

“Rastreio parasitológico em cães pastores de explorações pecuárias do concelho de Fronteira”

Dissertação

Curso de Mestrado em Enfermagem Veterinária em Animais de
Companhia

Susana Maria Pedras Leitão

Orientadores: Prof^a Luísa Pereira

Elvas, 2024

Susana Maria Pedras Leitão

“Rastreo parasitológico em cães pastores de explorações pecuárias do concelho de Fronteira”

Dissertação apresentada para obtenção do grau de mestre em Enfermagem Veterinária em Animais de Companhia conferido pelo Instituto Politécnico de Portalegre.

Orientador: Prof^a Luísa Pereira

Arguente principal: Prof^a Maria de Aires Pereira

Presidente do Júri: Prof^o José Rato Nunes

Classificação: 14 valores

Escola Superior de Biociências de Elvas

2024

Agradecimentos

Finalmente posso agradecer a todos os que fizeram parte deste percurso desde o início.

Confesso que nem sempre foi fácil, houve momentos em que deixei de acreditar que seria possível, mas havia sempre um incentivo, uma palavra amiga ou mesmo um olhar de um paciente que diariamente passam pela clínica onde trabalho. Este esforço foi para minha realização pessoal, mas também foi por eles, para poder cada vez melhor entender e ajudar em todas as patologias que os acometem.

Assim quero agradecer em primeiro lugar à minha família, à minha irmã pelo incentivo, aos meus filhos, pais e namorado por aguentarem estes anos todos os dias menos bons, desculpem por não conseguir estar tão presente.

À equipa da Vetinser, clínica onde exerço a bonita profissão de Enfermeira Veterinária, à Beatriz Alpalhão, ao Dr. Amadeu Pereira e mais recentemente Dra. Ana Albardeiro, qualquer forma de agradecimento é pouco pela ajuda que me deram. A todos os clientes da clínica que sempre me apoiaram com incentivos e me confiaram os seus animais não tenho palavras para agradecer.

Aos professores e profissionais fantásticos, obrigada por todos os conhecimentos transmitidos, esta escola tem sem dúvida os melhores.

À minha orientadora prof Luísa Pereira por aceitar ser a minha orientadora, um enorme obrigado pela disponibilidade.

Aos colegas que conheci e aos amigos que fiz ao longo destes anos.

OBRIGADA!

“Se é possível sonhar, é possível realizar,”

Wall Águia Esteves

Resumo

Tendo em conta a inexistência de estudos, sobre parasitoses em cães pastores, realizados no concelho Fronteira, foi objetivo principal deste estudo, avaliar a prevalência dos diferentes géneros e espécies de parasitas com potencial zoonótico nos cães pastores de explorações pecuárias do concelho, avaliar o risco de transmissão para outras espécies e elaborar uma proposta estratégica de controle parasitológico dentro do conceito “*One Health*”, promovendo um ecossistema equilibrado e holisticamente saudável. Para o estudo foram realizados 81 inqueritos aos tutores e recolhidos dados dos animais, das explorações, como forma de avaliar a existência de possíveis fatores de risco. Foram recolhidas sessenta e três amostras fecais e cinquenta e sete amostras de sangue. As primeiras foram sujeitas a exame macroscópico e analisadas através do método de flutuação de Willis. Com as amostras de sangue, foram elaborados esfregaços, posteriormente corados pelo método de diff-quick para rastreio de hemoparasitas. Todas as amostras de sangue também foram avaliadas pelo método de gota a fresco para pesquisa de microfilárias. Dezoito das amostras foram sujeitas a pesquisa de *Leishmania* através de teste de imunofluorescência indireta (IFT). Das 63 amostras fecais analisadas em 49 não se observaram formas parasitárias (78%), 7 revelaram-se positivas para ancilostomídeos (11%), 4 positivas para *Toxascaris leonina* (6%), 3% apresentavam infeção mista por *Toxascaris leonina* e ancilostomídeos e numa amostra foi encontrado um parasita adulto. Nos esfregaços sanguíneos e no exame de gota a fresco, não se observaram hemoparasitas nem microfilárias, respetivamente. No entanto, das 18 amostras sujeitas ao teste Megafluor® Leish, 9 testaram positivo para *Leishmania infantum*, 1 amostra foi considerada duvidosa e 8 apresentaram resultado negativo. Apesar da baixa percentagem de parasitoses gastrointestinais apresentada, estes parasitas apresentam potencial zoonótico pelo que os cães pastores devem continuar a ser rastreados. A percentagem elevada apresentada no teste de imunofluorescência indireta (IFT) testemunha a alta prevalência da zoonose nesta zona do país.

Palavras-chave: cães pastores; Fronteira; parasitas; Portugal; zoonoses.

Abstract

In view of the lack of studies on parasites in sheepdogs carried out in the municipality of Fronteira, the main objective of this study was to evaluate the prevalence of different genera and species of parasites with zoonotic potential in shepherd dogs on farms in the municipality, to assess the risk of transmission to other species and develop a strategic proposal for parasitological control within the “*One Health*” concept, promoting a balanced and holistically healthy ecosystem. For the study, 81 surveys of owners were carried out and data collected from animals and properties, as a way of evaluating the existence of possible risk factors. Sixty-three fecal samples and fifty-seven blood samples were collected. The first were subjected to macroscopic examination and analyzed using the Willis fluctuation method. With the blood samples, smears were prepared, subsequently stained using the diff-quick method to screen for hemoparasites, all blood samples were also evaluated using the fresh drop method to search for microfilariae. Eighteen of the samples were tested for leishmania using an indirect immunofluorescence test (IFT). Of the 63 fecal samples analyzed, 49 were not observed parasitic forms (78%), 7 were positive for hookworms (11%), 4 positive for *Toxascaris leonina* (6%), 3% showed mixed infection by *Toxascaris leonina* and hookworms and in one sample found an adult parasite. In blood smears and fresh spot examination, no hemoparasites or microfilariae were observed, respectively. However, of the 18 samples submitted to the Megaflo® Leish test, 9 tested positive for *Leishmania infantum*, 1 sample was considered doubtful and 8 tested negative. Despite the low percentage of gastrointestinal parasites presented, these parasites have zoonotic potential, meaning that sheepdogs must continue to be tracked. The high percentage shown in the indirect immunofluorescence test (IFT) testifies to the high prevalence of zoonosis in this part of the country.

