006). Juntamente com *I. ricinus*, foram as espécies recolhidas com maior frequência no ser humano, num estudo efetuado em 2011, que envolveu a recolha de ixodídeos de norte a sul de Portugal (Santos- Silva et al. 2011).

Morfologicamente, apresenta a base do capítulo hexagonal, palpos curtos e olhos e os festões estão, geralmente, presentes. É também um género sem ornamentação (Taylor et al 2016).

A sua importância para a saúde animal está maioritariamente relacionada com a sua capacidade vetorial, em particular com a transmissão de *Ehrlichia canis*, responsável pela erliquiose monocítica canina (Saari et al 2019). É-lhe também atribuída a transmissão de *Anaplasma platys*, *Babesia canis* e *B. vogeli* a cães e de algumas espécies de *Rickettsia* ao ser humano (Santos-Silva et al. 2011).

3.2.2.3. *Dermacentor* spp.

A espécie *Dermacentor reticulatus* está predominantemente distribuída pela Europa Central. (Saari et al. 2019) Em Portugal, é reportada maioritariamente em distritos do norte e centro, incluindo Viseu (Santos-Silva et al. 2011).

Estes ixodídeos apresentam olhos, base do capítulo retangular (mais larga que comprida), palpos curtos e escudo ornamentado (Bowman 2014).

Na Europa, é um vetor importante de *Babesia canis* (Saari et al. 2019). *D. reticulatus* está também associada à transmissão de *Rickettsia slovaca* e *Francisella tularensis* aos seres humanos (Santos-Silva et al. 2011).

3.2.3. Pulgas

As pulgas são pequenos insetos achatados lateralmente, ápteros e altamente especializados (Bitam et al. 2010). Apenas os adultos são parasitas, sendo que os outros estádios residem no ambiente, como, por exemplo, nas camas dos animais de companhia (Taylor et al. 2016).

Ambos os sexos são hematófagos obrigatórios e, para além do dano direto dos vasos sanguíneos decorrente desta característica, apresentam um papel importante como vetor de agentes patogénicos, proporcionando a sua dispersão pelo organismo (Bitam et al. 2010).

Associada à sua presença, a dermatite alérgica à picada de pulga é a manifestação clínica mais comum, podendo ocasionar prurido intenso e lesões dermatológicas graves. (Saari et al. 2019).

A detecção da presença de pulgas pode ser difícil, principalmente se existirem em pequenas quantidades. Quando abundantes, podem ser facilmente observadas macroscopicamente; ainda assim, a escovagem do animal é o método mais sensível para a sua detecção (ESCCAP 2018).

O tratamento de uma infestação de pulgas inclui a eliminação dos adultos através do uso de ectoparasiticidas aprovados, tais como imidaclopride + permetrina (ESCCAP 2018; Matos et al. 2015). O controlo das formas imaturas com inseticidas como a permetrina no ambiente deve também ser considerado, especialmente no caso de grandes infestações. (ESCCAP 2018).

3.2.3.1. *Ctenocephalides* spp.

As pulgas do género *Ctenocephalides* estão amplamente distribuídas pelo mundo e todos os estádios do seu ciclo de vida estão dependentes das condições de temperatura e humidade (Saari et al. 2019).

Morfologicamente, as fêmeas possuem tamanhos superiores aos machos e ambos os géneros contêm três pares de patas, sendo o último par utilizado para saltar (Saari et al. 2019). Os elementos deste género são facilmente distinguíveis de outros géneros de pulgas pela presença de ctenídeos genal e pronotal (Bowman 2014).

Este género é o principal hospedeiro intermediário de *Dipylidium caninum*, um céstode intestinal comum em cães, que se infetam através da ingestão da pulga adulta infetada com larvas cisticercóides (Beugnet et al. 2014).

3.2.3.1.1. *Ctenocephalides felis*

As pulgas desta espécie são castanhas escuras/pretas, com corpo comprimido lateralmente. As fêmeas medem tipicamente cerca de 2,5 mm e os machos são mais pequenos (Taylor et al. 2016).

Esta espécie é extremamente comum em cães e gatos, em regiões tropicais e temperadas e, apesar do nome, é também a espécie mais frequente no cão (Bitam et al. 2010; Saari et al. 2019).

Este parasita parece apresentar um papel importante na transmissão de *Rickettsia felis* e *Bartonella henselae* (Bowman 2014).

3.2.3.1.2. *Ctenocephalides canis*

C. canis é muito semelhante à espécie anterior, no entanto, a cabeça da fêmea é mais arredondada e o primeiro espinho do ctenídeo genal é mais curto que os restantes, o que não se verifica em *C. felis* (Taylor et al. 2016).

3.2.3.2. *Pulex irritans*

Também conhecida como “pulga do ser humano”, esta espécie encontra-se distribuída mundialmente e parasita um variado conjunto de hospedeiros, incluindo o ser humano, suínos e canídeos (Bowman 2014).

Ao contrário das espécies abordadas anteriormente, não possui ctenídeos genal e pronotal. A margem anterior da cabeça é arredondada, possuindo um par de olhos (Figura 6) (Taylor et al. 2016).

Apesar do nome, tem sido observado que *Pulex irritans* prefere a permanência em cães, mesmo quando existe contacto próximo com seres humanos (Yore et al. 2014).



Figura 6. *Pulex irritans* (original). Observado com uma objetiva de 100x

4. Objetivos

O trabalho realizado no decorrer do estágio teve como objetivos:

1. Identificação de endoparasitas (dos aparelhos gastrointestinal e respiratório e hemoparasitas) e ectoparasitas em cães errantes, cães com residência permanente em canil e cães de exterior com detentores, do concelho de Viseu.
2. Realização de um inquérito aos detentores e consciencialização da população sobre parasitoses zoonóticas e bons hábitos de desparasitação.
3. Identificação de parasitas com potencial zoonótico
4. Avaliação da influência de fatores de risco como a idade, sexo, coabitação com outros animais e hábitos de desparasitação

5. Materiais e Métodos

5.1. Caracterização da área geográfica

O Distrito de Viseu situa-se na Região Centro-Norte de Portugal, a sul do Rio Douro entre os Distritos da Guarda a oriente, Aveiro a ocidente e Coimbra a sul (Meteoviseu 2010). A Serra do Caramulo, localizada a oeste, assume um papel relevante em

termos climáticos, atenuando as massas de ar do Oeste. Assim, Viseu possui um clima mediterrânico com influência continental e marítima. O inverno é húmido e frio, com temperaturas médias mensais perto dos 9 °C, e o verão é quente e seco, com máximas próximas dos 35 °C (ESTGV-DEC 2021).

5.2. Caracterização da amostra populacional estudada

A amostra populacional no presente estudo compreende cães do concelho de Viseu, agrupados de acordo com o seu habitat em três grupos distintos.

O primeiro grupo inclui cães com residência permanente no Cantinho dos Animais Abandonados de Viseu. Neste grupo, foram recolhidas amostras fecais de 19 animais, amostras sanguíneas de 15 animais e ectoparasitas, nomeadamente ixodídeos, de 4 animais. O grupo dos 19 animais residentes no CAAV incluídos na amostra populacional inclui 10 animais do sexo feminino e 9 do sexo masculino. No CAAV, todas as fêmeas e machos são esterilizados como medida de controlo populacional e medida preventiva de algumas patologias comuns, como neoplasias mamárias e testiculares. Os animais foram agrupados de acordo com a sua idade em três categorias distintas: cães com idade inferior a um ano; cães com idade compreendida entre um e seis anos; cães com idade superior a seis anos.

A idade mínima, neste grupo, é de 2 anos e a máxima de 12 anos. Esta foi estimada com base na dentição e tempo de permanência no canil, de acordo com os relatos dos funcionários do CAAV. Todos os animais neste grupo são considerados cães de raça indefinida.

O segundo grupo abrange cães errantes do concelho de Viseu, que deram entrada no CAAV, durante o período de recolha das amostras do estudo. Este grupo compreende 24 animais, com idades compreendidas entre os 2 meses e os 9 anos. Neste grupo, foram recolhidas amostras fecais de 23 animais, amostras sanguíneas de 14 animais e ectoparasitas presentes em 3 animais. Também neste grupo a idade foi estimada através da observação da dentição e, por vezes, por relatos de residentes da zona de recolha do animal.

Do último grupo - cães com detentores, com residência no exterior, em meio rural - foram recolhidas amostras fecais de 17 animais, amostras sanguíneas de 12 animais e ectoparasitas de 3 animais. Dos 20 animais pertencentes a este grupo, com idades compreendidas entre os 6 meses e os 11 anos, verifica-se um maior número de machos (n=15) relativamente a fêmeas (n=5). Durante a recolha das amostras neste grupo, foi entregue um inquérito aos detentores, com o objetivo de caracterizar o animal e averiguar os seus hábitos de desparasitação.

5.2.1. Cantinho dos Animais Abandonados de Viseu

As amostras fecais, de sangue e ectoparasitas de dois dos grupos estudados foram recolhidas nas instalações da Associação do Cantinho dos Animais Abandonados de Viseu. O abrigo localiza-se na freguesia de Rio de Loba, no concelho de Viseu, numa área pouco habitada e maioritariamente florestal. Nas suas proximidades, localizam-se um centro de equitação e a Associação de Produtores de Gado da Beira Alta.

A Associação conta com 113 boxes, com tamanhos diversificados e diferentes capacidades de alojamento, e 3 gatis, com espaço exterior e interior (Figuras 7 e 8). Durante a fase de recolha das amostras, albergava, aproximadamente, 600 animais. Devido à ausência de um centro de recolha oficial de animais no concelho de Viseu, o abrigo recebe os animais errantes recolhidos pela Câmara Municipal de Viseu, sob a supervisão do Médico Veterinário Municipal. À chegada, é realizado um exame físico rigoroso aos animais, um teste rápido para detetar a presença de anticorpos anti-*Leishmania* (Speed Leish K®) e aplicada profilaxia sanitária, nomeadamente desparasitação e vacinas. Habitualmente, os animais são desparasitados internamente com fármacos contendo praziquantel e fenbendazol e externamente com pipetas com fipronil ou permetrina. São efetuados tratamentos sempre que se justifique, uma vez que o abrigo conta com uma médica e uma enfermeira veterinária permanentes.

Atualmente, o Cantinho dos Animais Abandonados de Viseu é uma das associações portuguesas que conta com a parceria de associações holandesas que promovem a adoção de animais abandonados em Portugal, junto dos cidadãos holandeses.



Figura 7. Instalações do CAAV (original)



Figura 8. Instalações do CAAV (original)

5.2.2. Inquérito aos detentores de cães com residência no exterior, em meio rural

No grupo de “Cães de exterior, com detentores, em meio rural ou semiurbano” foi entregue o inquérito em anexo, (anexo 1), com o objetivo de obter algumas informações consideradas relevantes para o estudo. Previamente à aplicação do

inquérito aos detentores dos cães cujas amostras foram utilizados no estudo, foi efetuada uma fase de pré-teste cujos objetivos passaram por discutir e analisar as características e limitações do tipo de questões a serem incluídas no mesmo. Esta fase incluiu dez participantes, dos quais quatro eram Médicos(as) veterinários(as), dois com Mestrado em Psicologia e quatro com o nível secundário de escolaridade.

Através do inquérito, foram averiguadas as idades, sexo e raça dos animais, bem como a existência ou não de coabitação com outros animais e presença ou ausência de doenças conhecidas.

Por fim, foi questionada a aplicação de protocolos de desparasitação interna e externa e as substâncias ativas utilizadas nas mesmas.

5.3. Colheita e processamento das amostras

As amostras fecais de todos os grupos estudados foram recolhidas do solo, devidamente identificadas com o nome do animal e número da boxe (quando aplicável) e armazenadas no frio, a 4 °C, durante um período máximo de duas semanas. No grupo de cães errantes, que deram entrada nas instalações do CAAV, essa recolha foi efetuada durante as primeiras 24 horas seguintes à sua entrada e antes da implementação de qualquer medida profilática, nomeadamente desparasitações. Seguiu-se o transporte em mala térmica, de Viseu até ao Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, onde foram analisadas. As formas parasitárias adultas presentes e visíveis nas fezes foram colocadas em recipientes contendo álcool a 70 %, identificadas e posteriormente observadas também no laboratório.

O sangue, utilizado na pesquisa de hemoparasitas, foi recolhido da veia cefálica, após desinfecção da zona com álcool a 96%. A veia foi puncionada com agulha de 23 gauge acoplada a uma seringa de 3 ml. Imediatamente após a recolha, foram preparados três esfregaços sanguíneos por animal, e no caso particular do grupo de animais errantes que deram entrada no CAAV, realizados testes rápidos Speed Leish K[®] para deteção de anticorpos anti- *Leishmania*. Os esfregaços secaram e foram armazenados à temperatura ambiente. A coloração pelo método de Giemsa e a observação microscópica foi realizada no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.

A colheita de pulgas e ixodídeos foi efetuada com o auxílio de uma pinça. Os ectoparasitas foram armazenados em álcool a 70 % e identificados também no laboratório, com recurso a chaves dicotómicas, após observação à lupa ou ao microscópio. Quando se suspeitou da presença de ácaros da sarna, foram aplicadas

as técnicas da fita-cola e raspagem cutânea e posterior observação da lâmina ao microscópio.

5.4. Técnicas laboratoriais

5.4.1. Técnicas laboratoriais utilizadas na pesquisa de parasitas nas amostras fecais

5.4.1.1. Esfregaço fecal direto

As técnicas mais comuns de detecção de ovos ou larvas de parasitas gastrointestinais em amostras de fezes incluem a técnica de esfregaço fecal direto (Charoensuk et al. 2019).

Esta técnica implica a mistura de uma pequena quantidade de fezes e algumas gotas de água numa lâmina de microscópio. Por fim, é colocada uma lamela em cima do fluído e a preparação é examinada ao microscópio, nas ampliações totais de 100x e 400x. (Taylor et al. 2016).

É possível detetar uma grande variedade de ovos ou larvas de diversas espécies de parasitas gastrointestinais através deste método; no entanto, devido à pouca quantidade de fezes utilizadas, é possível que apenas sejam detetados em grandes infeções (Taylor et al. 2016).

Ainda que a técnica de esfregaço fecal direto tenha sido usada durante muitos anos para diagnóstico de parasitas gastrointestinais e ainda seja útil, é considerada rudimentar e, muitas vezes, propicia resultados falsos negativos (Ballweber et al. 2014).

5.4.1.2. Técnica de flutuação pelo método de Willis

A base de qualquer método de flutuação baseia-se no princípio de que os ovos, quistos ou oocistos de parasitas gastrointestinais, quando suspensos num fluído com uma gravidade específica superior à sua, flutuarão até à superfície (Ballweber 2006; Taylor et al. 2016).

No entanto, se a gravidade específica do fluído for demasiado elevada, mais detritos fecais flutuarão e eventualmente irão camuflar os ovos, quistos ou oocistos.

Adicionalmente, pode ocorrer plasmólise, osmose ou rotura dos diferentes estádios, dificultando a sua identificação (Ballweber 2006).

A técnica consiste na mistura de uma pequena quantidade de fezes com uma solução de flutuação, que é posteriormente filtrada e vertida num tubo de ensaio. De seguida, é adicionada novamente a solução de flutuação até ao topo do tubo de ensaio e imediatamente colocada uma lamela à superfície do mesmo. Por fim, 10 a 15 minutos

depois, a lamela é colocada numa lâmina e observada ao microscópio (Taylor et al. 2016).

Neste trabalho laboratorial, foi utilizada uma solução saturada de sacarose como solução de flutuação. As lâminas foram observadas ao microscópio ótico nas ampliações totais de 100x e 400x para identificação e medição das formas parasitárias presentes.

5.4.1.3. Técnica de sedimentação natural

A técnica de sedimentação natural é principalmente usada para a detecção de ovos de trematodes, que não são observados no método de flutuação. Na sua forma mais básica, uma pequena quantidade de amostras fecais é combinada com água corrente. A solução é colocada num tubo de ensaio, que permanece em repouso alguns minutos, antes do sobrenadante ser descartado (Ballweber 2006).

Neste estudo, a técnica de sedimentação natural foi realizada em simultâneo com a técnica de flutuação pelo método de Willis, já descrita anteriormente. O sobrenadante foi descartado e, com o auxílio de uma pipeta de Pauster, foi colocada uma gota do material sedimentado numa lâmina, onde se adicionou uma gota de corante azul de metileno, uma vez que este cora todos os detritos e componentes fecais de azul, exceto os ovos, facilitando a sua visualização (Santos 2013). Após esta etapa, foi colocada uma lamela sobre a mistura e procedeu-se à observação ao microscópio ótico, nas ampliações totais de 100x e 400x.

5.4.1.4. Técnica de Baermann

A técnica de Baermann é um método utilizado para a extração de larvas de nematodes das fezes. É usada com maior frequência para a detecção de larvas de nematodes que parasitam o aparelho respiratório (Ballweber 2006).

O procedimento aproveita-se da incapacidade que a maior parte das larvas de nematodes têm em movimentar-se contra a gravidade (Bowman 2014).