Keywords: sheepdogs; Fronteira; parasites; Portugal; zoonoses.

Abreviaturas, Siglas e Acrónimos

(%) - Percentagem

°C - Graus Celsius

µm - Micrómetro

cm -Centímetro

DAPP - Dermatite Alérgica à Picada da Pulga

DHE - Doença Hemorrágica Epizoótica

DL - Demodicose localizada

DG - Demodicose Generalizada

DGAV - Direções de Geral de Alimentação e Veterinária

ESCCAP - European Scientific Counsel Companion Animal Parasites

IgG - Imunoglobulina G

L1, L2, L3 - Larvas de estádios um, dois e três

PGI - Parasitas Gastrointestinais

PCR - Reação em cadeia da polimerase

spp. - Espécies

Índice Geral

Agradecimentos	i
Resumo	ii
Abstract.....	iii
Abreviaturas, Siglas e Acrónimos	iv
Índice Geral	v
Índice de Quadros	viii
Índice de Figuras	ix
1. Introdução e Objetivos.....	1
1.1. Introdução.....	1
1.2. Objetivos.....	2
2. Revisão Bibliográfica	3
2.1. Ectoparasitas	6
2.1.1. Pulgas	7
Caraterísticas	7
Ciclo de vida.....	7
Sinais clínicos	8
2.1.2. Carraças	9
Caraterísticas	9
Ciclo de vida.....	10
Sinais clínicos	11
2.2. Ácaros e fungos	11
2.2.1. <i>Demodex canis</i>	11
Características.....	11
Ciclo de vida.....	12
Sinais clínicos e diagnóstico.....	13
2.2.2. <i>Sarcoptes scabiei</i>	14
Características.....	14
Ciclo de vida.....	14
Sinais clínicos e diagnóstico.....	15
2.3. Endoparasitas.....	16
2.3.1. Nematodos intestinais	16
2.3.1.1. <i>Toxocara canis</i>	16

Caraterísticas	16
Ciclo de vida.....	17
Sinais clínicos e diagnóstico.....	18
2.3.1.2. <i>Ancylostoma caninum</i>	18
Características.....	18
Ciclo de vida.....	18
Sinais clínicos e diagnóstico.....	19
2.3.2. Nemátodos não intestinais	19
2.3.2.1. Dirofilária	19
Características.....	19
Ciclo de vida.....	20
Sinais clínicos e diagnóstico.....	21
2.3.2.2. <i>Thelazia calippaeda</i>	22
Características.....	22
Ciclo de vida.....	22
Sinais clínicos e diagnóstico.....	23
2.3.3. Cestodes.....	23
2.3.3.1. <i>Dipylidium caninum</i>	23
Características.....	23
Ciclo de vida.....	24
Sinais clínicos	25
2.3.3.2. <i>Echinococcus</i>	25
Características.....	25
Ciclo de vida.....	26
Sinais clínicos	27
2.3.4. Protozoários	28
Hemoparasitoses.....	28
2.3.4.1. <i>Hepatazoon</i>	28
Características.....	28
Ciclo de vida.....	28
Sinais clínicos e diagnóstico.....	29
2.3.4.2. <i>Leishmania</i>	30
Características.....	30
Ciclo de vida.....	31

Sinais clínicos, diagnóstico e tratamento.....	32
3. Material e Métodos.....	34
3.1.Caraterização da área de estudo.....	34
3.1.1. Locais de colheita.....	34
3.2. Material.....	37
3.3. Métodos	37
3.3.1. Questionário	37
3.3.2. Exame Clínico	38
3.3.3. Exame macroscópico.....	38
3.3.4. Procedimentos laboratoriais	39
3.3.4.1. Técnica de wills	39
3.3.4.2. Técnica da gota a fresco	40
3.3.4.3. Esfregaço sanguíneo.....	40
3.3.4.4. Imunofluorescência	41
4. Resultados.....	43
4.1.Resultados dos Questionários.....	43
4.1.1. Dados das explorações.....	43
4.1.2. Dados dos animais	45
4.1.3. Tutores.....	46
4.2. Resultados das pesquisas	47
4.2.1. Parasitas	47
4.2.2. Amostras de sangue	48
4.2.3. Amostras de fecais.....	50
5. Discussão.....	53
6. Conclusões.....	57
7. Bibliografia.....	58
Anexos.....	66

Índice de Quadros

Tabela 1 Distribuição das explorações por freguesia	36
Tabela 2 Distribuição dos animais por raça.....	45

Índice de Figuras

Figura 1 Ciclo de vida da pulga.....	8
Figura 2 Ciclo de vida do <i>Rhipicephalus sanguineus</i>	10
Figura 3 Ciclo de vida de <i>Demodex spp</i>	12
Figura 4 Ciclo de vida <i>Sarcoptes scabiei</i>	15
Figura 5 Ciclo de vida <i>Toxocara canis</i>	17
Figura 6 Ciclo de vida <i>Ancylostoma caninum</i>	19
Figura 7 Ciclo de vida <i>Dirofilaria immitis</i>	21
Figura 8 Ciclo de vida <i>Thelazia calippaeda</i>	23
Figura 9 <i>Dipylidium caninum</i>	24
Figura 10 Ciclo de vida <i>Echinococcus granulosus</i>	27
Figura 11 Ciclo de vida <i>Hepatozoon canis</i>	29
Figura 12 Ciclo de vida <i>Leishmania infantum</i>	32
Figura 13 Mapa do concelho de Fronteira.....	35
Figura 14 Total das explorações visitadas	35
Figura 15 Parasita adulto encontrado durante o exame macroscópico.....	38
Figura 16 Procedimento para técnica de flutuação.....	39
Figura 17 Lâminas da gota a fresco.....	40
Figura 18 Coloração de esfregaços sanguíneos com cloração diff-quick	41
Figura 19 Preparação do <i>kit</i> MegaFLUO® LEISH	42
Figura 20 Imunofluorescência indireta	42
Figura 21 Total de explorações por freguesia	43
Figura 22 Idade dos animais.....	45
Figura 23 Amostras recolhidas	47
Figura 24 Carraças recolhidas em 2 caninos género <i>Hyalomma</i>	47
Figura 25 Resultados do teste MegaFLUO® LEISH.....	48
Figura 26 Imagem controlo positivo	49
Figura 27 Imagem controlo negativo.....	49
Figura 28 Imagem de microscópio de fluorescência amostra positiva amostra 45	49
Figura 29 Imagem de microscópio de fluorescência amostra negativa amostra 63	49
Figura 30 Foto animal positivo amostra 45	50

Figura 31 Resultados das amostras fecais	51
Figura 32 Ovos de ancilostomideos.....	51
Figura 33 Ovos de ancilostomideos e Toxoscaris leonina	51
Figura 34 Ovos de Toxoscaris leonina	51
Figura 35 Ovos de ancilostomideos e Toxoscararis leonina.....	51

1. Introdução e Objetivos

1.1. Introdução

Ao longo dos tempos, o cão tem assumido uma função diferente no seio das famílias. Além de serem apenas animais de companhia, de estimação, de guarda, ou até de caça, passaram também a desenvolver um papel importante nos processos terapêuticos e de desenvolvimento social, ações de salvamento, transporte e, por último, mas não menos importante, para diversão (Dantas-Torres & Otranto, 2014; Mateus et al., 2014). Para Robertson et al. (2000) e Arruda et al. (2023), os animais trazem bastantes benefícios, tanto a nível individual como a nível social, no entanto, deve-se ter em atenção que estes são potenciais transmissores de zoonoses.

Segundo Santos et al. (2020), os parasitas mais comuns e com potencial zoonótico podem ser um risco para a saúde de crianças, idosos e imunocomprometidos. Os parasitas zoonóticos são do grupo dos protozoários os géneros *Giardia*, *Toxoplasma* e *Cryptosporidium* e do grupo dos helmintos do género *Toxocara* e *Ancylostoma* (Dantas-Torres & Otranto, 2014). Cães saudáveis podem hospedar e excretar parasitas prejudiciais à saúde humana e às espécies pecuárias (Arruda et al., 2023).

Alguns estudos em Portugal mostraram que existe uma elevada prevalência parasitológica em animais de companhia e uma elevada contaminação ambiental com potencial zoonótico (Cardoso et al., 2014; Mateus et al., 2014; Carvalho, 2021; Félix, 2015).

É importante que a população seja educada e alertada para os perigos das zoonoses. Todos os envolvidos, investigadores e profissionais da medicina humana e veterinária, bem como as autoridades de saúde pública, devem colaborar entre si. De forma urgente, toda a população deve tomar consciência que as mudanças no seu comportamento são importantes para a prevenção de zoonoses (Mateus et al., 2014).

1.2. Objetivos

Tendo em conta que ainda não existia nenhum estudo sobre parasitoses em cães pastores realizado no concelho, o objetivo principal deste estudo foi, avaliar a prevalência dos diferentes géneros e espécies de parasitas nos cães pastores de explorações pecuárias do concelho de Fronteira, avaliar o risco de transmissão para outras espécies e elaborar uma proposta estratégica de controle parasitológico dentro do conceito “One Health”, promovendo um ecossistema equilibrado e holisticamente saudável.

Foram recolhidos dados dos animais, dos tutores e das explorações como forma de avaliar a existência de possíveis fatores de risco (tais como idades dos animais e tutores, sexo, raça, animais coabitantes e outros que poderiam ser relevantes).

Os cães pastores desempenham um papel importante na transmissão de alguns parasitas aos animais de produção e aos trabalhadores de explorações pecuárias, por isso este tema tem importante relevância em saúde e bem-estar animal e saúde pública, enquadrando-se no tão actual conceito “One Health”.

2. Revisão Bibliográfica

Segundo Dantas-Torres e Otranto (2014), um parasita é um organismo que vive à custa de outro, denominado hospedeiro, sem lhe proporcionar qualquer benefício e podendo inclusive causar-lhe danos. Os parasitas são um grupo muito extenso e têm vários hospedeiros. Consoante a sua localização no hospedeiro podem-se dividir em dois grupos, externos ou ectoparasitas e internos ou endoparasita. Em relação à permanência, podem ser classificados como permanentes, se todo o seu ciclo de vida acontece no hospedeiro, ou temporários se parte do ciclo de vida do parasita ocorre no meio ambiente.

A espécie *Canis lupus familiaris*, vulgarmente conhecida como cão, é um importante hospedeiro de parasitas internos ou endoparasitas, como protozoários, cestodes, trematodes e nematodes, e de parasitas externos ou ectoparasitas, como pulgas, piolhos, ácaros e carraças (Dantas-Torres & Otranto, 2014; Opazo et al., 2019) que por vezes estão associados a alguns processos infecciosos (Opazo et al., 2019).