Neste trabalho laboratorial, foi utilizado o mesmo método descrito por Santos (2014), iniciando-se a técnica com a colocação de uma amostra de fezes, do tamanho de uma noz, dentro de uma gaze, a qual foi dobrada e fechada no topo para formar uma pequena trouxa. Seguidamente foi colocada num copo cónico contendo água da torneira e o conjunto foi submetido a ligeiro aquecimento em estufa a 27 °C , pelo menos sessenta minutos. A água aquecida estimula a saída das larvas da amostra que, em seguida, relaxam e caem no fundo do recipiente, pela gravidade (Ballweber 2006).

Passadas 24 horas, retirou-se a amostra embrulhada em gaze, deixou-se o remanescente líquido sedimentar e com uma pipeta de Pasteur aspirou-se algumas

gotas do sedimento, que foram colocadas entre lâmina e lamela. Por fim, observou-se ao microscópio ótico com a ampliação total de 100x (Santos 2014).

Em grandes infecções, é possível que ocorra extração de larvas das amostras fecais em apenas uma hora (Bowman 2014).

5.4.1.5. Esfregaço fecal corado pela técnica de Ziehl-Neelsen modificado

Existem vários métodos disponíveis para a deteção laboratorial de protozoários parasitas em amostras fecais (Manser et al. 2013).

O método de Ziehl-Neelsen é uma das várias técnicas de coloração que permitem a diferenciação de quistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. em resíduos fecais (Taylor et al. 2016).

Durante o processamento das amostras fecais, foi utilizada a técnica descrita por Casemore et al. (1985), que se iniciou com a realização de um esfregaço fecal. A coloração do esfregaço foi efetuada após um longo período de secagem ao ar, habitualmente de 24 horas.

O processo de coloração encontra-se descrito no anexo 2. Após o mesmo, procedeu-se à observação ao microscópio ótico com óleo de imersão na ampliação total de 1000x.

5.4.1.6. Teste de imunocromatografia Uranotest Giardia®, Uranovet SL, Barcelona, Espanha

O teste de imunocromatografia Uranotest Giardia foi utilizado para a confirmação de alguns casos suspeitos de infeção por *Giardia* spp., no CAAV. Esta técnica de imunodiagnóstico permite a deteção de antígeno de *Giardia* spp nas fezes e apresenta, quando comparada com as técnicas tradicionais de observação microscópica, valores superiores de especificidade e sensibilidade. Estas características e a impossibilidade de existirem reações cruzadas com outros agentes patogénicos intestinais justificam a sua eleição como método de diagnóstico de giardiose sempre que existem casos com sinais clínicos compatíveis com a doença. O procedimento consiste na recolha de uma quantidade adequada de fezes com uma zaragatoa, que é posteriormente mergulhada e homogeneizada num tubo que contém a solução solvente. De seguida, com o auxílio de uma pipeta de Pasteur, são colocadas 4 gotas da solução no poço de amostra do teste e os resultados são interpretados 5 a 10 min depois. A validade e positividade são confirmadas se ambas as bandas de controlo e do teste forem visíveis (URANOVET 2020).

5.4.2. Técnicas laboratoriais utilizadas na pesquisa de parasitas nas amostras de sangue

5.4.2.1. Esfregaço sanguíneo corado pela técnica de Giemsa

Os esfregaços sanguíneos, corados pela técnica de Giemsa e examinadas ao microscópio sob óleo de imersão, são frequentemente utilizados para detetar piroplasmas, como *Babesia* spp. e *Theileria* spp., e infeções por rickettsias, como *Anaplasma* e *Ehrlichia* (Taylor et al. 2016).

A técnica inicia-se com a realização de um esfregaço sanguíneo. Após a sua secagem à temperatura ambiente, procede-se à fixação com metanol durante um minuto, à qual se segue a coloração com Giemsa durante 1 minuto. A lâmina é imediatamente lavada com água corrente. Por fim, é observada ao microscópio ótico, com óleo de imersão, na ampliação total de 1000x.

A sensibilidade deste método é baixa e as infeções por hemoparasitas podem facilmente não ser detetadas (Ballweber 2006).

5.4.2.2. Teste de imunocromatografia Speed Leish K®, Bio Véto Test, La Seyne sur Mer, França

O teste de imunocromatografia Speed Leish K® foi aplicado aos cães recolhidos e admitidos no Cantinho dos Animais Abandonados de Viseu. Este teste é um imunoensaio utilizado na deteção de anticorpos anti-*Leishmania infantum* nos cães (Virbac 2020).

O procedimento consiste na adição de uma gota de amostra (neste caso, sangue total), no poço de amostra, seguido de 5 gotas do reagente do teste. Caso não seja observada qualquer migração no período de 2 minutos, deve adicionar-se mais 2 gotas de reagente. Após 15 minutos, dispomos do resultado do teste (Virbac 2020).

O princípio do teste consiste na ligação das partículas coradas do conjugado a qualquer anticorpo anti-*Leishmania infantum* presentes na amostra. Os complexos conjugado/anticorpo migram por capilaridade ao longo da membrana. Estes são capturados por antígenos específicos de *Leishmania*, presentes na membrana, formando uma banda cor-de-rosa por acumulação de partículas coloridas. A mistura continua a migrar progressivamente até ao final da membrana, onde as restantes partículas coloridas formam uma banda de controlo que confirma a validade do teste. Os positividade/negatividade do teste é interpretada de acordo com o número de bandas coloridas existentes. Se apenas houver uma banda (de controlo), o teste é considerado negativo. Caso existam duas bandas rosas distintas, então o teste é

positivo. Qualquer alteração da cor da banda do teste deve ser considerada como um resultado positivo (Virbac 2020).

5.5. Análise estatística

Os resultados decorrentes das análises laboratoriais das amostras de fezes e sangue e da recolha de ectoparasitas foram registados e organizados no programa Excel 2019®, onde também foram estimadas as prevalências e os intervalos de confiança (IC) de 95%.

A existência de associações estatisticamente significativas entre os fatores de risco analisados e a existência de infeção parasitária foi determinada com recurso à ferramenta R 4.0.2 Program, através dos testes de Qui-Quadrado de Pearson (χ^2) e de Fisher. Valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos para toda a análise (R Core Team 2020).

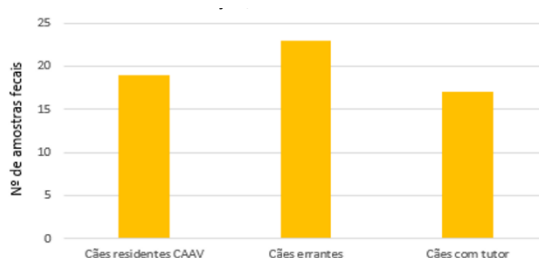
6. Resultados

6.1. Resultados das Amostras Fecais

6.1.1. Caracterização da amostra populacional

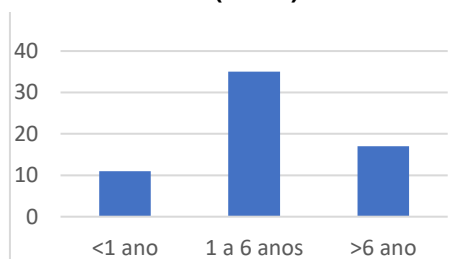
Foram recolhidas amostras fecais de 60 animais, pertencentes a três diferentes grupos, representadas no gráfico1. 19 amostras pertenciam a cães residentes no CAAV, 24 a cães errantes, que foram recolhidos pelos serviços municipais e que deram entrada no CAAV, e 17 a cães com detentores, de exterior, que habitam em meio rural.

Gráfico 1. Distribuição das amostras fecais pelos grupos analisados



Dos 60 cães dos quais foram recolhidas amostras fecais, 46,7% (28/60) eram fêmeas e 53,3 % (32/60) eram machos. Estas amostras pertenciam, maioritariamente, a animais com idades entre um e seis anos (56,6%), sendo que 16,7% representavam cães com idade inferior a um ano e 26,7 % a cães com mais de seis anos

Gráfico 2. Distribuição por idades, dos cães dos quais foram recolhidas amostras fecais (n= 60)



de idade. A distribuição das amostras, por idade, encontra-se representada no gráfico 2.

Foram recolhidas amostras de 5 cães (8,33%) com raça definida e 55 (91,67%) com raça indeterminada.

De modo a analisar a relevância de alguns fatores de risco, foram realizados inquéritos aos detentores dos cães de exterior, que habitam em meio rural, dos quais foram recolhidas as 17 amostras fecais. Os detentores foram questionados sobre os dados do animal (nome, idade, sexo), a existência ou ausência de coabitação com outros animais, representada no gráfico 3, e os seus hábitos de desparasitação, refletidos no gráfico 4. Uma percentagem de 64,7% dos cães deste grupo partilhavam habitação com outros animais, nomeadamente outros cães ou gatos. Através das respostas aos questionários, verificou-se também que apenas metade dos detentores (52,9%) desparasitavam regularmente os seus animais.

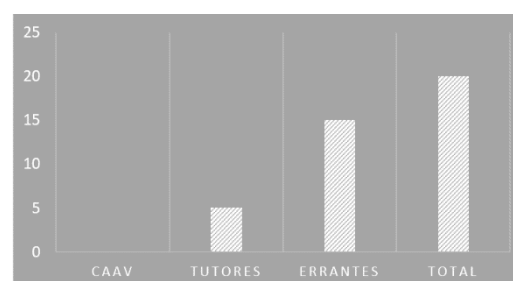
Gráficos 3 e 4. Distribuição dos cães com detentores, de acordo com a existência de coabitação com outros animais e hábitos de desparasitação



6.1.2. Resultados gerais dos parasitas gastrointestinais encontrados nas amostras fecais

Das 60 amostras fecais analisadas em laboratório, 40 (66,67%) [IC 95%: 55,03%-78,31%] apresentaram resultado negativo em todas as técnicas de análise coprológica utilizadas, obtendo-se uma prevalência de 33,33% [IC 95%: 21,69%-44,97%] de amostras positivas. Através da análise do gráfico 5, observou-se que 25% das amostras positivas pertenciam a cães com detentores e 75% a cães errantes, não tendo sido encontrada qualquer amostra positiva entre as amostras fecais recolhidas de cães residentes do CAAV.

Gráfico 5. Distribuição das amostras positivas, por grupo de origem



As distribuições das amostras fecais positivas a, pelo menos, um parasita gastrointestinal, por sexo e por idades, encontram-se representadas nos gráficos 6 e 7, respetivamente, observando-se que estão equitativamente distribuídas por sexo, uma vez que dez (50%) pertencem a fêmeas e dez (50%) pertencem a machos. Verificou-se que a maior parte das amostras positivas, 45% (9/20), são relativas a cães com menos de um ano de idade e que à faixa etária com maior número de amostras recolhidas (1 a 6 anos) correspondiam 40% (8/20) das amostras positivas. Apenas 15% (3/20) das amostras positivas pertencia a cães com mais de seis anos.

Gráfico 6. Distribuição das amostras positivas, por sexo

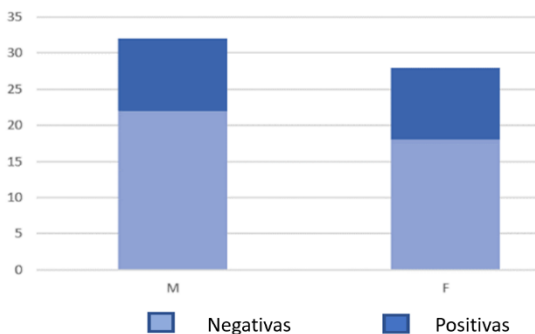
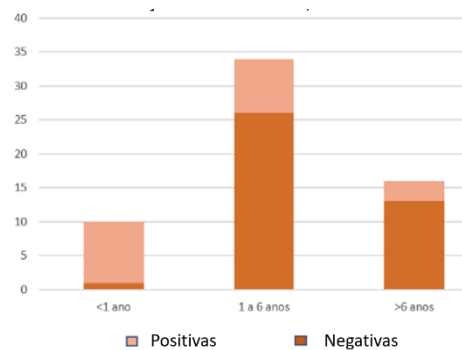


Gráfico 7. Distribuição das amostras positivas, por idades



Foi detetada uma prevalência de 20% (12/60) [IC 95%: 10,12%-29,88%] de infeções simples, com apenas uma

espécie encontrada nas análises coprológicas utilizadas e uma prevalência de 13,33% (8/60) [IC 95%: 4,94%-21,72%] de infeções mistas,

com duas ou mais espécies identificadas. As prevalências das infeções gastrointestinais,

encontram-se expressas no gráfico 8. *Giardia* spp., *Toxocara canis* e *Trichuris vulpis* foram as espécies encontradas isoladamente através da análise coprológica das amostras fecais.

No total, foram identificados sete géneros diferentes de parasitas através do processamento e

observação das amostras fecais, enumerados na tabela 3, com as respetivas

frequências absolutas e prevalências. A espécie encontrada com maior frequência foi *Toxocara canis*, presente em 8 (13,33% [IC 95%: 4,94%-21,72%]) das 60 amostras analisadas, seguida de *Trichuris vulpis*, com uma prevalência de 11,67% [IC 95%: 4,38%-19,59%], e *Uncinaria stenocephala*, com uma prevalência de 10% [IC 95%: 2,6%-17,4%].

Gráfico 8. Prevalência das infeções gastrointestinais

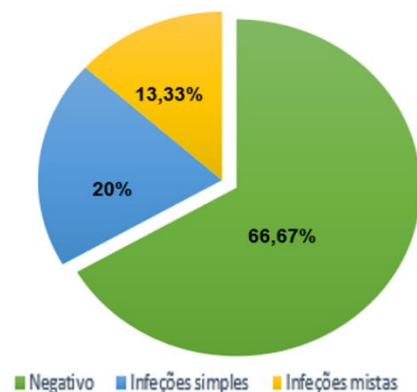


Tabela 3. Prevalência dos diferentes parasitas encontrados nas amostras fecais

Espécies de parasitas encontradas nas amostras fecais	Frequência absoluta	Prevalência
<i>Ancylostoma caninum</i>	2	3,33% [IC 95%: 0%-7,76%]
<i>Cystoisospora</i> spp.	1	1,67% [IC 95%: 0%-4,83%]
<i>Dipylidium caninum</i>	2	3,33% [IC 95%: 0%-7,76%]
<i>Giardia</i> spp.	4	6,67% [IC 95%: 0,51%-12,83%]
<i>Toxocara canis</i>	8	13,33% [IC 95%: 4,94%-21,72%]
<i>Trichuris vulpis</i>	7	11,67% [IC 95%: 4,38%-19,59%]
<i>Uncinaria stenocephala</i>	6	10% [IC 95%: 2,6%-17,4%]

6.1.3. Resultados por técnica coprológica

Através da observação dos esfregaços fecais diretos foram detetadas formas parasitárias em 9 amostras fecais, obtendo-se uma prevalência de 15 % [IC 95%: 6,18%-23,82%]. Através desta técnica laboratorial, foram observados ovos de *Uncinaria stenocephala*, *Trichuris vulpis* e *Toxocara canis*.

A técnica de flutuação pelo método de Willis permitiu a detecção de formas parasitárias em 15 das 60 amostras fecais analisadas, o que correspondeu a uma prevalência de 25% [IC 95%: 14,31%-35,69%]. A maior parte das observações consistiu em ovos de *Toxocara canis*, mas também foram observados ovos de *Uncinaria stenocephala*, *Trichuris vulpis* e *Ancylostoma caninum*.

Pela técnica de sedimentação natural foram detetadas 14 amostras positivas (23,3% de prevalência [IC 95%: 12,89%-33,77%]). Foram observados ovos de *Toxocara canis*, *Uncinaria stenocephala*, *Trichuris vulpis* e *Dipylidium caninum*.

Não foram detetadas quaisquer formas parasitárias pelo método de Baermann e através da observação dos esfregaços fecais corados pelo método de Ziehl-Neelsen foram observados quistos de *Giardia* spp. em apenas duas das amostras fecais, correspondendo, assim, a uma prevalência de 3,33% [IC 95%: 0%-7,76%].

6.1.4. Resultados das amostras fecais do grupo de cães residentes no CAAV

No CAAV foram recolhidas 19 amostras fecais de cães com residência nas suas instalações há mais de um ano. A amostra populacional foi constituída por 10 fêmeas (52,63%) e 9 machos (47,37%), representada no gráfico 9. No gráfico 10 encontra-se representada a distribuição destas amostras fecais, por idade. Doze (63,16%) animais encontravam-se no grupo etário do 1 aos 6 de idade e 8 (36,87%) apresentavam mais de 6 anos. No CAAV são regularmente administrados desparasitantes que possuem uma combinação de substâncias ativas que são eficazes na eliminação de nematodes e cestodes gastrointestinais, nomeadamente, febendazol e praziquantel. Após a análise laboratorial das amostras fecais provenientes destes animais, não foram observadas quaisquer formas parasitárias em nenhuma das técnicas laboratoriais utilizadas.