Ao longo dos tempos, os cães têm assumido uma função diferente no seio das famílias, além de animais de companhia, de estimação, de guarda, ou até de caça, passaram também a desenvolver um papel importante nos processos terapêuticos e de desenvolvimento social, ações de salvamento, transporte e, por último, mas não menos importante, para diversão (Dantas-Torres & Otranto, 2014; Mateus et al., 2014). Com o aumento do número de animais domésticos a coabitar com os humanos, o risco de transmissão de parasitas e agentes patogénicos tende a aumentar paralelamente (Oliveira et al., 2021). Para Robertson et al. (2000) e Arruda et al. (2023), os animais trazem bastantes benefícios, tanto a nível individual como a nível social. No entanto, deve ter-se em atenção a possível transmissão de zoonoses.

Cães e gatos com ou sem a presença de sintomatologia podem hospedar e excretar uma grande variedade de parasitas (protozoários e helmintos) prejudiciais à saúde humana e às espécies pecuárias (Arruda et al., 2023).

Para Pereira et al. (2016), artrópodes, helmintes e protozoários são a causa de várias doenças parasitárias a nível mundial e de rápida disseminação. Para além da elevada importância a nível da medicina veterinária, são também importantes para a saúde pública, do ponto de vista médico (Dantas-Torres & Otranto, 2014). No mesmo estudo o

autor afirma que as doenças parasitárias causadas por estes parasitas podem causar quadros clínicos graves chegando a ser fatais em animais. Alguns deles atingem a população humana, levantando um alerta para a situação que exige uma abordagem de Saúde Única.

São muitas as formas de transmissão podendo estas ocorrer através de alimentos mal higienizados, ingestão de água, por contato direto, por via percutânea ou através de vetores (Pereira et al., 2016). Já os humanos podem ser infetados através do contato direto com cães infetados ou pela exposição a ambientes contaminados com fezes de animais anteriormente infetados ou por larvas que conseguem penetrar na pele do hospedeiro suscetível (Arruda et al., 2023), sendo que a forma mais comum de infecção, é através da ingestão de formas infecciosas tais como ovos, larvas, quistos e ou oocistos (Ubirajara Filho et al., 2022).

As parasitoses mais frequentes são gastrointestinais (Nunes, 2021; Berenguer et al., 2021). Segundo Santos et al. (2020), os mais comuns e com potencial zoonótico podem ser um risco para a saúde de crianças, idosos e imunocomprometidos e pertencem ao grupo dos protozoários, os géneros *Giardia*, *Toxoplasma* e *Cryptosporidium* e ao grupo dos helmintos, os géneros *Toxocara* spp. e *Ancylostoma* spp. Apesar de alguns parasitas serem específicos para a espécie canina, isto é, ser a espécie o seu único hospedeiro, outros podem ter vários hospedeiros (Dantas-Torres & Otranto, 2014).

Berenguer et al. (2021), citando Oliveira, 2015, diz que os sinais mais frequentes de parasitoses gastrointestinais apresentados são vômito, diarreia, distensão abdominal, apatia, obstrução e anorexia. A maioria pode não apresentar qualquer sinal de doença, o que pode dificultar o diagnóstico clínico. O autor salienta a importância do diagnóstico parasitológico e que este seja feito com alguma frequência, de forma a interromper ou mesmo evitar a disseminação parasitária.

Também os ectoparasitas, carraças, piolhos e pulgas, estão associados a processos clínicos em animais de estimação e em humanos. Podem ser vetores de algumas doenças (Sevá et al., 2020).

Num trabalho realizado em Portugal, com o objetivo de avaliar o conhecimento dos proprietários de animais de estimação portugueses sobre o potencial zoonótico dos parasitas que cães e gatos podem albergar, os autores concluem que a maioria dos tutores desconhece que os seus animais lhe possam transmitir parasitas. Por isso, a medicina

veterinária tem um papel importante ao implementar medidas de profilaxia e sensibilizar os tutores de forma a reduzir a propagação de doenças parasitárias entre animais de estimação e humanos (Pereira et al., 2016).

Em Portugal foram realizados alguns estudos sobre este tema. Em 2014 em explorações de pequenos ruminantes de Cantanhede, foi feita uma avaliação da prevalência de parasitas gastrointestinais em 301 amostras fecais de cães pastores. A prevalência global foi de 58,8%, com prevalências específicas para *Ancylostomidae* de 40,9%, seguidas por espécies de *Trichuris* (29,9%), *Toxocara* (8%), *Isospora* (4%), *Capillaria* (0,7%) e *Spirometra* (0,3%). Os ovos de Taeniidae estavam presentes em cinco amostras (1,7%) que foram analisadas com a técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) e revelaram ser de *Taenia* sp. (Cardoso et al., 2014).

Também em 2014, outro estudo levado a cabo em Ponte de Lima revelou uma considerável contaminação ambiental. Os parasitas com maior prevalência encontrada foram Ancylostomatidae, seguido por *Trichuris* spp., *Toxocara* spp., *Isospora* spp., *Dipylidium caninum*, Taeniidae e *Toxascaris leonina*. Também se constatou um elevado nível de contaminação zoonótica ambiental (Mateus et al., 2014).

Félix (2015) ciente da escassez de dados sobre a situação epidemiológica procedeu ao estudo em larga escala de norte a sul de Portugal. Entre maio e setembro de 2014 recolheu 200 amostras fecais e 265 amostras de sangue em canis com elevada densidade de animais. Os resultados observados revelaram um elevado grau de parasitismo nos animais que se encontram em canis com uma prevalência global de 25%.

Em julho de 2019 a revista Veterinária Actual também refere que os parasitas mais frequentes são gastrointestinais (*Giardia* spp., *Toxocara* spp., *Trichuris* spp., *Dipylidium caninum*), parasitas cardiopulmonares (*Angyostrongylus vasorum*, *Aelurostrongylus abstrusus*, *Dirofilaria immitis*), ectoparasitas e espécies transmissíveis por vetores como *Leishmania infantum*. Os médicos veterinários que contribuíram para este artigo falam do conhecido impacto da globalização e da deslocação dos animais entre países, e estão seguros de que as prevalências dos parasitas tenderão a aumentar muito devido às alterações climáticas (Pinto, 2019).

Em 2021 a mesma revista publica um artigo “Parasitas zoonóticos em cães e gatos em Portugal” e descreve que em Portugal são reportadas infeções parasitárias por helmintes (*Ancylostoma* spp., *Dipylidium caninum* e *Toxocara* spp.) e protozoários intestinais (*G.*

duodenalis e *T. gondii*), parasitas transmitidos pela mosca da fruta (*Thelazia callipaeda*), nematocera transmitidos por insetos (*Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens*, *Leishmania infantum*, *Onchocerca lupi*) e agentes transmitidos por carraças (e.g. *Rickettsia conorii*) de preocupação zoonótica em cães e gatos domésticos e vadios. Também a nível nacional têm sido reportados casos de criptosporidiose, giardíase, leishmaniose, febre escararodular (i.e., febre da carraça), toxocarose e toxoplasmose (Mata, 2021).

Num trabalho de tese de mestrado em Medicina Veterinária para a Universidade de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária, tendo como principal objetivo a pesquisa e estudo da prevalência do parasitismo gastrointestinal e respiratório em cães de trabalho, de companhia e de alojamentos sem fins lucrativos no distrito de Portalegre, nomeadamente nos concelhos de Alter do Chão, Arronches, Castelo de Vide, Crato, Marvão e Portalegre, a autora conclui que a prevalência global de parasitismo gastrointestinal foi de 14,0%, sendo a espécie de parasita mais prevalente a pertencente à família *Ancylostomatidae* (10,8%) (Carvalho, 2021).

2.1 Ectoparasitas

Os Artrópodes, sendo o grupo taxonómico mais vasto (Arthropoda, do grego *arthro* = articulado + *podos* = pés), apresentam uma distribuição por quase todo o globo e ocupam todos os habitats. Apresentam-se como organismos invertebrados com exosqueleto rígido e apêndices articulados, como patas e antenas em diferentes números de acordo com o subfiló a que pertencem (Santos et al., 2018).

Ectoparasitas podem ser encontrados em muitas espécies animais, na pele ou nas suas camadas superficiais (Silva et al., 2017). Os que encontramos nos cães são as larvas de mosca, ácaros, piolhos, pulgas e carraças (Dantas-Torres & Otranto, 2014).

Alguns artrópodes podem atuar como vetores de doenças para cães e humanos. Neste grupo podem ser incluídos os artrópodes hematófagos capazes de voar, como os mosquitos, moscas de várias espécies, mosquitos picadores, pulgas e percevejos. Alguns insetos voadores que se alimentam de outras fontes além do sangue, também podem atuar como vetores, como é o caso da mosca da fruta *Phortica variegata*. Os artrópodes não voadores, como carraças, piolhos e espécies de ácaros, também podem transmitir doenças de importância médico-veterinária (Dantas-Torres & Otranto, 2016).

Os ectoparasitas podem inocular nos animais microrganismos capazes de provocar doença, incluindo vírus, bactérias, protozoários e helmintos (Dantas-Torres & Otranto, 2016).

Quanto aos principais sintomas que estes parasitas podem provocar, podem ser enumerados alguns: irritação, perda de sangue, prurido e lesões cutâneas que podem evoluir para infecções bacterianas secundárias (Dantas-Torres & Otranto, 2014).

2.1.1 Pulgas

Características

As pulgas, nome vulgar, pertencem à família Pulicidae, da ordem Siphonaptera, do género *Ctenocephalides*, podem ser encontradas nos nossos animais de estimação (cães e gatos). São importantes ectoparasitas e consoante a espécie animal que parasitam são denominadas de *Ctenocephalides felis* e *Ctenocephalides canis* (Barros, 2022).

As pulgas apresentam características próprias, para facilitar o caminho sob os pelos dos animais; são achatadas lateralmente, têm o corpo revestido de quitina, as cerdas são grossas, curtas e voltadas para trás, não possuem asas e são hematófagas (Barros, 2022).

Ciclo de vida

As temperaturas influenciam a duração do ciclo de vida da pulga. Com temperaturas normais (21-27 °C) o seu ciclo de vida pode durar 3 a 6 semanas. As pulgas desenvolvem-se em 4 fases: ovo, larva, pupa e adulto (Figura 1). Após a cópula, a fêmea deposita os ovos no hospedeiro ou no meio ambiente juntamente com as fezes; após 2 dias, as larvas eclodem e alimentam-se das fezes. As larvas produzem uma substância para formar um casulo denominado pupa e que serve para proteção. Dentro da pupa as larvas evoluem para fêmeas ou machos e quando as condições ambientais se apresentarem favoráveis os adultos eclodem (Barros, 2022).