Gráfico 9. Distribuição dos cães residentes no CAAV, por sexo

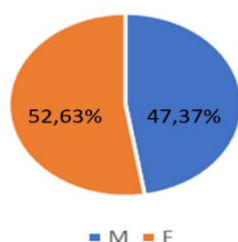
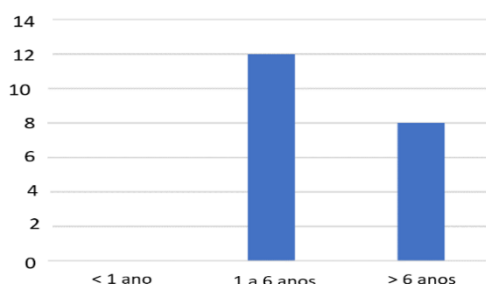


Gráfico 10. Distribuição dos cães residentes no CAAV, por idade



6.1.5. Resultados das amostras fecais do grupo de cães com detentores

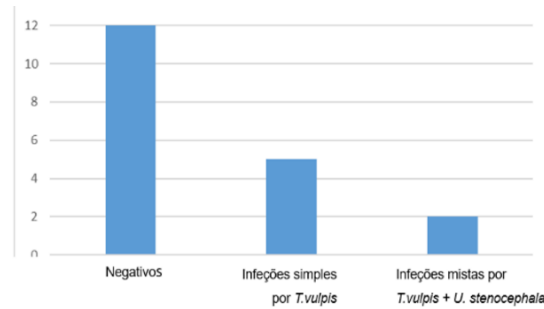
No grupo de cães com detentores foram recolhidas amostras fecais de 17 cães com permanência, maioritariamente, no exterior, ainda que, no total, este grupo tenha incluído 20 animais. As três amostras em falta deve-se à impossibilidade de localização das fezes destes animais, uma vez que o seu habitat incluía uma vasta zona campestre.

Neste conjunto, foram detetadas formas parasitárias em apenas cinco amostras fecais. Em todas as amostras positivas foram observados ovos de *Trichuris vulpis* e em duas delas ovos de *Uncinaria stenocephala* (Figura 9). A distribuição destes valores de frequência absoluta encontra-se demonstrada no gráfico 11.



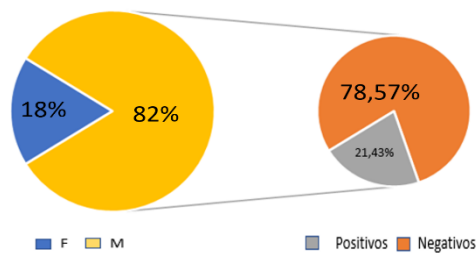
Figura 9. Ovo de *Uncinaria stenocephala* (original). Observado com uma objetiva de 400x

Gráfico 11. Infecções gastrointestinais do grupo de cães com detentores



As 17 amostras fecais pertenciam a 14 (82%) machos e 3 (18%) fêmeas, sendo que das 5 amostras consideradas positivas, 3 pertenciam a machos, como evidenciado pelo gráfico 12. (prevalência de 21,43% [IC 95%: 0%-42,8%]).

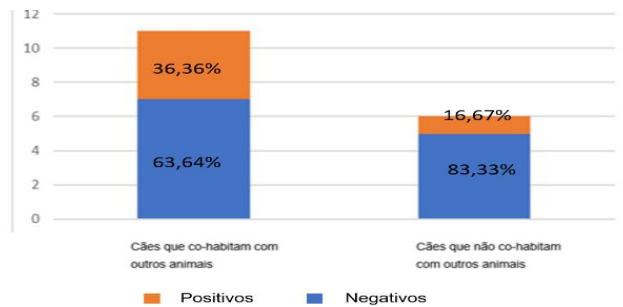
Gráfico 12. Distribuição das infecções gastrointestinais, do grupo de cães com detentores, por sexo



Relativamente à sua distribuição, por idades, observou-se que, dos cinco animais parasitados, um (5,88%) apresentou idade inferior a um ano, três (17,65%) apresentaram idades superiores a seis anos e um (5,88%) situa-se no grupo que compreende as idades entre um e seis anos.

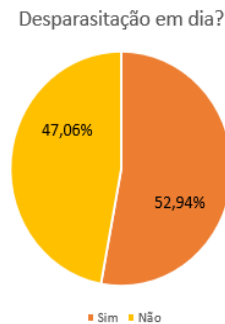
Após a leitura dos questionários entregue aos detentores aquando a recolha de amostras provenientes dos seus animais, verificou-se que 64,7% (11/17) partilhava habitação com outros animais, nomeadamente outros canídeos (29,41%), felídeos (5,88%) ou ambos (23,53%). Observou-se também que, das 5 amostras positivas, 4 pertenciam a cães que possuíam coabitação com outros animais, o que equivale a uma prevalência de 36,36 % [IC 95%: 7,94%-65,02%]. A distribuição das infecções gastrointestinais, neste grupo, de acordo com a existência ou não de coabitação com outros animais, encontra-se representada no gráfico 13.

Gráfico 13. Distribuição das infeções gastrointestinais dos cães com detetores, de acordo com a existência ou não de coabitação com outros animais



A análise das respostas dos questionários entregues aos detetores permitiu também a perceção dos hábitos de desparasitação dos cães ao seu cuidado, quer para parasitas internos, quer para parasitas externos. Pela análise do gráfico 14, verificou-se que os 52,94% (9/17) dos detetores que cumpriam com bons hábitos de desparasitação interna eram também os detetores que desparasitavam externamente, todos os meses, os seus animais. Dos cinco animais parasitados neste grupo, apenas um possuía desparasitação interna e externa em dia, o que correspondeu a uma prevalência de 11,11% [IC 95%: 0%-31,64%].

Gráfico 14. Hábitos de desparasitação



6.1.6. Resultados das amostras fecais do grupo de cães errantes

A amostra populacional, neste grupo, correspondeu a 24 cães recolhidos pelos serviços municipais da Câmara Municipal de Viseu e que deram entrada nas instalações do CAAV. As amostras fecais foram analisadas antes da administração de qualquer tipo de princípio ativo que atua como desparasitante interno ou externo. Este grupo incluiu nove machos (37,5%) e quinze fêmeas (62,5%), sendo que apenas dois (8,33%) dos animais recolhidos apresentavam raça definida (Yorkshire terrier e Schnauzer miniatura).

Após a análise laboratorial das amostras fecais, foram detetados 15 animais parasitados. Das 15 amostras positivas, nove (60%) pertenciam a fêmeas e seis (40%) a machos. Verificou-se que 100% (8/8) das amostras fecais recolhidas de animais com idade inferior a um ano de idade continham formas parasitárias. Cinco destas amostras fecais foram positivas ao parasita *Toxocara canis* (Figura 10) e três a *Giardia* spp. No grupo etário que engloba as idades do um aos 6 anos, foram consideradas

positivas sete amostras fecais (50% [IC 95%: 23,81%-76,19%]). Nas duas amostras recolhidas de cães com idade estimada superior a 6 anos não foi detetado qualquer parasita. Este grupo, para além de apresentar o maior número de amostras positivas, é também aquele onde se encontrou uma maior diversidade de espécies que parasitam o aparelho gastrointestinal. Foram detetados quatro diferentes géneros de nematodes gastrointestinais (*Ancylostoma*, *Toxocara*, *Trichuris* e *Uncinaria*), um género pertencente à classe Cestoda (*Dipylidium*) (Figura 11) e dois géneros de protozoários gastrointestinais (*Cystoisospora* e *Giardia*). A sua distribuição, de acordo com o seu valor absoluto, encontra-se representada no gráfico 15.



Figura 10. Ovo de *Toxocara canis* (original). Observado com uma objetiva de 400x

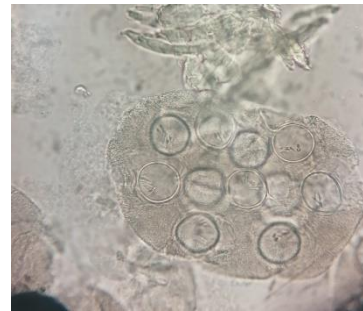
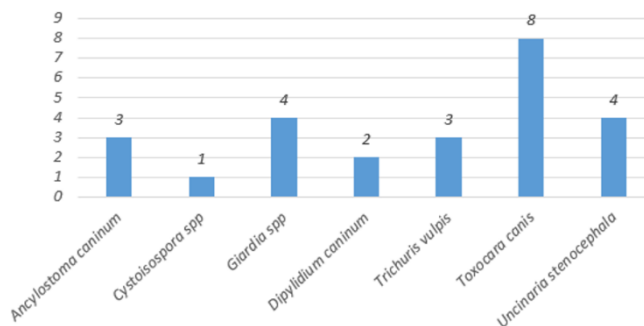


Figura 11. Ovo de *Dipylidium caninum* (original). Observado com uma objetiva de 400x

Gráfico 15. Parasitas gastrointestinais encontrados nos cães errantes



6.1.7. Associações estatísticas entre infeções por parasitas gastrointestinais e os fatores de risco analisados

Com o objetivo de perceber a influência do local de origem na ocorrência ou não de infeção por parasitas gastrointestinais, relacionaram-se as prevalências obtidas nos diferentes grupos analisados, tentando verificar-se a sua permanência no canil, na rua ou em meio rural ao cuidado de um detentor seria um fator de risco para a existência de infeção parasitária. Esta associação estatística encontra-se abaixo representada, na tabela 4.

Tabela 4. Associação estatística entre o grupo de origem dos animais e a existência de infecção gastrointestinal

Grupo do estudo	Número total de amostras	Número de amostras positivas	Prevalência (%) [IC 95%]	Associação estatística
Cães residentes no CAAV	19	0	0	$\chi^2=18,288$ <i>p value</i> =0,0001069
Cães com detentores	17	5	29,41% [IC 95%: 9,95%- 48,87%]	
Cães errantes	24	15	62,5% [IC 95%: 43,13%- 81,87%]	
Total	60	20	33,33% [IC 95%: 21,69%- 44,97%]	

Através da realização do teste do chi-quadrado (χ^2), verificou-se que existe uma associação estatística extremamente significativa ($\chi^2=18,288$; $p = 0,001$) entre o local de origem (residentes no CAAV, com detentores e errantes) e a existência de infecção parasitária.

A análise estatística que comparou a proveniência das amostras do grupo de cães residentes no CAAV com o grupo de cães errantes indicou uma associação estatisticamente significativa, com $\chi^2=15,589$ e $p < 0,001$. Por sua vez, não foi detetada qualquer associação estatisticamente significativa, relativamente ao local de origem entre os cães com detentores e os cães errantes ($\chi^2=0,43843$ e $p = 0,5079$). Relativamente à análise estatística que comparou os cães residentes no CAAV com os cães com detentores, constatou-se que também existe uma associação estatística significativa, apurada através da realização do teste de Fisher ($p < 0,001$).

Para além do local de proveniência, foram também averiguados outros fatores de risco, nomeadamente o sexo, a raça, a idade, a época de recolha das amostras e, no caso dos cães com detentores, a coabitação com outros animais e os hábitos de desparasitação, através da realização de inquéritos aos mesmos.

Através da observação da Tabela 5, foi possível apurar que apenas a idade possui uma relação estatisticamente significativa com a presença de parasitas gastrointestinais nas amostras fecais ($\chi^2= 17,452$; $p = 0,0001623$). O mesmo não se verificou quando analisamos o sexo ($\chi^2= 0,0083705$; $p = 0,9271$), a existência ou não de raça definida ($p = 0,3216$) e a estação do ano, no momento da recolha das amostras ($\chi^2=1,9318$; $p =0,3806$).

Tabela 5. Associação estatística entre os fatores de risco estudados e a existência de infecção gastrointestinal

Fator de risco		Número total de amostras	Número de amostras positivas	Prevalência (%) [IC 95%]	Associações estatísticas
Sexo	Machos	32	10	31,25% [IC 95%: 15,2%- 47,3%]	$\chi^2=0,0083705$ p value =0,9271
	Fêmeas	28	10	35,71% [IC 95%: 17,97%- 53,45%]	
Raça	Sem raça definida	55	17	30,9% [IC 95%: 18,69%- 43,11%]	Fisher p value =0,3216
	Com raça definida	5	3	60% [IC 95%: 17,06%-]	
Idade	<1 ano	10	9	90% [IC 95%: 71,41%-]	$\chi^2=17,452$ p value =0,0001623
	1 a 6 anos	34	8	23,53% [IC 95%: 9,28%- 37,78%]	
	>6 anos	16	3	18,75% [IC 95%: 0- 37,88%]	
Estação do ano	Outono	22	6	27,27% [IC 95%: 8,66%- 45,88%]	$\chi^2=1,9318$ p value =0,3806
	Inverno	21	9	42,87% [IC 95%: 21,7%- 63,98%]	
	Primavera	17	4	23,53% [IC 95%: 3,37%- 43,69%]	

Estes fatores de risco foram também analisados isoladamente, para cada grupo (Anexo 3). Apenas a idade, no grupo dos cães errantes, apresentou uma relação estatisticamente significativa como fator de risco para infecção parasitária ($\chi^2=9,0667$; p value =0,01074).

No grupo de cães com detentores observou-se também a influência da coabitação com outros animais e dos hábitos de desparasitação, através das respostas dos

tutores aos questionários. Não foi encontrada qualquer associação estatisticamente significativa entre estes fatores de risco e a ocorrência de infecção parasitária em cães com detentores, de exterior, em meio rural.

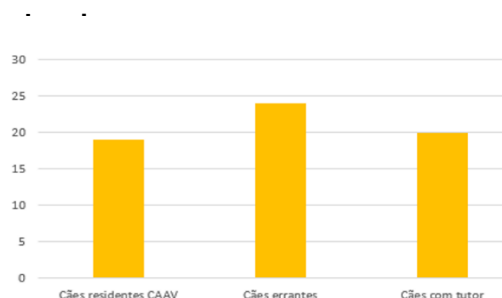
6.2. Resultados da colheita de ectoparasitas

6.2.1. Caracterização da amostra populacional

Todos os 63 animais incluídos neste estudo foram observados e examinados com a finalidade de se detetar e identificar ectoparasitas. Esta amostra populacional diferiu da amostra populacional da qual foram recolhidas amostras fecais apenas no grupo de cães com detentores, ao qual se acrescentaram 3 animais, dos quais foram também recolhidas amostras sanguíneas, mas não amostras fecais. Assim sendo,

esta amostra populacional, representada no gráfico 16, incluiu os 19 cães residentes no CAAV, 24 cães errantes que deram entrada nas instalações do CAAV e 20 cães com detentores, de exterior, em meio rural. 47,62 % (30/63) eram fêmeas, 52,38 % (33/63) eram machos.

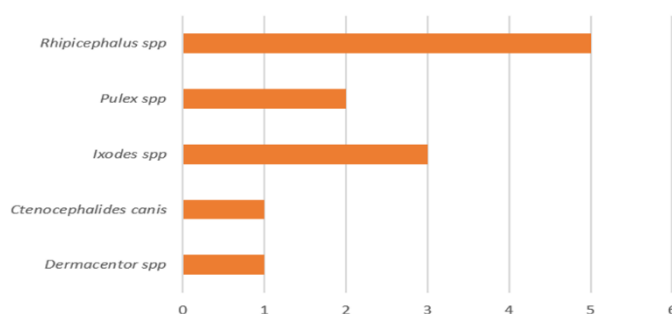
Gráfico 16. Distribuição da amostra populacional, por grupo



6.2.2. Resultados gerais dos ectoparasitas recolhidos

Dos 63 animais observados neste estudo, foram recolhidos ectoparasitas apenas em 12 (19,05%) [IC 95%: 9,36%-28,74%]. Foram identificados ixodídeos de três géneros diferentes: *Dermacentor* spp., com uma prevalência de 1,59 % [IC 95%: 0-4,68%]; *Ixodes* spp., com uma prevalência de 4,17% [IC 95%: 0-9,43%] e *Rhipicephalus* spp., com uma prevalência de 7,94% [IC 95%: 1,27%-14,61%]. Adicionalmente, foram encontradas e identificadas duas diferentes espécies de pulgas: *Ctenocephalides canis*, cuja prevalência foi de 1,59 % [IC 95%: 0-4,68%] e *Pulex* spp., que apresentou uma prevalência de 3,17 % [IC 95%: 0-7,52%]. A frequência absoluta dos ectoparasitas recolhidos encontra-se representada pelo gráfico 17.

Gráfico 17. Ectoparasitas recolhidos e identificados no âmbito desta dissertação



6.2.3. Resultados da colheita de ectoparasitas no grupo de cães residentes no CAAV

No CAAV foram observados 19 cães com residência nestas instalações há mais de um ano. A amostra populacional foi constituída por 10 fêmeas (52,63%) e 9 machos (47,37%). Foram recolhidos ectoparasitas apenas de um macho, cuja prevalência corresponde a 11,11% [IC 95%: 0-31,64%] e três fêmeas, com uma prevalência de 30% [IC 95%: 1,6%-58,4%]. Relativamente às idades, 12 (63,16%) animais encontravam-se no grupo etário do 1 aos 6 anos de idade e 8 (36,87%) apresentavam mais de 6 anos. No primeiro grupo foram encontrados ectoparasitas em três animais, correspondendo a uma prevalência de 25 % [IC 95%: 0,5%-49,5%], e no grupo de cães com idades superior a 6 anos, apenas um, o que corresponde a uma prevalência de 14,28% [IC 95%: 0-40,19%].

Todos os ectoparasitas foram recolhidos durante a primavera, sendo que nos meses de recolha correspondentes ao outono e inverno não foram observados quaisquer ectoparasitas.

6.2.4. Resultados da colheita de ectoparasitas do grupo de cães com detentores

A população amostrada neste grupo incluiu 20 cães com detentores, sendo que 75% (15/20) eram machos e 25% (5/20) eram fêmeas. A este grupo pertenciam 17 (85%) cães sem raça definida e 3 (15%) com raça definida. 15% (3/20) dos animais possuíam idade inferior a um ano, 45 % (9/20) tinham idades compreendidas entre um e seis anos e 40% (8/20) apresentavam mais de seis anos.

Neste grupo foram recolhidos ectoparasitas de cinco animais, nomeadamente ixodídeos, dos géneros *Ixodes* e *Rhipicephalus*, e pulgas do género *Pulex*.

No que diz respeito às respostas aos questionários, verificou-se que apenas 30% (6/20) dos cães não coabitavam com outros animais. Destes, apenas foram recolhidos

ectoparasitas de um animal, o que equivaleu a uma prevalência de 16,67% [IC 95%: 0-46,49%]. Os restantes quatro animais dos quais foram recolhidos ectoparasitas coabitavam com outros cães e gatos, apresentando uma prevalência de 28,57% [IC 95%: 4,9%-52,24%].

A análise das respostas aos questionários, representada pelo gráfico 18, permitiu averiguar que apenas 45% dos inquiridos (9/20) cumpria com bons hábitos de desparasitação externa.

Quatro dos animais, visivelmente parasitados externamente, não apresentavam desparasitação externa em dia, o que equivaleu a uma prevalência de 36,36% [IC 95%: 7,94%-64,78%] e apenas um estava corretamente desparasitado contra parasitas externos, de acordo com as respostas dos detentores ao questionário, o que correspondeu a uma prevalência de 11,11% [IC 95%: 0-31,64%].

6.2.5. Resultados da colheita de ectoparasitas do grupo de cães errantes

A amostra populacional, neste grupo, inclui os mesmos 24 animais, dos quais foram recolhidas amostras fecais e cuja descrição foi anteriormente caracterizada.

Neste grupo, foram apenas encontrados ectoparasitas em três animais, nomeadamente ixodídeos dos géneros *Dermacentor* e *Ixodes* (Figura 12) e pulgas da espécie *Ctenocephalides canis* (Figura 13).



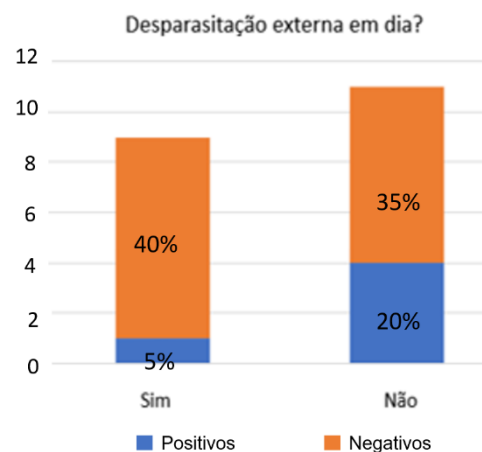
Figura 12. *Ixodes* (original).



Figura 13. *Ctenocephalides canis* (original). Observado com uma objetiva de 100x

Dos animais parasitados, duas eram fêmeas (13,33% [IC 95%: 0-31,64%]) e um era macho (11,11% [IC 95%: 0-30,53%]). Relativamente à distribuição das suas idades, um (12,5% [IC 95%: 0-35,41%]) tinha

Gráfico 18. Infeção por ectoparasitas, de acordo com os hábitos de desparasitação



idade inferior a um ano e dois (14,28% [IC 95%: 0-32,61%]) tinham idades compreendidas entre um e seis anos.

Durante o exame clínico dos cães para pesquisa de ectoparasitas foram encontradas formas parasitárias do helminte *Thelazia callipaeda* no saco conjuntival de um macho deste grupo com, aproximadamente, um ano de idade.

6.2.6. Associações estatísticas entre infeções por ectoparasitas e os fatores de risco analisados

Tal como na análise dos resultados das amostras fecais, relacionaram-se as prevalências obtidas nos diferentes grupos analisados, tentando verificar se a sua permanência no canil, na rua ou em meio rural ao cuidado de um detentor seria um fator de risco para a existência de ectoparasitas. Esta associação estatística encontra-se representada na tabela 6.

Tabela 6. Associação estatística entre o grupo de origem dos animais e a existência de infeção por ectoparasitas

Grupo do estudo	Número total de amostras	Número de amostras positivas	Prevalência (%) [IC 95%]	Associação estatística
Cães residentes no CAAV	19	4	21,05% [IC 95%: 2,72%- 39,38%]	$\chi^2=1,1764$ $p =0,5553$
Cães com detentores	20	5	25% [IC 95%: 6,02%- 43,98%]	
Cães errantes	24	3	12,5% [IC 95%: 0-25,73%]	
Total	63	12	19,05% [IC 95%: 9,38%- 28,72%]	

Através da realização do teste do chi-quadrado (χ^2) e ao contrário do que aconteceu com as amostras fecais, não se verificou qualquer associação estatisticamente significativa ($\chi^2=1,1764$; $p =0,5553$) entre o local de origem (residentes no CAAV, com detentores e errantes) e a ocorrência de ectoparasitas.

De igual forma, foram também averiguados outros fatores de risco, nomeadamente o sexo, a raça, a idade, a época de recolha das amostras e, no caso dos cães com detentores, a coabitação com outros animais e os hábitos de desparasitação externa, através de questionários preenchidos pelos mesmos.

Da tabela 7, retirou-se que, dos fatores analisados, apenas a estação do ano de recolha das amostras possuiu uma associação estatisticamente significativa com a ocorrência de ectoparasitas ($\chi^2=6,5873$; $p=0,03712$).

Tabela 7. Associação estatística entre os fatores de risco estudados e a existência de infecção por ectoparasitas

Fator de risco		Número total de amostras	Número de amostras positivas	Prevalência (%) [IC 95%]	Associações estatísticas
Sexo	Machos	33	6	18,28% [IC 95%: 8,74%- 27,82%]	$\chi^2=0,03369$ $p=0,8544$
	Fêmeas	30	6	20% [IC 95%: 10,12%- 29,88%]	
Raça	Sem raça definida	58	11	18,96% [IC 95%: 9,28%- 28,64%]	Fisher $p\text{ value}=1$
	Com raça definida	5	1	20% [IC 95%: 10,12%- 29,88%]	
Idade	<1 ano	11	2	18,18% [IC 95%: 8,66%- 27,7%-]	$\chi^2=0,30915$ $p\text{ value}=0,8568$
	1 a 6 anos	35	6	17,14% [IC 95%: 7,83%- 26,45%]	
	>6 anos	17	4	23,53% [IC 95%: 13,06- 34%]	
Estação do ano	Outono	22	8	36,36% [IC 95%: 24,49%- 48,23%]	$\chi^2=6,5873$ $p\text{ value}=0,03712$
	Inverno	22	2	9% [IC 95%: 1,93%- 16,07%]	
	Primavera	19	2	10,52% [IC 95%: 2,94%- 18,1%]	

A influência destes fatores de risco foi também analisada para cada grupo, isoladamente (Anexo 3). No grupo de animais residentes no CAAV, também a estação do ano foi o único fator cuja associação estatística com a existência de ectoparasitas

foi significativa ($\chi^2=19$; $p < 0,001$). O mesmo é constatado no grupo de cães com detentores (Teste de Fisher; $p = 0.01393$). Assim, tal como na análise das amostras fecais, não foi encontrada qualquer associação estatisticamente significativa entre a coabitação com outros animais e hábitos de desparasitação e a existência de ectoparasitas em cães com detentores, de exterior, em meio rural. A análise estatística não mostrou qualquer associação estatisticamente significativa entre estes fatores de risco e a ocorrência de ectoparasitas, em cães errantes, que deram entrada no CAAV.

6.3. Resultados das amostras sanguíneas

6.3.1. Caracterização da amostra populacional

A amostra populacional utilizada na recolha de sangue e posterior observação dos respetivos esfregaços foi constituída por 41 animais, representados no gráfico 19.

Quinze pertencem ao grupo de cães residentes no CAAV, 14 encontram-se no grupo de cães errantes que deram entrada nas instalações do CAAV e 12 são cães com detentores, de exterior, em meio rural.

Foram recolhidas amostras sanguíneas de 23 fêmeas (56%) e 18 machos (44%), cuja distribuição está representada no gráfico 20. A distribuição dos seus elementos, por faixa etária, encontra-se representada no gráfico 21.

Gráfico 19. Distribuição das amostras sanguíneas pelos grupos analisados

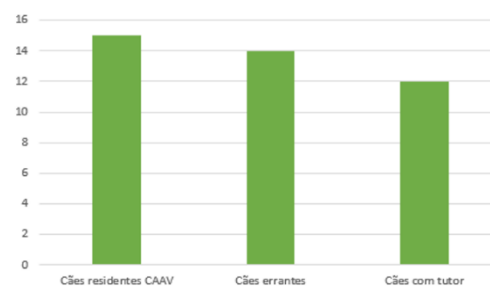


Gráfico 20. Distribuição da amostra populacional da qual foram recolhidas amostras sanguíneas, por sexo

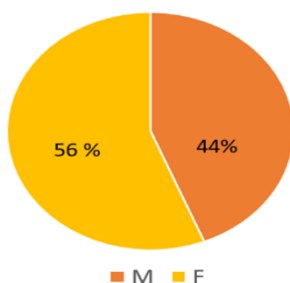
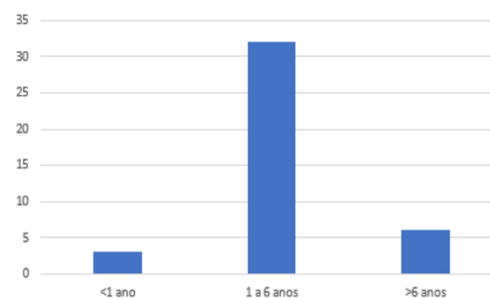


Gráfico 21. Distribuição da amostra populacional da qual foram recolhidas amostras sanguíneas, por idade



39,02% (16/41) das amostras sanguíneas foram recolhidas nos meses de Outono e, também a mesma percentagem, nos meses de Inverno. Nos meses de Primavera apenas foram recolhidas 21,95% (9/41) das amostras.

6.3.2. Resultados da colheita e observação microscópica das amostras sanguíneas

Após recolha, processamento e observação microscópica dos esfregaços de amostras sanguíneas, apenas num animal foram detetadas formas parasitárias.

O animal em questão deu entrada nas instalações do CAAV em janeiro de 2020 e, por isso, inclui-se no grupo de cães errantes. Após ovariectomia, demonstrou sinais clínicos compatíveis com infeção por hemoparasitas. A visualização dos esfregaços sanguíneos revelou a presença de *Mycoplasma haemocanis*.

Os cães adultos errantes que deram entrada no CAAV foram submetidos a um teste rápido utilizado na deteção de anticorpos anti-*Leishmania infantum*, como prática habitual na entrada de novos animais no CAAV. Neste grupo de 24 cães, apenas um apresentou teste positivo.

7. Discussão

7.1. Parasitas do aparelho digestivo e respiratório

7.1.1 Caracterização da amostra populacional

Com a recolha das 60 amostras fecais pretendeu-se obter uma representação do estado do parasitismo gastrointestinal dos cães do concelho de Viseu, de acordo com o seu local de origem, isto é, cães residentes em canil, cães errantes e cães de exterior com detentores, que residem em meio rural, bem como analisar a sua relevância para a Saúde Animal e Saúde Pública.

A permanente pressão de transmissão em populações de animais, como é o caso dos cães errantes, cuja grande proporção acaba em canis e abrigos, representam um risco acrescido de infeções parasitárias, que podem resultar em graves consequências para a saúde animal e humana. Esta preocupação é também relevante em cães com detentores, devido à sua proximidade com o ser humano, particularmente em cães com habitação no exterior, em meio rural, que lhes confere uma maior proximidade com animais errantes, gado e animais silváticos (Otranto et al. 2017).

No grupo de animais residentes no CAAV e no grupo dos cães errantes verifica-se um maior número de fêmeas, o que se encontra de acordo com a maior percentagem de fêmeas quer no canil, quer recolhidas pelos serviços municipais, constatado pela aluna durante o período de estágio no CAAV. A maior taxa de abandono, neste sexo, pode ser consequência de eventuais gestações, uma vez que, também se verificou a entrada de muitas fêmeas com crias no CAAV. O oposto é observado no grupo de cães com detentores, onde as fêmeas representam apenas 18% da amostra

populacional. Esta diferença reside na preferência dos detentores em meio rural por cães do sexo masculino, uma vez que não geram descendência ao seu encargo. Verifica-se que a esterilização das fêmeas ainda não é uma prática comum junto da população mais rural e envelhecida. Nenhuma das fêmeas com detentores incluídas no estudo se encontrava esterilizada, assim como, aparentemente, nenhuma das fêmeas que deu entrada no CAAV.

O número de amostras recolhidas no grupo de cães com detentores (17), foi ligeiramente inferior ao inicialmente pretendido, uma vez que o período de recolha das mesmas estava programado para a primavera, altura em que a pandemia por Covid-19 se iniciou, sendo, por isso, difícil encontrar detentores dispostos a participar no estudo. Deste grupo, 64,7% dos cães partilhavam habitação com outros animais, nomeadamente outros cães ou gatos, uma percentagem ligeiramente inferior à obtida no estudo de Gomes (2019).

Através das respostas aos questionários, verificou-se, também, que apenas metade dos detentores (52,9%) aplicava tratamento endoparasiticida de forma regular aos seus animais, com intervalos de 4 meses ou menos entre desparasitações. Este valor é inferior, quando comparamos com um estudo de perceção pública de doenças parasitárias, efetuado no Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, que constatou que 89,7% dos detentores incluídos no estudo utilizavam medicamentos endoparasiticidas. Destes, 73,4% eram desparasitados a cada 4 meses ou mais e apenas 11,8% com o regime recomendado, de 3 em 3 meses (Matos et al. 2015). A distinta localização dos dois estudos pode justificar esta diferença, uma vez que os detentores que participaram neste projeto são residentes de uma área maioritariamente rural, com população menos instruída.

7.1.2. Parasitas do aparelho digestivo

Neste estudo foram detetadas formas parasitárias em 33,33% das amostras fecais analisadas laboratorialmente. Não foram encontrados estudos similares realizados na região de Viseu; no entanto, é vasta a bibliografia que incide sobre a preocupação com o parasitismo gastrointestinal em populações de canídeos domésticos. Estudos com objetivos semelhantes ao desta dissertação, que também recorreram à colheita e análise de amostras fecais, detetaram prevalências semelhantes. Ferreira et al. (2011) constataram uma prevalência de 39,2% de infeções por parasitas gastrointestinais em Évora e Gomes (2019) verificou uma prevalência de 19,9% de infeções por parasitas gastrointestinais em cães de canil e com detentores na cidade do Funchal. Félix (2015) averiguou a prevalência de parasitismo gastrointestinal em cães de canil de

vários distritos de Portugal Continental, obtendo 25% de amostras parasitadas, em média.

Também a nível europeu se encontram estudos focados nestas populações: Al-Sabi et al. (2013) observaram uma prevalência de 21,3 % de parasitas gastrointestinais em cães de caça na Dinamarca; Kostopoulou et al. (2017) constataram uma prevalência de 25,2% em cães de canil e com detentores, incluindo cães de pastoreio na região de Creta, Grécia. Um estudo efetuado em cães de canil e de áreas rurais de Praga, República Checa, verificou uma prevalência de parasitas gastrointestinais ligeiramente inferior às anteriormente mencionadas, detetando um valor de 17,6% (Dubná et al. 2007).

Apesar dos valores de prevalência de parasitismo gastrointestinal mencionados apresentarem proximidade com o valor observado nesta dissertação, estes requerem uma comparação cautelosa, uma vez que alguns dos estudos citados recorreram a diferentes técnicas laboratoriais para a identificação de parasitas gastrointestinais e, em todos os eles, se verificou a existência de uma amostra populacional superior à utilizada para a elaboração desta dissertação. A influência multifatorial destes resultados prende-se também com as características geográficas e climáticas de cada região ou regiões, bem como o local de origem das amostras, sendo que alguns dos estudos incidem apenas em cães com detentores e outros incluem cães de canil ou errantes.