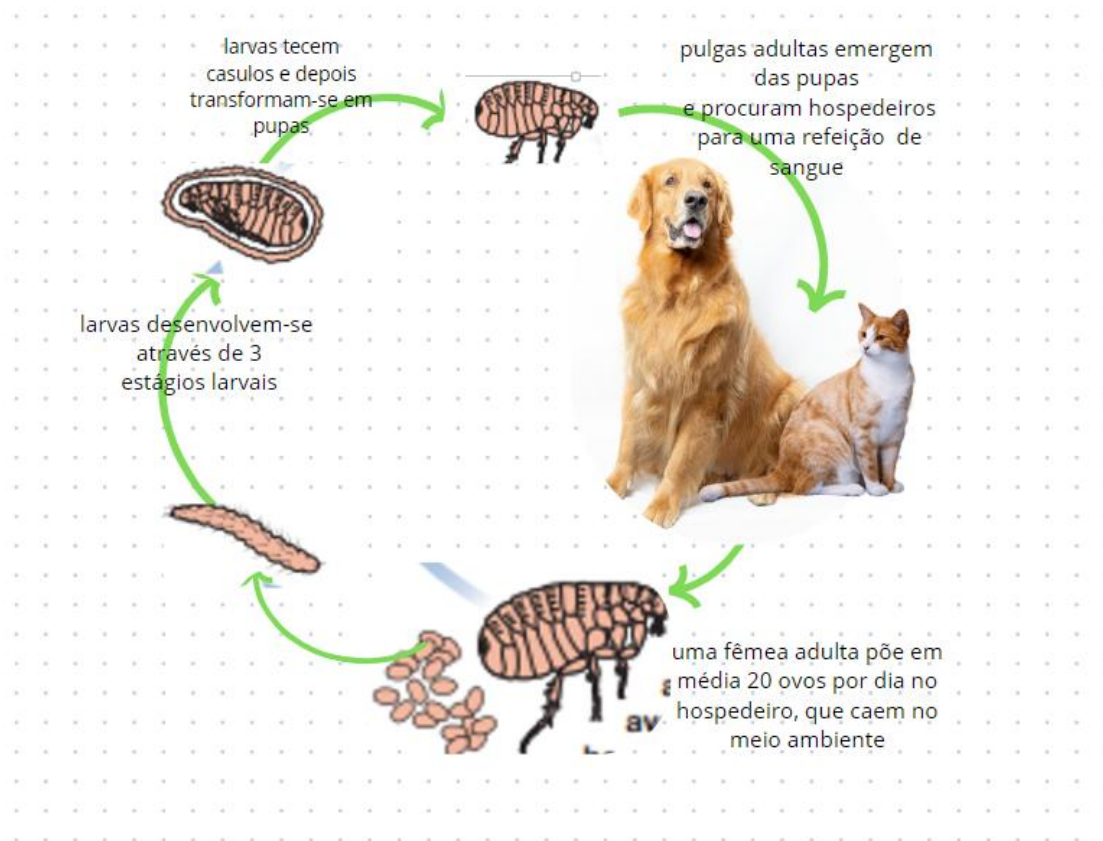


FIGURA 1: CICLO DE VIDA DA PULGA (ADAPTADO DE ESCCAP, 2021)

Quando as condições ambientais não são as ideais para se desenvolver, a pupa pode permanecer nesta fase durante 174 dias. Como o estado larval é responsável pelo prolongamento do ciclo de vida do parasita, também é o mais difícil de eliminar por apresentar resistência aos inseticidas comuns (Bitam et al., 2010).

Ctenocephalides canis é comum em toda a Europa. Esta espécie está identificada como sendo a espécie que parasita cães (ESCCAP, 2024). É responsável pela transmissão de vírus, como por exemplo o *Myxoma*, bactérias como a *Rickettsia typhi*, *Rickettsia felis*, *Yersinia pestis*, *Bartonella henselae* e helmintos como *Dipylidium caninum* (Bitam et al., 2010).

Sinais clínicos

Os sinais clínicos são variáveis e dependem de vários fatores como frequência de exposição, duração da infestação, presença de infecções secundárias e grau de hipersensibilidade. Animais não alérgicos podem apresentar poucos sinais clínicos sendo

então portadores assintomáticos (Barros, 2022). Os outros podem apresentar prurido, alopecia, pelos partidos, pápulas e máculas eritematosas com crostas e seborreia (ESCCAP, 2024). Outros podem também apresentar anemia e teníase (Barros, 2022). Em hospedeiros sensíveis a saliva irritativa que as pulgas segregam pode causar dermatite alérgica à picada da pulga (DAPP) (Barros, 2022).

A DAPP é uma doença de pele comum dos cães que se apresenta como uma dermatite pruriginosa pápulo-crostosa. Os cães afetados apresentam lesões cutâneas que tendem a ser mais prevalentes sobre o dorso e a área lombossacral dorsal, associadas a prurido moderado a intenso. A reação acontece quando as pulgas, ao alimentarem-se do sangue no hospedeiro inoculam saliva na derme do animal que ao conter polipéptidos estranhos ao organismo, faz com que ocorra uma reação de hipersensibilidade (Greek & Kuhl, 2015; Humbert et al., 2005).

2.1.2 Carraças

Caraterísticas

As carraças são ectoparasitas do Reino Animalia Filo Arthropoda, Classe Arachnida, Subclasse Acarina, Superordem Parasitiformes, Ordem Acari, Subordem Ixodida, com duas principais Famílias, *Ixodidae* e *Argasidae*. A família *Ixodidae* possui vários géneros de interesse clínico, tais como as espécies *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Ixodes*, *Haemaphysalis* e *Rhipicephalus* (Araújo et al., 2022).

A espécie *Ixodes ricinus* está presente em toda a Europa com exceção do norte da Escandinávia e pode ser encontrada em todo o corpo do hospedeiro mas tem preferência pelos locais sem pelo e onde a pele é mais fina, nomeadamente a face, orelhas, axilas, entre os dígitos, e nas regiões inguinais e perineais. (ESCCAP, 2024).