A prevalência de infeções simples, com apenas uma espécie encontrada nas análises coprológicas utilizadas, foi de 20% (12/60), enquanto as infeções com duas ou mais espécies identificadas representam 13,33% (8/60) da amostra populacional. A maior prevalência de infeções simples em relação a infeções mistas vai ao encontro do constatado noutros estudos, quer a nível nacional (Félix 2015, Gomes 2019, Ferreira et al. 2011), quer noutros países (Al Sabi et al. 2013, Dubná et al. 2007, Overgaaw et al. 2009, Sommer 2017, Muñoz et al. 2017).

A espécie encontrada com maior frequência foi *Toxocara canis*, presente em 13,33% das amostras analisadas, seguida de *Trichuris vulpis*, com uma prevalência de 11,67% e *Uncinaria stenocephala*, com uma prevalência de 10%.

A maior prevalência de *T. canis* encontrada neste estudo, está também presente no trabalho de Muñoz et al. (2017), que obtiveram uma prevalência de 7,1% de parasitismo por *T. canis* em cães errantes da área noroeste do México. Valores de prevalência semelhantes (7,6%) são observados em Kostopoulou et al. (2017), apesar da espécie ser apenas a terceira mais frequente neste grupo de cães de canil e com detentores, incluindo de pastoreio, de Creta, Grécia. Também em Al-Sabi et al. (2013)

e Dubná et al. (2007), *T. canis* foi a espécie de parasita gastrointestinal mais frequente nas amostras fecais.

A maior prevalência de *T. canis*, comparativamente a outras espécies, pode residir na sua produção de grandes quantidades ovos, que apresentam elevada resistência no ambiente e que lhes confere uma maior capacidade de disseminação pelo solo e, conseqüentemente, maior risco de infecção (Trillo- Altamirano et al. 2003). Também a possibilidade de diferentes vias de infecção (oral, transplacentar e transmamária) podem contribuir para esta maior prevalência (Traversa 2012; Baneth et al. 2016; Taylor et al. 2016), uma vez que se verificou que todas as amostras identificadas com esta espécie pertenciam a cães errantes, e 62,5% eram referentes a cachorros com menos de 4 meses. A preocupação com o parasitismo por *T. canis* prende-se essencialmente com o seu potencial zoonótico, uma vez que é responsável pela síndrome de Larva Migrante Visceral, que engloba lesão de vários órgãos, como o fígado, pulmões e cérebro e a síndrome de Larva Migrante Ocular, que se manifesta por lesões oculares, incluindo lesões no nervo óptico (Traversa 2012).

A análise laboratorial das amostras fecais recolhidas permitiu a identificação dos nematodes intestinais *Ancylostoma caninum*, *Toxocara canis*, *Trichuris vulpis* e *Uncinaria stenocephala*, do cestode *Dipylidium caninum* e dos protozoários intestinais *Cystoisospora* spp. e *Giardia* spp.

Quando analisamos os resultados obtidos, por classe parasitária, verificamos que 28,33% (17/60) das amostras são positivas a, pelo menos, um nematode gastrointestinal, 8,33% (5/60) são positivas a protozoários e em apenas duas (3,33%) foram observados parasitas da classe Cestoda. Estudos semelhantes sugerem uma maior prevalência de protozoários, relativamente a outras classes. Gomes (2019) constatou uma prevalência de 18,4% de protozoários e 7,4% de nematodes em amostras fecais recolhidas em cães de canil e com detentores. Também Ferreira et al. (2011) obtêm uma maior prevalência de protozoários (36,5%) e uma prevalência de 17,5% para o filo Nematoda. Nenhum dos dois estudos constatou a existência de amostras positivas para cestodes. No entanto, os resultados apresentados nesta dissertação reforçam os resultados demonstrados por Melo (2017) e Santos (2014), com o filo Nematoda a aparecer em primeiro lugar em número de amostras parasitadas, com prevalência de 16% e 51,2%, respetivamente.

Dos sete agentes identificados, quatro - *Ancylostoma caninum*, *Toxocara canis*, *Dipylidium caninum*, *Giardia* spp. - estão identificados como principais agentes zoonóticos em cães e representam um risco acrescido para a Saúde Pública (Otranto et al. 2017). Percebe-se, então, a importância da existência de medidas preventivas contra parasitas gastrointestinais em espaços que albergam grandes populações de

animais, como canis, e da educação dos detentores de populações mais rurais relativamente aos riscos associados à falta destas mesmas medidas preventivas nos seus animais de companhia.

Ainda que com pouca relevância no panorama das zoonoses, existem alguns casos de tricurirose humana que têm sido atribuídos a *T. vulpis*, assim como casos esporádicos ou experimentais de Larva Migrante Cutânea por *U. stenocephala* (Spickler 2019; Robertson and Thompson 2002; Bowman 2014). Dos parasitas identificados nas amostras fecais, apenas *Cystoisospora* spp. não tem implicação zoonótica devido à especificidade do parasita ao hospedeiro (ESCCAP 2018).

A prevalência de *Giardia* spp. verificada nos resultados deste trabalho - 6,67%- contrapõe a maior parte dos trabalhos estudados no âmbito da escrita desta dissertação. Ferreira et al. (2011) obtêm uma prevalência de 23% de *Giardia* spp. em cães de canil de vários distritos de Portugal Continental, sendo o parasita gastrointestinal mais frequentemente encontrado. Estudos, quer em território nacional, quer no exterior, constataam prevalências entre os 16,1% e 42,5% (Overgaw et al. 2009; Leal 2015; Gil et al. 2017; Kostopoulou et al. 2017; Sommer et al. 2017; Ash et al. 2019). Esta diferença de prevalências pode residir nas diferentes especificidades e sensibilidades dos testes utilizados na deteção de *Giardia* spp., uma vez que, na maioria dos estudos anteriormente mencionados, se verifica a utilização de testes de deteção de antigénio de *Giardia* spp., em oposição à técnica de coloração de Ziehl-Neelsen modificado utilizada neste projeto em todas as amostras fecais analisadas. Para além disso, das quatro amostras positivas a este parasita, apenas duas foram detetadas por microscopia, sendo que as duas restantes foram incluídas neste estudo após deteção com recurso ao teste de imunocromatografia Uranotest Giardia®, no CAAV. A baixa sensibilidade e especificidade de técnicas de microscopia convencionais é expectável, uma vez que a deteção do parasita através destes métodos depende essencialmente da experiência do observador (Zaglool et al. 2013). Relativamente às associações estatísticas entre a existência de infeção por parasitas gastrointestinais e os fatores de riscos analisados, verifica-se que existe uma associação estatística significativa ($p = 0,0001069$) entre o local de origem da amostra fecal (residentes no CAAV, com detentores e errantes) e a existência de infeção parasitária. Para além do local de proveniência, foram também averiguados outros fatores de risco, nomeadamente o sexo, a raça, a idade, a época de recolha das amostras e, no caso dos cães com detentores, a coabitação com outros animais e os hábitos de desparasitação; no entanto, apenas a idade possui uma relação estatisticamente significativa com a presença de parasitas nas amostras fecais ($p = 0,3806$). Percebe-se, assim, que neste estudo, apenas o local de origem e a idade

tiveram influência como fatores de risco de infecção por parasitas gastrointestinais. Ainda que a maioria das amostras pertença a animais com idades entre um e seis anos (56,6%), constata-se que aproximadamente metade das amostras parasitadas tem origem em cães com idade inferior a um ano de idade (45%), em particular do grupo de cães errantes. Esta associação é expectável, uma vez que animais errantes com idades inferiores a um ano provavelmente terão nascido nesta condição, estando mais suscetíveis a infecções parasitárias, devido à ausência de métodos de profilaxia e/ou tratamento de parasitoses gastrointestinais.

7.1.3. Resultados de acordo com o grupo de origem

Após a análise laboratorial das amostras fecais provenientes dos cães com residência no CAAV não foram observadas quaisquer formas parasitárias em nenhuma das técnicas laboratoriais utilizadas. Contrariamente ao que se verifica neste projeto, estudos que envolveram a recolha de amostras fecais de cães residentes em canis, em Portugal, mostram resultados positivos nestas populações. Félix (2015) obteve uma prevalência de 25% de parasitismo gastrointestinal em amostras de canis de vários distritos de Portugal Continental e Gomes (2019) 17,2 % em cães de associações/canis da cidade do Funchal. Também Claerebout et al. (2009), Gil et al. (2017), Kostopoulou et al. (2017), Soomer et al. (2017) e Traversa et al. (2017) constataram existência de parasitismo gastrointestinal, neste tipo de população, um pouco por toda a Europa.

A ausência de resultados neste grupo, ao contrário do inicialmente esperado, pode estar relacionada com a disposição da grande área do canil, que permite a existência de boxes de grande tamanho com um pequeno número de cães, reduzindo o contacto entre eles. Também a dedicação do pessoal veterinário e não veterinário, assim como a existência de medidas obrigatórias de profilaxia antiparasitária assim que os animais entram nas instalações e durante a sua permanência no CAAV, podem explicar essa ausência dos parasitas gastrointestinais.

No grupo de cães com detentores foram detetadas formas parasitárias em apenas cinco amostras fecais, o que se traduz numa prevalência de 8,33% . Em todas as amostras positivas foram observados ovos de *Trichuris vulpis* e em duas delas também foram detetados ovos de *Uncinaria stenocephala*. Prevalências semelhantes foram observadas em Lempereur et al. (2020), num estudo que inclui a análise laboratorial de amostras fecais de cães com detentores belgas e holandeses; no entanto, *Toxocara canis* foi a espécie mais prevalente neste estudo. Prevalências bastante superiores de parasitismo gastrintestinal em cães com detentores são constatadas em Gomes (2019) e Kostopoulou et al. (2017): 27% e 23,8%,

respetivamente. Ainda que com pouca relevância no panorama das zoonoses, *Trichuris vulpis* e *Uncinaria stenocephala* podem acarretar graves problemas de saúde animal quando persistem cargas parasitárias elevadas.

O maior número de amostras positivas a parasitas gastrointestinais é proveniente de cães do grupo de animais errantes, onde foram detetadas quinze amostras parasitadas, obtendo-se uma prevalência de 25%. As prevalências parasitárias em populações de animais errantes dependem de vários fatores bióticos e abióticos, que variam de acordo com o ciclo de vida dos parasitas, bem como dos hábitos comportamentais e condições de habitação dos animais (Otranto et al. 2017). Em Portugal, num estudo efetuado em cães errantes que deram entrada no Canil Municipal de Vila Franca de Xira, Santos (2014) obteve uma prevalência de 72,5% de parasitismo gastrointestinal nesta população. Outros estudos demonstraram valores relativamente distintos de prevalência nesta população - 9,4% (Becker et al. 2012), 21,5% (Muñoz et al. 2017) e 66% (Beiromvand et al. 2013).

Os resultados obtidos nos grupos de diferentes proveniências foram analisados estatisticamente de forma a perceber a influência do local de habitação na existência de parasitoses gastrointestinais. Quando comparamos estatisticamente os resultados obtidos no CAAV e na população de cães errantes obtemos uma associação estatisticamente significativa, entre o grupo de origem e a ocorrência de infeção parasitária, com $p < 0,001$. Já a análise estatística que compara os cães residentes no CAAV com os cães com detentores constata que existe uma associação estatística significativa, apurada através da realização do teste de Fisher ($p < 0,001$). Estas associações estatísticas são justificadas pela ausência de resultados nos cães residentes no CAAV, em oposição a outros estudos que constaram altas taxas de infeção em cães de canil (Claerebout et al. 2009; Ferreira et al. 2011; Gil et al. 2017; Kostopoulou et al. 2017; Soomer et al. 2017 e Traversa et al. 2017). Ferreira et al. (2011) também utilizaram cães com detentores como parte da sua amostra populacional, verificando, mais uma vez, que a ocorrência de parasitismo gastrointestinal era superior em cães de canil em comparação a animais com detentores.

Por sua vez, não foi detetada qualquer associação estatisticamente significativa entre os cães com detentores, de exterior, em meio rural e os cães errantes (P value =0,5079). Seria de esperar que os cães ao cuidado de detentores, ainda que de zonas rurais, apresentassem menor risco de infeção por parasitas gastrointestinais que cães errantes.

Os fatores de risco, analisados estatisticamente em toda a amostra, foram também estudados isoladamente em cada grupo, observando-se que apenas a idade, no grupo

dos cães errantes, apresenta uma associação estatisticamente significativa como fator de risco para infecção parasitária (P value =0,01074). Também em Becker et al. (2012) e Palmer et al. (2008) se verificaram associações estatisticamente significativas entre a idade e a existência de parasitismo gastrointestinal, com cães com idade inferior a um ano a demonstrarem maior prevalência de infecção por parasitas gastrointestinais. A possibilidade de infecção pré-natal nesta população, assim como a presença de um sistema imunitário em desenvolvimento e ainda não competente, podem justificar a elevada taxa de parasitismo nesta população, quando comparamos com outras faixas etárias (Becker et al. 2012). Neste estudo verificou-se que, no grupo de cães errantes, todas as amostras fecais recolhidas de animais com idade inferior a um ano de idade continham formas parasitárias, com maior prevalência de *Toxocara canis* e *Giardia* spp.

Não foram verificadas quaisquer associações estatisticamente significativas entre a infecção por parasitas gastrointestinais nem com a coabitação com outros animais, nem com os hábitos de desparasitação, no grupo de cães com detentores. Esta ausência de associação estatística significativa não se traduz como uma verdade absoluta entre a influência destes fatores de risco analisados e a ocorrência de infecção parasitária, uma vez que seria expectável que a existência ou ausência de desparasitação tivesse interferência no grau de parasitismo do animal; ainda assim, este resultado pode ser consequência da baixa amostra populacional deste estudo e do baixo número de amostras fecais positivas a parasitas gastrointestinais, neste grupo em particular, o que ocasiona uma diminuição do poder estatístico do teste utilizado.

A comparação de diferentes populações de animais pode ser difícil, uma vez que existem diferenças relativas à diversidade e, em algumas ocasiões, à carga de infecções parasitárias em cães de diferentes regiões geográficas, de acordo com o seu clima, ambiente e condições socioeconómicas, que podem privilegiar ou desfavorecer a presença e prevalência de determinadas espécies de parasitas (Otranto et al. 2017).

7.1.4. Parasitas do aparelho respiratório

No presente estudo não foram observadas amostras positivas a nematodes que parasitam o aparelho respiratório, tendo sido utilizada, para este fim, a técnica de Baermann, como método de obtenção de larvas de nematodes a partir das fezes. Apesar de usada como meio de diagnóstico definitivo de *A. vasorum*, a falta de resultados neste trabalho pode ser compatível com algumas limitações relativamente à sua especificidade e sensibilidade, como o elevado período pré-patente do parasita, a excreção intermitente de larvas e a possibilidade de infecções mistas com outros nematodes (Alho et al. 2016). Deste modo, a ausência de deteção larvas de *A.*

vasorum pela técnica de Baermann não representa a ausência de infecção pelo parasita e a sua prevalência, neste estudo, pode estar subestimada. Alho et al. (2016) averiguaram a prevalência deste parasita em canis de Portugal Continental, incluindo do CAAV, obtendo um valor de 0,66%, com recurso a testes de deteção de antígeno e anticorpo.

7.2. Ectoparasitas

Dos 63 animais observados neste estudo, foram recolhidos ectoparasitas apenas em 12 (19,05%). A população de ectoparasitas presentes nesta amostra populacional encontra-se subestimada, uma vez que apenas foram recolhidos parasitas macroscopicamente observáveis. Apenas um animal mostrou sinais clínicos compatíveis com a presença de ácaros da sarna, pelo que foram aplicadas as técnicas da fita-cola e raspagem cutânea sobre as lesões. A observação microscópica das lâminas não revelou a presença de nenhuma espécie de ácaro, o que não invalida a sua existência nesta amostra populacional. Santos (2014), num estudo que abrangeu recolha de ectoparasitas em animais errantes do concelho de Vila Franca de Xira, constatou que 31,25% exibiam ectoparasitas macroscopicamente observáveis e 35% dos cães que foram submetidos a raspagem cutânea apresentavam infestação por ácaros. Outro estudo, cuja amostra populacional consistiu em cães com detentores do estado nigeriano de Kwara, mostra um valor de prevalência de infecção com, pelo menos, uma espécie de ectoparasita, muito superior, de 81,4% (Abdulkareem, Christy & Samuel 2019). As grandes variações de prevalência observadas poderão estar relacionadas com a variação geográfica dos estudos, uma vez que esta tem um efeito relevante nas taxas de infecção, devido à importância dos fatores abióticos (temperatura, humidade e luz) que desempenham um papel fundamental no desenvolvimento e transmissão de ectoparasitas (Abdulkareem, Christy & Samuel 2019).

O baixo número de ectoparasitas recolhidos pode ser justificado pela época do ano de recolha das amostras, uma vez que mais de 2/3 das mesmas foram recolhidas nos meses de outono e inverno e o período de maior prevalência de ectoparasitas macroscópicos, nomeadamente carraças e pulgas, se verifica no verão e primavera (ESCAAP 2018).

Ixodídeos do género *Rhipicephalus* foram os ectoparasitas encontrados com maior prevalência- 7,94%, seguido pelo género *Ixodes*, com uma prevalência de 4,17% e pulgas do género *Pulex*, que apresentaram uma prevalência de 3,17 %.

Adicionalmente, foram também observados ixodídeos do género *Dermacentor* e pulgas da espécie *Ctenocephalides canis*. Também outros estudos revelam a maior

prevalência do género *Rhipicephalus* em projetos que envolveram a recolha de ectoparasitas de populações de cães com detentores, na Nigéria (Abdulkareem, Christy & Samuel 2019) e em Portugal (Crespo, Rosa & Almeida 2013) e de cães errantes em Vila Franca de Xira (Santos 2014).

Apesar da possibilidade de sinais clínicos consequentes da presença destes parasitas por si só, como anemia e infeção no local da picada, a sua relevância em medicina veterinária prende-se essencialmente com a sua capacidade vetorial, de transmissão de agentes patogénicos, muitos deles com potencial zoonótico (ESCCAP 2018).

Nos últimos anos, tem-se verificado um aumento de doenças transmitidas por ixodídeos ao ser humano e atualmente existem poucas dúvidas da influência das alterações induzidas pelo ser humano nos fatores abióticos (temperatura, ocupação dos solos e estrutura do habitat) e bióticos (distribuição e abundância de hospedeiros) no aumento de doenças transmitidas por carraças ao ser humano (Estrada-Peña et al. 2011). As espécies do género *Rhipicephalus* são conhecidas pela sua capacidade de transmissão de *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia canis* e *B. vogeli* a cães e de algumas espécies de *Rickettsia* ao ser humano (Santos-Silva et al. 2011). Também o género *Ixodes* pode atuar como vetor de agentes responsáveis pela borreliose e a anaplasmose (Saari et al. 2019). Dentro deste último género, a espécie *I. ricinus* é a que apresenta maior destaque em Saúde Pública, uma vez que é o principal vetor de *Borrelia burgdorferi*, agente da doença de Lyme (Silva et al. 2006). Espécies do género *Dermacentor* são importantes vetores de *Babesia canis* e *D. reticulatus* está associada à transmissão de *Rickettsia slovaca* e *Francisella tularensis* aos seres humanos (Santos-Silva et al. 2011).

As pulgas apresentam também competência vetorial, sendo o género *Ctenocephalides* o principal hospedeiro intermediário de *Dipylidium caninum*. (Beugnet et al. 2014)

Ao contrário do que se sucede com as amostras fecais, não se verifica qualquer associação estatisticamente significativa (P value =0,5553) entre o local de origem (residentes no CAAV, com detentores e errantes) e a ocorrência de ectoparasitas. Mais uma vez, o fraco poder do teste estatístico perante uma amostra demasiado pequena pode ser responsável por este resultado; no entanto, verificamos que as amostras recolhidas estão equitativamente distribuídas pelos diferentes grupos de origem. Dos ectoparasitas recolhidos, 33,33 % pertencem a cães residentes do CAAV, 41,67% a cães com detentores e 25% a cães errantes.

De igual forma, tal como avaliado para os parasitas gastrointestinais, foram também averiguados outros possíveis fatores de risco para a infeção por ectoparasitas macroscópicos, nomeadamente o sexo, a raça, a idade, a época de recolha das amostras e, no caso dos cães com detentores, a coabitação com outros animais e os

hábitos de desparasitação externa. Através da análise às respostas dos questionários entregues aos detentores, constatou-se que apenas 45% aplicava regularmente substâncias ectoparasitocidas aos seus animais. Outros estudos que envolveram a perceção de doenças parasitárias e hábitos de desparasitação demonstraram valores acima dos 90% (Matos et al. 2015; Pereira et al. 2016). As diferentes populações abrangidas nos diferentes estudos podem estar na base desta diferença, uma vez que os detentores que participaram neste projeto são residentes de uma área maioritariamente rural, com população menos instruída, quando comparamos com a população mais urbana incluída nestes estudos.

A análise estatística para os diferentes fatores de risco demonstrou que apenas a estação do ano possui uma associação estatisticamente significativa com a ocorrência de ectoparasitas (P value =0,03712). Verifica-se que 66,67% dos exemplares de ectoparasitas, encontrados neste estudo, foram recolhidos durante o outono, ainda que a amostra populacional esteja equitativamente distribuída pelas três estações que englobaram o período de estágio no CAAV - outono, inverno e primavera. Este maior número de casos no outono, apesar do período de maior prevalência de ectoparasitas macroscópicos, nomeadamente carraças e pulgas, se verificar no verão e primavera, assim como a constatação desta associação estatisticamente significativa, podem estar relacionadas com as altas temperaturas que se verificaram no outono de 2019. Através da análise estatística, isolada para cada grupo, dos fatores de riscos já mencionados verificou-se que, no grupo de animais residentes no CAAV, também a estação do ano foi o único fator cuja associação estatística com a existência de ectoparasitas foi significativa (P value =7.485e-05). O mesmo é constatado no grupo de cães com detentores (P value =0.01393). Assim, tal como na análise das amostras fecais e, ao contrário do expectável, não foi encontrada qualquer associação estatisticamente significativa entre a coabitação com outros animais e hábitos de desparasitação e a existência de ectoparasitas em cães com detentores, de exterior, em meio rural. Tal como sucede na análise estatística dos resultados da análise laboratorial das amostras fecais, esta ausência de associação estatisticamente significativa pode ser consequência da baixa amostra populacional deste estudo e do pequeno número de ectoparasitas recolhidos neste grupo.

Durante o exame clínico dos cães para pesquisa de ectoparasitas foram encontradas formas parasitárias do helminte *Thelazia callipaeda* no saco conjuntival de um macho deste grupo com, aproximadamente, um ano de idade. Apesar da ausência de relatos da presença deste parasita na bibliografia explorada, a sua deteção, neste estudo, não é um achado, uma vez que Portugal é um dos países europeus onde esta parasitose é considerada endémica (Baneth et al. 2016). A presença da espécie *T. callipaeda* tem

sido considerada uma preocupação em Saúde Pública devido ao seu impacto zoonótico e tem sido reportada por toda a Europa (Otranto and Dutto, 2008).

7.3. Hemoparasitas

A técnica escolhida para a detecção de hemoparasitas, neste estudo, foi a análise morfológica através da observação de esfregaços sanguíneos, realizados com amostras de sangue colhido na veia cefálica, devido à sua rapidez, facilidade e baixos custos de execução. Após a recolha, processamento e observação microscópica, apenas num animal (2,44%) foram detetadas formas parasitárias. O animal em questão deu entrada nas instalações do CAAV em janeiro de 2020 e, por isso, incluiu-se no grupo de cães errantes. Após ovariectomia, revelou sinais clínicos compatíveis com infeção por hemoparasitas. A visualização dos esfregaços sanguíneos revelou a presença de parasitas da espécie *Mycoplasma haemocanis*. Gomes (2019), num estudo semelhante, observou uma prevalência de hemoparasitas através da análise de esfregaços sanguíneos de 44,1% (26/59), detetando a presença de microfilárias, *Mycoplasma* spp. e *Anaplasma phagocytophilum*. Já em Santos (2014), Caeiros (2012) e Traversa et al. (2017) não foram detetados quaisquer parasitas na observação de esfregaços sanguíneos efetuados com amostras de sangue de populações de cães errantes e com detentores. A falta de resultados de hemoparasitas, tanto neste trabalho como nos estudos acima mencionados, é expectável devido à baixa sensibilidade da técnica utilizada. Apesar da facilidade na conservação das amostras, rapidez de execução da técnica e baixos custos associados, este método origina muitos resultados falsos negativos. Este fator é corroborado pelos resultados obtidos em Caeiros (2012), onde a pesquisa de hemoparasitas por esfregaço sanguíneo em 80 animais não evidenciou nenhum resultado positivo; no entanto, a utilização da técnica de RT-qPCR em amostras dos mesmos 80 animais, verificaram a presença do género *Babesia*. em quase metade das mesmas.

A baixa sensibilidade desta técnica deve-se sobretudo à ocorrência de infeções subclínicas e crónicas e à parasitémia normalmente baixa e intermitente (Solano-Gallego & Baneth 2011). A recolha de sangue na veia cefálica também pode ser um fator explicativo de resultados falsos negativos. A recolha a partir de outros locais, como por exemplo, dos capilares das extremidades do pavilhão auricular, tendem a exibir um maior número de eritrócitos infetados, uma vez que os glóbulos vermelhos apresentam um aumento da rigidez da sua membrana, nos capilares, o que causa um abrandamento da sua passagem (Caeiros 2012).

A presença do género *Mycoplasma* não é surpreendente, uma vez que é da experiência de alguns autores que a infeção por *M. haemocanis* pode ocorrer de forma latente e generalizada em cães de canil (Messick 2003).

No CAAV, todos os animais adultos são submetidos a um teste rápido de deteção de anticorpos anti-*Leishmania infantum* à entrada no canil, pelo que os resultados desses testes foram também utilizados nesta dissertação. Neste grupo, apenas um demonstrou teste positivo; no entanto, nos esfregaços sanguíneos não foi detetada qualquer forma parasitária de *L. infantum*. A deteção deste agente baseia-se essencialmente em testes serológicos e/ou moleculares, sendo rara a descrição da visualização de formas amastigotas de *Leishmania infantum* em esfregaço de sangue periférico (Antunes et al. 2016).

As prevalências da espécie *L. infantum* em diferentes estudos variam consoante a região geográfica, o número da amostra populacional e o método de deteção do agente. Cardoso, Mendão & Madeira De Carvalho (2012), num estudo que incluiu cães aparentemente saudáveis com detentores de todo o território nacional, detetou 4,3% de prevalência deste parasita. Também a análise serológica em cães de canil, em Itália, demonstrou valores de prevalência semelhantes, de 4,1% (Traversa et al. 2017). Já Santos (2014) e Cortes et al. (2007) verificaram prevalências desta espécie bastante superiores em cães errantes de Vila Franca de Xira (28,75%) e Lisboa (21,6%), respetivamente.

Em adição às graves consequências que a manifestação da infeção por espécies do género *Leishmania* pode apresentar em saúde animal, a sua presença constitui também uma preocupação em Saúde Pública, uma vez que cães infetados com *L. infantum* podem servir como fonte de infeção para flebotómios que apresentam capacidade de se alimentar em seres humanos. Na bacia do Mediterrâneo, a infeção pode resultar em leishmaniose visceral, cutânea ou mucocutânea, com até 1000 pessoas por ano a apresentarem sinais clínicos de infeção (Traversa et al. 2017). Assim como nos cães, o sistema imunitário desempenha um papel fundamental no desenvolvimento, ou não, da doença em indivíduos imunocomprometidos, como acontece no caso de pacientes com HIV ou pacientes que estejam sujeitos a tratamentos com imunossuppressores, pois apresentam um maior risco de progressão da doença após infeção (Miró & López-Véles, 2018).

7.4. Limitações do estudo

Este estudo apresentou algumas limitações, como o reduzido número de amostras e a restrição do período de recolha das mesmas. A inclusão de um maior número de

amostras teria sido benéfica para o estudo, de forma a obter resultados com maior poder estatístico, particularmente no grupo de cães com detentores. Os detentores dispostos a participar no estudo foram maioritariamente familiares, amigos e vizinhos da autora, devido à situação pandémica instalada no período de recolha das amostras do grupo de cães com detentores. Este facto, limitou não só, o número de amostras recolhidas, mas também a área geográfica inicialmente ponderada para a recolha das mesmas.

Nos grupos de cães errantes e cães com residência permanente em canil, a recolha da maior parte das amostras concentrou-se nos meses de outono e inverno, o que pode explicar o reduzido número de ectoparasitas encontrados, uma vez que, o período de maior prevalência de ectoparasitas macroscópicos, nomeadamente carraças e pulgas, se verifica no verão e primavera (ESCAAP 2018).

Também o número de amostras positivas a parasitas gastrointestinais pode estar subestimado, uma vez que, apenas foram recolhidas amostras uma única vez e muitos dos parasitas gastrointestinais apresentam excreção intermitente (Robertson et al. 2000).

A subestimação da população parasitária é transversal aos diferentes grupos de parasitas estudados nesta dissertação. No grupo dos hemoparasitas, a baixa sensibilidade da técnica utilizada para a sua identificação pode explicar a falta de resultados. Apesar da facilidade na conservação das amostras, rapidez de execução da técnica e baixos custos associados à realização de um esfregaço sanguíneo, este método origina muitos falsos negativos.

A baixa sensibilidade desta técnica deve-se sobretudo à ocorrência de infeções subclínicas e crónicas e à parasitémia normalmente baixa e intermitente (Solano-Gallego & Baneth 2011).

Outra limitação deste estudo prendeu-se com a impossibilidade de recolha de amostras sanguíneas e fecais de todos os animais incluídos nesta dissertação. O número de amostras sanguíneas foi inferior ao número de amostras fecais, essencialmente devido à dificuldade de contenção de alguns dos animais para recolha de sangue ou devido à falta de autorização dos detentores para esse procedimento. Em alguns casos, sucedeu-se o oposto e não foi possível obter amostras fecais em cães incluídos na pesquisa de hemoparasitas. Isto sucedeu-se em cães com detentores, cuja área habitacional não permitiu a deteção das fezes do animal, por ser consideravelmente grande.

8. Conclusão

No presente estudo foram analisadas amostras fecais, esfregaços sanguíneos e ectoparasitas com origem em cães residentes em canil, cães errantes e cães com detentores, de áreas rurais do concelho de Viseu. Observaram-se formas parasitárias em 33,33% das amostras fecais analisadas laboratorialmente.

A prevalência de infeções simples foi superior à prevalência de infeções mistas e foram identificados os nematodes intestinais *Ancylostoma caninum*, *Toxocara canis*, *Trichuris vulpis* e *Uncinaria stenocephala*, o cestode *Dipylidium caninum* e os protozoários intestinais *Cystoisospora* spp. e *Giardia* spp. A espécie mais frequentemente encontrada foi *Toxocara canis* seguida de *Trichuris vulpis* e *Uncinaria stenocephala*. Dos agentes identificado apenas o género *Cystoisospora* não apresenta potencial zoonótico.

Dos 63 animais observados neste estudo, foram recolhidos ectoparasitas apenas em 12 (19,05%) *Rhipicephalus* spp., foi o ectoparasita encontrado com maior prevalência, seguido de *Ixodes* spp. e *Pulex* spp. Adicionalmente, foram também observados ixodídeos do género *Dermacentor* e pulgas da espécie *Ctenocephalides canis*.

A observação dos esfregaços sanguíneos resultou na deteção de *Mycoplasma haemocanis* em apenas num animal e a realização de testes serológicos para deteção de *L. infantum* aos 24 cães errantes incluídos neste estudo sinalizaram apenas um animal como positivo.

A identificação de agentes com potencial zoonótico e agentes com competência vetorial e de transmissão de agentes patogénicos ao ser humano realça a relevância dos médicos veterinários como agentes de Saúde Pública no controlo de doenças parasitárias.