Rhipicephalus sanguineus é a mais importante enquanto espécie capaz de infestar cães em meio urbano (Araújo et al., 2022). Existe em quase todas as partes do mundo (Silva & Braga, 2010), no entanto tem preferência por climas mais quentes como os do norte da Europa (ESCCAP, 2024), e é de extrema importância para a classe médico veterinária. É vulgarmente chamada de carraça vermelha (Silva & Braga, 2010), no entanto pode apresentar a tonalidade amarela, avermelhada ou castanha escura (ESCCAP, 2024). No norte da Europa enfrenta a dificuldade de sobreviver no exterior, no entanto dentro de

espaços, tais como casas e canis, a carraça consegue terminar o seu ciclo de vida. São encontradas nas orelhas e entre os dedos em cães, no entanto as formas mais jovens da espécie podem ser também encontradas nos pelos da zona cervical (ESCCAP, 2024).

Ciclo de vida

A espécie *Rhipicephalus sanguineus* necessita de três hospedeiros para realizar o seu ciclo de vida (Figura 2) sendo por isso um ciclo do tipo trioxeno. Este ciclo tem as seguintes fases: ovo, larva, ninfa e adultos machos e fêmeas (Araújo et al., 2022).

Os ovos eclodem e a larvas sobem ao primeiro hospedeiro, neste alimentam-se até se ingurgitarem, o que acontece entre dois a sete dias. Após este período, a larva desce do hospedeiro e no ambiente transforma-se em ninfa que vai necessitar de um segundo hospedeiro para se alimentar de novo, o que dura entre cinco a dez dias; desce novamente e já no solo sofre dimorfismo sexual. Mais uma vez procura um terceiro hospedeiro para se alimentar de sangue e ingurgitar-se novamente (seis a trinta dias); a fêmea regressa novamente ao solo para depositar os ovos o que dura entre vinte e sessenta dias (Dantas-Torres & Otranto, 2014; Araújo et al., 2022).

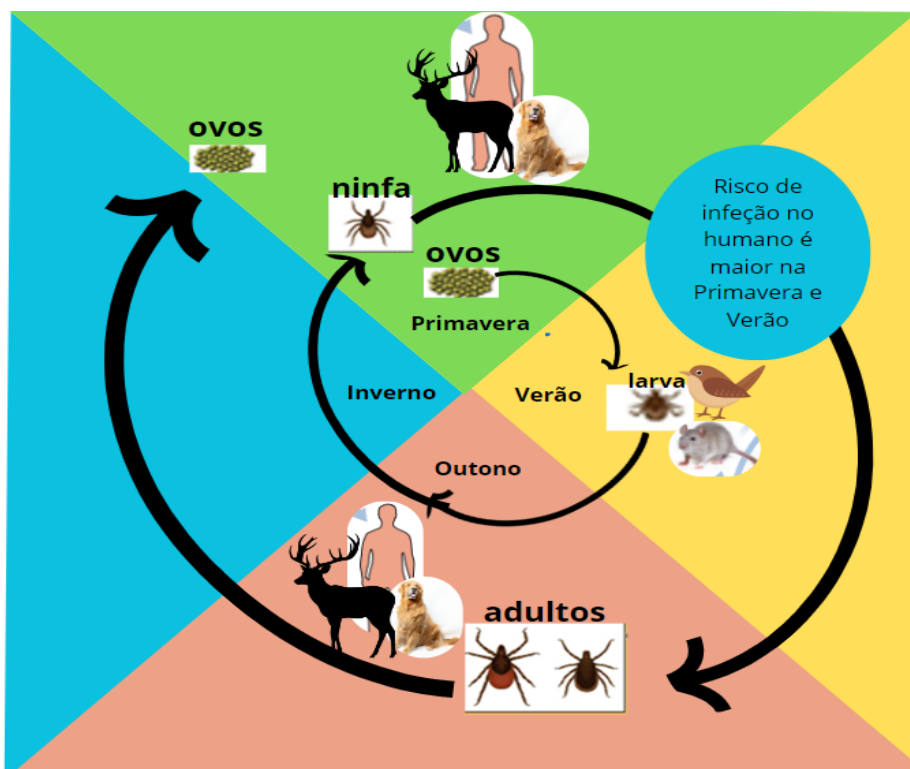


FIGURA 2: CICLO DE VIDA DE *RHIPICEPHALUS SANGUINEUS* (ADAPTADO DANTAS-TORRES, 2010)

Os ciclos trifásicos ou trixenos são os mais frequentes na natureza. Todas as mudas acontecem no solo e, em 3 fases distintas, o parasita busca um hospedeiro, que pode ser de espécie diferente, para se alimentar. Nos ciclos difásicos ou dixenos, a larva realiza a muda no mesmo hospedeiro onde se fixa a ninfa, que emerge toma posição e fixa-se nesse mesmo hospedeiro. Neste ciclo, a procura por um hospedeiro acontece por duas vezes, na fase larvar e nos adultos, envolvendo dois hospedeiros, que podem ou não ser da mesma espécie. Por último, no ciclo monofásico ou monóxeno todo o ciclo da vida da carrapa, desde larva até a fase adulta em que se desprende como macho ou fêmea alimentada e fecundada, acontece sobre o mesmo hospedeiro. Este ciclo é o menos frequente e apenas descrito para as espécies do género *Rhipicephalus* do subgénero *Boophilus* (Veloso, 2013).

Sinais clínicos

Os principais sintomas causados pela carrapa são desconforto e perdas de sangue. As carrapas são o principal vetor de transmissão de doenças como a Babesiose, Rickettsiose, entre outras (Silva & Braga, 2010). No entanto, as grandes infestações podem levar a anemia (ESCCAP, 2024).