Bibliografia

- Abdel Aziz AR, Hassan AA, Elmahallawy EK, Almuzaini AM. 2019. Prevalence and associated risk factors of *Toxocara* infection in dogs in northern and southern Egypt. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 17 (May).
- Abdulkareem BO, Christy AL, Samuel UU. 2019. Prevalence of ectoparasite infestations in owned dogs in Kwara State, Nigeria. *Parasite Epidemiology and Control*. 4: e00079
- Adamama-Moraitou KK, Rallis TS, Koytinas AF, Tontis D, Plevraki K, Kritsepis M. 2007. Asymptomatic colitis in naturally infected dogs with *Leishmania infantum*: A prospective study. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 76 (1) 53-57
- Alho AM, Meireles J, Schnyder M, Cardoso L, Belo S, Deplazes P, de Carvalho LM. 2018. *Dirofilaria immitis* and *Angiostrongylus vasorum*: The current situation of two major canine heartworms in Portugal. *Veterinary Parasitology*. 252: 120-126
- Alho AM, Schnyder M, Schaper R, Meireles J, Belo S, Deplazes P, de Carvalho LM. 2016. Seroprevalence of circulating *Angiostrongylus vasorum* antigen and parasite-specific antibodies in dogs from Portugal. *Parasitology Research*. 115 (7): 2567-2572
- Al-Sabi MNS, Kapel CMO, Johansson A, Espersen MC, Koch J, Willesen JL. 2013. A coprological investigation of gastrointestinal and cardiopulmonary parasites in hunting dogs in Denmark. *Veterinary Parasitology*. 196(3-4): 366-372
- Angelou A, Gelasakis AI, Schnyder M, Schaper R, Papadopoulos E. 2020. The 'French heartworm' in Greece: A countrywide serological survey of *Angiostrongylus vasorum* infection by combined detection of circulating antigens and specific antibodies. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 19 (Jan): 100376
- Antunes TR, Peixoto RAV, Oliveira BB, Sorgatto S, Ramos CAN, Souza AI. 2016. Detection of *Leishmania infantum* in Peripheral Blood Smear and Lymph Node of a Domestic Feline. *Acta Scientiae Veterinariae*. 44: 162
- Areekul P, Putaporntip C, Pattanawong U, Sitthicharoenchai P, Jongwutiwes S. 2010. *Trichuris vulpis* and *T. trichiura* infections among schoolchildren of a rural community in northwestern Thailand: The possible role of dogs in disease transmission. *Asian Biomedicine*. 4 (1): 49-60.
- Ash A, Lymbery A, Godfrey S, Shiel R, Paul A. 2019. Substrate type and age are risk factors for gastrointestinal parasitism in greyhound kennels. *Veterinary Parasitology*. 265 (Nov 2018): 7-14
- Avila HG, Mozzoni C, Trangoni MC, Cravero SLP, Valenzuela F, Gertiser ML, Butti MJ, Kamenetzky L, Jensen O, Rosenzvit MC. Development of a copro-LAMP assay for detection of several species of *Echinococcus granulosus sensu lato* complex. 2020. Development of a copro-LAMP assay for detection of several species of *Echinococcus granulosus sensu lato* complex. *Veterinary Parasitology*. 277.
- Ballweber LR. 2006. Diagnostic Methods for Parasitic Infections in Livestock. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*. 22 (3): 695-705
- Ballweber LR, Beugnet F, Marchiondo AA; Payne PA. 2014. American association of veterinary parasitologists' review of veterinary fecal flotation methods and factors

influencing their accuracy and use - Is there really one best technique? *Veterinary Parasitology*. 204 (1-2): 73-80

- Baneth G, Thamsborg SM, Otranto D, Guillot J, Blaga R, Deplazes P, Solano-Gallego L. 2016. Major Parasitic Zoonoses Associated with Dogs and Cats in Europe. *Journal of Comparative Pathology*. 155 (1): 54-74.
- Barker EN, Tasker S, Day MJ, Warman SM, Woolley K, Birtles R, Georges KC, Ezeokoli CD, Newaj-Fyzul A, Campbell MD, Sparagano OAE, Cleaveland S, Helps CR. 2010. Development and use of real-time PCR to detect and quantify *Mycoplasma haemocanis* and "*Candidatus Mycoplasma haematoparvum*" in dogs. *Veterinary Microbiology*. 140 (1-2): 167-170
- Becker AC, Rohen M, Epe C, Schnieder T. 2012. Prevalence of endoparasites in stray and fostered dogs and cats in Northern Germany. *Parasitology Research*. 111 (2): 849-857
- Becskei C, De Bock F, Illambas J, Cherni JA, Lourie JJ, Lane M, Mahabir SP, Six RH. 2016. Efficacy and safety of a novel oral isoxazoline, sarolaner (Simparica™), for the treatment of sarcoptic mange in dogs. *Veterinary Parasitology*. 222: 56-61
- Beiromvand M, Akhlaghi L, Fattahi Massom SH, Meamar AR, Motevalian A, Oormazdi H, Razmjou E. 2013. Prevalence of zoonotic intestinal parasites in domestic and stray dogs in a rural area of Iran. *Preventive Veterinary Medicine*. 109 (1-2): 162-167.
- Beugnet F, Labuschagne M, Fourie J, Jacques G, Farkas R, Cozma V, Halos L, Hellmann K, Knaus M, Rehbein S. 2014. Occurrence of *Dipylidium caninum* in fleas from client-owned cats and dogs in Europe using a new PCR detection assay. *Veterinary Parasitology*. 205(1-2): 300-306.
- Bilić P, Kuleš J, Barić Rafaj R, Mrljak V. 2018. Canine babesiosis: Where do we stand? *Acta Veterinaria*. 68 (2): 127-160
- Bonilla MC, Campos-Calderón L, Jiménez-Rocha AE, Romero-Zúñiga JJ, Alberti A, Zobba R, Dolz G. 2017. Characterization of *Anaplasma* spp. infection in dogs from Costa Rica. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 8: 60-65
- Bowman, DD. 2014. *Georgis' Parasitology for Veterinarians*. 10^a edição. St Louis, Missouri: Elsevier Saunders
- Caeiros APS. 2019. Deteção de *Babesia* spp. e de outros hemoparasitas em cães, por técnicas morfológicas, serológicas e moleculares, no distrito de Lisboa, Portugal. [dissertação de mestrado]. Lisboa: FMV- Universidade de Lisboa
- Calero-Bernal R, Sánchez-Murillo JM, Alarcón-Elbal PM, Sánchez-Moro J, Latrofa MS, Dantas-Torres F, Otranto D. 2014. Resolution of canine ocular thelaziosis in avermectin-sensitive Border Collies from Spain. *Veterinary Parasitology*. 200(1-2): 203-206
- Cardoso L, Mendão C, Madeira De Carvalho L. 2012. *Leishmania infantum* in apparently healthy and CVBD-suspect dogs in Portugal -a national serological study. *Parasites & Vectors*. 5: 62
- Carmena D, Cardona GA. 2013. Canine echinococcosis: Global epidemiology and genotypic diversity. *Acta Tropica*. 128 (3): 441-460.

- Charoensuk L, Subrungruang I, Mungthin M, Pinlaor S, Suwannahitatorn P. 2019. Comparison of stool examination techniques to detect *Opisthorchis viverrini* in low intensity infection. *Acta Tropica*. 191 (Nov 2018): 13-16
- Cho MK, Lee KH, Lee SJ, Kang SW, Ock MS, Hong YC, Lee YS, Yu HS. 2009. Identification of host immune regulation candidate genes of *Toxascaris leonina* by expression sequenced tags (ESTs) analysis. *Veterinary Parasitology*. 164 (2-4): 242-247.
- Claerebout E, Casaert S, Dalemans AC, Levecke B, Vercruyssen J, Geurden T. 2009. *Giardia* and other intestinal parasites in different dog populations in Northern Belgium. *Veterinary Parasitology*. 161(1-2): 41-46
- Cortes S, Afonso MO, Alves-Pires C; Campino L. 2007. Stray dogs and leishmaniasis in urban areas, Portugal. *Emerging Infectious Diseases*. 13 (9) 1431-1432
- Costa FAL, Goto H, Saldanha LCB, Silva SMMS, Sinhorini IL, Silva TC, Guerra JL. 2003. Histopathologic patterns of nephropathy in naturally acquired canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Pathology*. 40 (6): 677-684
- Crespo M, Rosa F, Almeida J. (2013). Parasitismo em cães de Óbidos. *Revista da Unidade de Investigação do Instituto Politécnico de Santarém*, 2: 292-300; [accedido em 2021 Março 22]. disponível em: <http://repositorio.ipsantarem.pt/handle/10400.15/642>.
- Cringoli G, Rinaldi L, Maurelli MP, Morgoglione ME, Utzinger J. 2011. *Ancylostoma caninum*: Calibration and comparison of diagnostic accuracy of flotation in tube, McMaster and FLOTAC in faecal samples of dogs. *Experimental Parasitology*, 128 (1): 32-37.
- Demma LJ, Holman RC, McQuiston JH, Krebs JW, Swerdlow DL. 2005. Epidemiology of human ehrlichiosis and anaplasmosis in the United States, 2001-2002. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 73 (2): 400-409
- Deplazes P, Rinaldi L, Alvarez Rojas CA, Torgerson PR, Harandi MF, Romig T, Antolova D, Schurer JM, Lahmar S, Cringoli G, Magambo J, Thompson RCA, Jenkins EJ. 2017. Global Distribution of Alveolar and Cystic Echinococcosis. *Advances in Parasitology*. 95: 315-493.
- Do Nascimento NC, Santos AP, Guimaraes AMS, Sanmiguel PJ, Messick JB. 2012. *Mycoplasma haemocanis* - The canine hemoplasma and its feline counterpart in the genomic era. *Veterinary Research*. 43 (1).
- do Vale B, Lopes AP, da Conceição Fontes M, Silvestre M, Cardoso L, Coelho AC. 2019. Thelaziosis due to *Thelazia callipaeda* in Europe in the 21st century—A review. *Veterinary Parasitology*. 275
- Dubná S, Langrová I, Nápravník J, Jankovská I; Vadlejč J, Pekár S, Fechtner J. 2007. The prevalence of intestinal parasites in dogs from Prague, rural areas, and shelters of the Czech Republic. *Veterinary Parasitology*. 145 (1-2): 120-128
- Dumont P, Blair J, Fourie JJ, Chester TS, Larsen, Diane L. 2014. Evaluation of the efficacy of afoxolaner against two European dog tick species: *Dermacentor reticulatus* and *Ixodes ricinus*. *Veterinary Parasitology*. 201 (3-4): 216-219
- Elsemore DA, Geng J, Flynn L, Cruthers L, Lucio-Forster A, Bowman DD. 2014. Enzyme-linked immunosorbent assay for coproantigen detection of *Trichuris vulpis* in dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 26 (3): 404-411.

- [ESCCAP] European Scientific Counsel Companion Animal Parasites. 2020. Guideline 01 Sixth Edition – February 2020: Worm Control in Dogs and Cats. 6ª edição [internet]. United Kingdom: ESCCAP; [acedido em 2020 Março 17].
https://www.esccap.org/uploads/docs/2fe4poh6_0778_ESCCAP_Guideline_GL1_v10_1p.pdf
- [ESCCAP] European Scientific Counsel Companion Animal Parasites. 2019. Guideline 05 Third Edition – March 2019: Control of Vector-Borne Diseases in Dogs and Cats. 3ª edição [internet]. United Kingdom: ESCCAP; [acedido em 2020 Maio 18].
https://www.esccap.org/uploads/docs/i3m71z28_0775_ESCCAP_Guideline_GL5_v8_1p.pdf
- [ESCCAP] European Scientific Counsel Companion Animal Parasites. 2018. Guideline 06 Second Edition – February 2018: Control of Intestinal Protozoa in Dogs and Cats. 2ª edição [internet]. United Kingdom: ESCCAP; [acedido em 2020 Maio 4].
https://www.esccap.org/uploads/docs/xnqpgri2_0701_ESCCAP_Guideline_GL6_v7_1p.pdf
- [ESCCAP] European Scientific Counsel Companion Animal Parasites. 2018. ESCCAP Guideline 03 Sixth Edition – March 2018: Control of Ectoparasites in Dogs and Cats. 6ª edição; [acedido em 2020 Junho 1].
https://www.esccap.org/uploads/docs/mjy50wev_0720_ESCCAP_Guideline_GL3_v9_1p.pdf
- ESTGV-DEC: Departamento de Engenharia Civil. 2021. A cidade de Viseu. [acedido em 2021 Fevereiro 14]. <https://dep.estgv.ipv.pt/departamentos/dcivil/viseu/>
- Estrada-Peña A, Ayllón N, de la Fuente J. 2012. Impact of climate trends on tick-borne pathogen transmission. *Frontiers in Physiology*. 3 (March): 1-12 [internet]. United Kingdom: ESCCAP
- Félix LIB. 2015. Parasitoses gastrointestinais e cardiopulmonares em cães. Estudo epidemiológico em canis de Portugal Continental. [dissertação de mestrado]. Lisboa: FMV- Universidade de Lisboa
- Feng Y, Xiao L. 2011. Zoonotic potential and molecular epidemiology of *Giardia* species and giardiasis. *Clinical Microbiology Reviews*. 24 (1): 110-140
- Ferreira CAC, De Pinho VM, Novo MTLM, Calado MMP, Gonçalves LAP, Belo SMD, De Almeida APG. 2015. First molecular identification of mosquito vectors of *Dirofilaria immitis* in continental Portugal. *Parasites and Vectors*. 8 (1): 1-11
- Ferreira FS, Pereira-Baltasar P, Parreira R, Padre L, Vilhena M, Távora Távora L, Atouguia J, Centeno-Lima S. 2011. Intestinal parasites in dogs and cats from the district of Évora, Portugal. *Veterinary Parasitology*. 179 (1-3): 242-245
- Gil H, Cano L, de Lucio A, Bailo B, de Mingo MH, Cardona GA, Fernández-Basterra JA, Aramburu-Aguirre J, López-Molina N, Carmena D. 2017. Detection and molecular diversity of *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in sheltered dogs and cats in Northern Spain. *Infection, Genetics and Evolution*. 50: 62-69
- Gomes BCG. 2019. Contribuição para o estudos dos parasitas gastrointestinais, pulmonares e hemáticos em cães na cidade do Funchal, Ilha da Madeira. [dissertação de mestrado]. Lisboa: FMV- Universidade de Lisboa

- Henningsson AJ, Wilhelmsson P, Gyllemark P, Kozak M, Matussek A, Nyman D, Ekerfelt C, Lindgren PE, Forsberg P. 2015. Low risk of seroconversion or clinical disease in humans after a bite by an *Anaplasma phagocytophilum*-infected tick. *Ticks and Tick-borne Diseases*. 6 (6): 787-792
- Kostopoulou D, Claerebout E, Arvanitis D, Ligda P, Voutzourakis N, Casaert S, Sotiraki S. 2017. Abundance, zoonotic potential and risk factors of intestinal parasitism amongst dog and cat populations: The scenario of Crete, Greece. *Parasites and Vectors*. 10 (1): 1-12
- Krstić M, Gabrielli S, Ignjatović M, Savić S, Cancrini G, Ranđelović G, Stojnev S, Otašević S. 2017. An appraisal of canine and human cases reveals an endemic status of dirofilariosis in parts of Serbia. *Molecular and Cellular Probes*. 31: 37-41
- Leishvet: Prevention of canine leishmaniosis. 2019. [acedido em 2020 Setembro 10]. <http://www.leishvet.org/fact-sheet/prevention/>
- Lempereur L, Nijse R, Losson B, Marechal F, De Volder A, Schoormans A, Martinelle L, Danlois F, Claerebout E. 2020. Coprological survey of endoparasite infections in owned dogs and owners' perceptions of endoparasite control in Belgium and the Netherlands. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 22 (Feb): 100450
- Manser M, Granlund M, Edwards H, Saez A, Petersen E, Evengard B, Chiodini P. 2013. Detection of *Cryptosporidium* and *Giardia* in clinical laboratories in Europe—a comparative study. *Clinical Microbiology and Infection*. 20 (1)
- Mateus TL, Castro A, Ribeiro JN, Vieira-Pinto M. 2014. Multiple zoonotic parasites identified in dog feces collected in ponte de Lima, Portugal—A potential threat to human health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 11 (9): 9050-9067.
- Matos M, Alho AM, Owen SP, Nunes T, Madeira de Carvalho L. 2015. Parasite control practices and public perception of parasitic diseases: A survey of dog and cat owners. *Preventive Veterinary Medicine*. 122 (1-2): 174-180
- Matsubayashi M, Carreno RA, Tani H, Yoshiuchi R, Kanai T, Kimata I, Uni S, Furuya M, Sasai K. 2011. Phylogenetic identification of *Cystoisospora* spp. from dogs, cats, and raccoon dogs in Japan. *Veterinary Parasitology*. 176 (2-3): 270-274
- Messick JB. 2003. New perspectives about Hemotrophic mycoplasma (formerly, *Haemobartonella* and *Eperythrozoon* species) infections in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*. 33 (6): 1453-1465
- Meteo Viseu. 2010. A um click do seu tempo 2021. Geografia. [acedido em 2021 Fevereiro 14]. <https://meteoviseu.webnode.pt/viseu/geografia/>
- Miró G, López-Vélez R. 2018. Clinical management of canine leishmaniosis versus human leishmaniasis due to *Leishmania infantum*: Putting “One Health” principles into practice. *Veterinary Parasitology*. 254: 151-159
- Montgomery SP. 2020. Cutaneous Larva Migrans. In: *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Disease*. New York (NY): Elsevier Inc. p. 898-900
- Muñoz ET, Valencia GL, Centeno PA, González, SAC, Navarro FJM, Gracia LT, Castro KN, Ortiz PP, Basulto GEM, Sosa ART, Gómez DG. 2017. Prevalence and distribution of

intestinal parasites in stray dogs in the northwest area of Mexico. *Austral Journal of Veterinary Sciences*. 49 (2): 105-111

- Mylonakis ME, Harrus S, Breitschwerdt EB. 2019. An update on the treatment of canine monocytic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*). *Veterinary Journal*. 246: 45-53
- Otranto D, Dantas-Torres F, Mihalca AD, Traub RJ, Lappin M, Baneth G. 2017. Zoonotic Parasites of Sheltered and Stray Dogs in the Era of the Global Economic and Political Crisis. *Trends in Parasitology*, 33, 813-825
- Overgaauw PAM, van Zutphen L, Hoek D, Yaya FO, Roelfsema J; Pinelli E, van Knapen F, Kortbeek LM. 2009. Zoonotic parasites in fecal samples and fur from dogs and cats in The Netherlands. *Veterinary Parasitology*. 163 (1-2) 115-122.
- Palmer CS, Traub RJ, Robertson ID, Hobbs RP, Elliot A, While L, Rees R, Thompson RCA. 2006. The veterinary and public health significance of hookworm in dogs and cats in Australia and the status of *A. ceylanicum*. *Vet.Parasitol.* 145, 304–313.
- Paul M, King L, Carlin EP. 2010. Zoonoses of people and their pets: a US perspective on significant pet-associated parasitic diseases. *Trends in Parasitology*. 26 (4): 153-154
- Pereira A, Martins A, Brancal H, Vilhena H, Silva P, Pimenta P, Diz-Lopes D, Neves N, Coimbra M, Alves AC, Cardoso L, Maia C. 2016. Parasitic zoonoses associated with dogs and cats: A survey of Portuguese pet owners' awareness and deworming practices. *Parasites and Vectors*. 9 (1): 1-9
- Novacco M, Meli ML, Gentilini F, Marsilio F, Ceci C, Pennisi MG, Lombardo G, Lloret A, Santos L, Carrapiço T, Willi B, Wolf G, Lutz H, Hofmann-Lehmann R. 2010. Prevalence and geographical distribution of canine hemotropic *Mycoplasma* infections in Mediterranean countries and analysis of risk factors for infection. *Veterinary Microbiology*. 142 (3-4): 276-284
- Ordeix, Solano-Gallego L, Fondevila D, Ferrer L, Fondati A. 2005. Papular dermatitis due to *Leishmania* spp. infection in dogs with parasite-specific cellular immune responses. *Veterinary Dermatology*. 16 (3): 187-191
- Otranto D, Dantas-Torres F, Mihalca AD, Traub RJ, Baneth G. 2017. Zoonotic Parasites of Sheltered and Stray Dogs in the Era of the Global Economic and Political Crisis. *Trends in Parasitology*. 33 (10): 813-825.
- Otranto D, Deplazes P. 2019. Zoonotic nematodes of wild carnivores. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*. 9 (Dec. 2018): 370-383
- Palmer CS, Traub RJ, Robertson ID, Devlin G, Rees R, Thompson RCA. 2008. Determining the zoonotic significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in Australian dogs and cats. *Veterinary Parasitology*. 154(1-2): 142-147
- Peña MT, Roura X, Davidson MG. 2000. Ocular and periocular manifestations of leishmaniasis in dogs: 105 Cases (1993-1998). *Veterinary Ophthalmology*. 3 (1): 35-41
- Postigo I, Martinez J, Guisantes JA. 2006. *Uncinaria stenocephala*: Assessment of antigens for the immunodiagnosis of canine uncinariosis. *Experimental Parasitology*, 114 (3): 215-219.

- R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rallis T, Day MJ, Saridomichelakis MN, Adamama-Moraitou KK, Papazoglou L, Fytianou A; Koutinas AF. 2005. Chronic hepatitis associated with canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*): A clinicopathological study of 26 cases. *Journal of Comparative Pathology*. 132 (2-3): 145-152
- Robertson ID, Thompson RC. 2002. Enteric parasitic zoonoses of domesticated dogs and cats. *Microbes and Infection*. 4 (8): 867-873.
- Saari S, Näreaho A, Nikander S. 2019. *Canine Parasites and Parasitic Diseases*. California (CA): Elsevier Inc.
- Santos JPGAB. 2014. Estudo observacional transversal de parasitas em cães errantes no concelho de Vila Franca de Xira, Portugal [dissertação de mestrado]. Lisboa: FMV-Universidade de Lisboa
- Santos-Silva MM, Santos AS, De Sousa R, Nuncio MS, Melo P, Santos-Reis M, Fonseca C, Formosinho P, Vilela C, Bacellar F. 2011. The hard-tick fauna of mainland Portugal (*Acar*i: *Ixodidae*): An update on geographical distribution and known associations with hosts and pathogens. *Experimental and Applied Acarology*. 55 (1): 85-121
- Schnieder T, Laabs EM, Welz C. 2011. Larval development of *Toxocara canis* in dogs. *Veterinary Parasitology*. 175 (3-4): 193-206.
- Segarra S, Miró G, Montoya A, Pardo-Marín L, Boqué N, Ferrer L, Cerón J. 2017. Randomized, allopurinol-controlled trial of the effects of dietary nucleotides and active hexose correlated compound in the treatment of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology*. 239 (April): 50-56
- Segarra S, Miró G, Montoya A, Pardo-Marín L, Teichenné J, Ferrer L, Cerón JJ. 2018. Prevention of disease progression in *Leishmania infantum*-infected dogs with dietary nucleotides and active hexose correlated compound. *Parasites and Vectors*. 11 (1): 1-10
- Silva MM, Santos AS, Formosinho P, Bacellar F. 2006. Carraças associadas a patologias infecciosas em Portugal. *Acta Medica Portuguesa*. 19 (1): 39-48
- Simón F, Morchón R, González-Miguel J, Marcos-Atxutegi C, Siles-Lucas M. 2009. What is new about animal and human dirofilariosis? *Trends in Parasitology*. 25 (9): 404-409
- Six RH, Becskei C, Mazaleski MM, Fourie JJ, Mahabir SP, Myers MR, Sloodmans N. 2016. Efficacy of sarolaner, a novel oral isoxazoline, against two common mite infestations in dogs: *Demodex* spp. and *Otodectes cynotis*. *Veterinary Parasitology*. 222: 62-66
- Solano-Gallego L, Baneth G. 2011. Babesiosis in dogs and cats-Expanding parasitological and clinical spectra. *Veterinary Parasitology*. 181 (1): 48-60
- Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G. 2009. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology*. 165 (1-2): 1-18

- Sommer MF, Zdravković N, Vasić A, Grimm F, Silaghi C. 2017. Gastrointestinal parasites in shelter dogs from Belgrade, Serbia. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*. 7: 54-57
- Spickler AR. 2019. Trichuriasis. San Francisco (CA): Center for Food Security and Public Health. [acedido em 2020 Abr 23]
<http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.php>.
- Taylor MA, Coop RL, Wall RL. 2016. *Veterinary Parasitology*. 4ª edição. United Kingdom: Willey Blackwell.
- Taghipour A, Olfatifar M, Bahadory S, Godfrey SS, Abdoli A, Khatami A, Javanmard E, Shahrivar F. 2020. The global prevalence of *Cryptosporidium* infection in dogs: A systematic review and meta-analysis. *Veterinary Parasitology*. 281 (March): 109093.
- Traversa D. 2012. Pet roundworms and hookworms: A continuing need for global worming. *Parasites and Vectors*. 5 (1): 1-19.
- Traversa D, Di Cesare A, Simonato G, Cassini R, Merola C, Diakou A, Halos L, Beugnet F, Frangipane di Regalbono A. 2017. Zoonotic intestinal parasites and vector-borne pathogens in Italian shelter and kennel dogs. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 51: 69-75
- Tysnes KR, Skancke E, Robertson LJ. 2014. Subclinical *Giardia* in dogs: A veterinary conundrum relevant to human infection. *Trends in Parasitology*. 30 (11): 520-527
- Uranovet: Uranotest *Giardia*. 2020. [acedido em 2021 Janeiro 20]
<https://www.uranovet.com/en/product/uranotest-giardia>
- Vamvakidis CD, Koutinas AF, Kanakoudis G, Georgiadis G, Saridomichelakis M. 2000. Masticatory and skeletal muscle myositis in canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*). *The Veterinary record*. 146 (24). 698-703
- Virbac: Speed Leish K. 2020. [acedido em 2020 Dezembro 12]
<https://bvt.virbac.com/en/home/diagnostic-solutions/pour-le-veterinaire-praticien/vector-borne-and-parasitic-disea/main/produits/speed-leish-k.html>
- Yore K, DiGangi B, Brewer M, Balakrishnan N, Breitschwerdt EB, Lappin M. 2014. Flea species infesting dogs in Florida and *Bartonella* spp. prevalence rates. *Veterinary Parasitology*. 199(3-4): 225-229
- Zaglool DAM, Mohamed A, Khodari YAW, Farooq MU. 2013. Crypto-Giardia antigen rapid test versus conventional modified Ziehl-Neelsen acid fast staining method for diagnosis of cryptosporidiosis. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 6 (3): 212-215

Anexo 1.



Dissertação de Mestrado Integrado da Faculdade de Medicina
Veterinária da Universidade de Lisboa

Panorama do parasitismo em cães de canil e exterior no distrito de
Viseu



Dados do Animal

Nome: _____ Idade: _____ Raça _____

Sexo: Macho Fêmea Macho Castrado Fêmea Esterilizada

Vive com outros Animais? Sim Não

Se sim, quais? _____

Faz Desparasitação Externa? Sim Não

Se sim, qual/ quais? _____

Frequência da desparasitação externa: _____

Faz Desparasitação Interna? Sim Não

Se sim, qual/ quais? _____

Frequência da desparasitação externa: _____

Doenças conhecidas: _____

Dados do Dono:

Nome: _____

Morada: _____

Telefone: _____

Termo de Consentimento

Instituição onde decorre o estudo: Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da
Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

Investigador responsável: Sara Francisca Jesus Rocha sob a orientação do Doutor David
Wilson Russo Ramilo e coorientação da Prof.^a Doutora Isabel Pereira da Fonseca

Eu _____,
Detentor/ responsável por _____ declaro que concedo o meu
consentimento à participação do meu animal neste projeto de investigação e a utilização dos
dados recolhidos (exceção feita aos dados pessoais), incluindo registos fotográficos, para fins de
publicação.

Local e Data: _____, _____ de _____ de _____

Assinatura: _____

Anexo 2.

Esfregaço fecal corado pelo método de Ziehl-Neelsen modificado (adaptado de Casemore et al. (1985)):

Para a realização do esfregaço fecal e após homogeneização da amostra (adicionando se necessário 1 a 2 gotas de água), recolheu-se uma pequena porção com o auxílio de uma vareta de vidro; com a vareta em posição paralela a uma lâmina de vidro e realizando movimentos rotativos distribuiu-se uma camada homogênea por toda a área da lamina.

Deixou-se secar muito bem ao ar livre durante 24 horas e iniciou-se a coloração de Ziehl-Neelsen (adaptado de Casemore et al. 1985):

- a. Cobriu-se o esfregaço com metanol durante 1 minuto para fixar amostra
- b. Cobriu-se com Fucsina durante 10 minutos e de seguida lavou-se com água corrente
- c. Lavou-se a lâmina com Álcool Clorídrico a 1% e lavou-se novamente com água corrente
- d. Cobriu-se com Verde Malaquite 0,4% durante 30 segundos e lavou-se com água corrente
- e. Colou-se a lâmina ao alto para secar durante 24 horas
- f. Observou-se no microscópio óptico Olympus® modelo BX40 com óleo de imersão na ampliação de 1000x (ocular de 10x e objectiva de 100x)

Anexo 3.

Associação estatística entre os fatores de risco estudados e a existência de infecção gastrointestinal, no grupo de cães errantes.

Fator de risco		Número total de amostras	Número de amostras positivas	Prevalência (%) [IC 95%]	Associações estatísticas
Sexo	Machos	9	6	66,66% [IC 95%: 35,87%- 97,45%]	Fisher P value =1
	Fêmeas	15	9	60% [IC 95%: 35,21%- 84,79%]	
Raça	Sem raça definida	22	13	59,09% [IC 95%: 34,3%- 79,63%]	Fisher P value =0,519
	Com raça definida	2	2	100%	
Idade	<1 ano	8	8	100%	$\chi^2=9,0667$ P value =0,01074
	1 a 6 anos	14	7	50% [IC 95%: 23,81%- 76,19%]	
	>6 anos	2	0	0	
Estação do ano	Outono	13	7	53,85% [IC 95%: 26,75%- 80,95%]	$\chi^2=1,9318$ P value =0,3806
	Inverno	10	7	70% [IC 95%: 41,6%- 98,4%]	
	Primavera	1	1	100%	

Associação estatística entre os fatores de risco estudados e a existência de infecção gastrointestinal, no grupo de cães com tutores.

Fator de risco		Número total de amostras	Número de amostras positivas	Prevalência (%) [IC 95%]	Associações estatísticas
Sexo	Machos	14	3	21,43% [IC 95%: 0- 42,92%]	Fisher P value =0,1912
	Fêmeas	3	2	66,7% [IC 95%: 13,37%- 100%]	
Raça	Sem raça definida	14	4	28,57% [IC 95%: 4,91%- 52,23%]	Fisher P value =1
	Com raça definida	3	1	33,33% [IC 95%: 0- 86,67%]	
Idade	<1 ano	2	1	50% [IC 95%: 0- 100%]	$\chi^2=2,1199$ P value =0,3465
	1 a 6 anos	8	1	12,5% [IC 95%: 0%- 35,4%]	
	>6 anos	7	3	42,86% [IC 95%: 6,2%- 79,52%]	
Estação do ano	Outono	0	0	0	Fisher P value =0,5378
	Inverno	4	2	50% [IC 95%: 1%- 99%]	
	Primavera	13	3	23,08% [IC 95%: 0,18%- 45,98%]	
Co-habitação com outros animais	Sim	11	4	36,36% [IC 95%: 7,93%- 64,79%]	
	Não	6	1	16,66% [IC 95%: 0%- 46,48%]	
Desparasitação interna em dia	Sim	9	1	11,11% [IC 95%: 0%- 31,64%]	Fisher P value =0,1312
	Não	8	4	50% [IC 95%: 15,36%- 84,64%]	

Associação estatística entre os fatores de risco estudados e a presença de ectoparasitas, no grupo de cães residentes no CAAV.

Fator de risco		Número total de amostras	Número de amostras positivas	Prevalência (%) [IC 95%]	Associações estatísticas
Sexo	Machos	9	1	11,11% [IC 95%: 0- 31,64%]	Fisher P value =0,582
	Fêmeas	10	3	30% [IC 95%: 1,6%- 58,4%]	
Raça	Sem raça definida	19	4	21,05% [IC 95%: 2,72%- 39,83%]	
	Com raça definida	0	0		
Idade	<1 ano	0	0	0	Fisher P value =1
	1 a 6 anos	12	3	25% [IC 95%: 0,5%- 49,5%]	
	>6 anos	7	1	14,28% [IC 95%: 0- 40,2%]	
Estação do ano	Outono	9	0		$\chi^2=19$ P value = 7.485e-05
	Inverno	6	0		
	Primavera	4	4	100%	

Associação estatística entre os fatores de risco estudados e a presença de ectoparasitas, no grupo de cães errantes.

Fator de risco		Número total de amostras	Número de amostras positivas	Prevalência (%) [IC 95%]	Associações estatísticas
Sexo	Machos	9	1	11,11% [IC 95%: 0- 31,64%]	Fisher P value =1
	Fêmeas	15	2	13,33% [IC 95%: 0- 30,53%]	
Raça	Sem raça definida	22	3	13,63% [IC 95%: 2,72%- 27,97%]	Fisher P value =1
	Com raça definida	2	0	0	
Idade	<1 ano	8	1	12,5% [IC 95%: 0- 25,42%]	$\chi^2=0,327$ P value = 0,8494
	1 a 6 anos	14	2	14,28% [IC 95%: 0- 32,61%]	
	>6 anos	2	0	14,28% [IC 95%: 0- 40,2%]	
Estação do ano	Outono	13	2	15,38% [IC 95%: 0- 34,99%]	$\chi^2=0,299$ P value = 0,8612
	Inverno	10	1	10% [IC 95%: 0- 28,59%]	
	Primavera	1	0	0	

Associação estatística entre os fatores de risco estudados e a presença de ectoparasitas, no grupo de cães com detentores.

Fator de risco		Número total de amostras	Número de amostras positivas	Prevalência (%) [IC 95%]	Associações estatísticas
Sexo	Machos	15	4	26,67% [IC 95%: 4,29- 49,05%]	Fisher P value =1
	Fêmeas	5	1	20% [IC 95%: 0- 55,06%]	

Raça	Sem raça definida	17	4	23,52% [IC 95%: 3,36%- 43,68%]	Fisher P value =1
	Com raça definida	3	1	33,33% [IC 95%: 0- 86,67%]	
Idade	<1 ano	3	1	33,33% [IC 95%: 0- 100%]	$\chi^2=1,704$ P value =0,4266
	1 a 6 anos	9	1	11,11% [IC 95%: 0%- 31,64%]	
	>6 anos	8	3	37,5% [IC 95%: 3,97%- 71,04%]	
Estação do ano	Outono	0	0	0	Fisher P value =0,0139
	Inverno	14	1	7,14% [IC 95%: 0- 20,63%]	
	Primavera	6	4	66,67% [IC 95%: 28,96%- 100%]	
Co-habitação com outros animais	Sim	14	4	28,57% [IC 95%: 4,91%- 52,23%]	Fisher P value =1
	Não	6	1	16,66% [IC 95%: 0%- 46,48%]	
Desparasitação externa em dia	Sim	9	1	11,11% [IC 95%: 0%- 31,64%]	Fisher P value =0,3189
	Não	11	4	36,36% [IC 95%: 7,94%- 64,79%]	