2.2 Ácaros e fungos

Os ácaros tem uma distribuição mundial e podem ser encontrados em vários hospedeiros onde se inclui o Homem. Pertencem ao filo *Arthropoda*, classe *Arachnida*, e subclasse *Acari*. São menores que as carrapas e não possuem cobertura dura. Algumas espécies apresentam espiráculos no cefalotórax. Existem mais de 30 mil espécies descritas, 3 delas afetam os cães, *Sarcoptes scabiei*, *Otodectes cynotis* e *Demodex canis* (Thomson et al., 2023).

2.2.1 *Demodex canis*

Características

Os ácaros do cão e do gato são específicos da espécie hospedeira. Entre os mais conhecidos destacam-se o *Demodex canis* específico do cão e o *Demodex cati*, como o

nome indica específico do gato (ESCCAP, 2024). Podem ser encontrados em toda a Europa.

A demodicose canina é uma doença dermatológica ocasionada pela ação de *Demodex canis* (Lusa & Amaral, 2010; Spegorin & Durlo, 2019; Nunes, 2021). Este ácaro pertencente ao Filo *Arthropoda*, Classe *Arachnida*, Subclasse *Acari*, Ordem *Trombidiformes*, Subordem *Prostigmata* (=Actinedida) e Família *Demodicidae* (Lusa & Amaral, 2010).

Esta espécie é microscópica mede 100-400µm de comprimento, o corpo é alongado e tem quatro pares de patas curtas (Nunes, 2021), são geralmente encontrados no folículo piloso e nas glândulas sebáceas (Lusa & Amaral, 2010; Nunes, 2021). É um ácaro escavador (Lusa & Amaral, 2010).

Ciclo de vida

O ciclo de vida (Figura 3) acontece na pele do hospedeiro e dura cerca 35 dias, sendo formado por cinco fases evolutivas ovo, larva, ninfa, protoninfa e adulto (Lusa & Amaral, 2010).

O ciclo de vida do *Demodex* inclui ácaro adulto, ovo, larva e dois estágios de ninfa e acontece nos folículos pilosos. A mãe infeta o cachorro durante os primeiros dias de vida. A infestação é precedida pela multiplicação dos ácaros na pele da mãe (Saari et al., 2018).



FIGURA 3: CICLO DE VIDA DE *DEMODEX* SPP. (ADAPTADO DE ESCCAP, 2021)

Sinais clínicos e diagnóstico

O agente é um parasita que vive em comunhão na pele do animal e só se desenvolve quando o sistema imune fica comprometido. Trata-se, por isso, de um parasita oportunista e não deve ser tratada de forma isolada no animal (Spegiolin & Durlo, 2019). O sistema imune débil facilita a proliferação do ácaro e leva a lesões nos tecidos. Lusa & Amaral (2010) consideram que os fatores que podem predispor para a demodicose são a idade, o *stress*, outras parasitoses e doenças debilitantes. *Demodex canis* pode afetar cães de qualquer idade, no entanto os jovens são os mais suscetíveis. A sua presença pode levar a furunculose e infecção bacteriana secundária (Rodrigues et al., 2012), pelo que o diagnóstico, o tratamento e o acompanhamento são fundamentais (Spegiolin & Durlo, 2019).

A demodicose canina é uma das dermatopatias mais comumente encontradas em clínica (Rodrigues et al., 2012). Conforme a dimensão, a patologia pode apresentar-se de duas formas: Demodicose localizada (DL) e a Demodicose Generalizada (DG) (Lusa & Amaral, 2010; Rodrigues et al., 2012; Nunes, 2021) e pode ser denominada de juvenil ou adulta (Lusa & Amaral, 2010).

A DL caracteriza-se pela existência de até quatro lesões com aproximadamente 2,5 cm de diâmetro (Nunes, 2021), que podem ser descritas como manchas eritematosas, com alopecia, localizadas geralmente na cabeça, pescoço e/ou membros torácicos (Rodrigues et al., 2012; Nunes, 2021). A sintomatologia passa por ligeiro prurido e uma leve descamação que desaparecem de forma espontânea (Rodrigues et al., 2012). A DG é a apresentação mais grave da doença manifestando-se com uma dermatite crónica com liquenificação, descamação, formação de crostas, hiperpigmentação, piodermatite severa e alopecia (Rodrigues et al., 2012). Estes sinais clínicos apresentam-se em diversas regiões do corpo do animal (Rodrigues et al., 2012; Nunes, 2021) e com alguma frequência podem aparecer infeções bacterianas secundárias (Rodrigues et al., 2012).

O diagnóstico é feito com recurso à raspagem de pele, cultura, antibiograma e biópsia. Para o tratamento são utilizados produtos como amitraz e as alternativas, ivermectinas e milbemicinas (Lusa & Amaral, 2010). Mais recentemente, demonstrou-se que formulações de fluralaner fornecem eficácia superior em comparação com imidacloprida-moxidectina para o tratamento da demodicose generalizada canina (Rohdich et al., 2022).

2.2.2 *Sarcoptes scabiei*

Características

Sarcoptes scabiei pertence ao filo Arthropoda, subfilo Amandibulata, classe Arachnida, subclasse Acari Ordem Astigmata. *Sarcoptes scabiei canis* é um ácaro escavador da ordem Sarcoptiformes, família Sarcoptidae (Little & Cortinas, 2023).

O ácaro *S. scabiei var canis* é o agente etiológico da sarna sarcótica (Taenzler et al., 2016; Thomson et al., 2023), uma dermatose parasitária altamente contagiosa, que provoca grande prurido e afeta humanos e animais domésticos, tais como cães, gatos, coelhos, equinos, pequenos e grandes ruminantes (Little & Cortinas, 2023). A sarna sarcótica tornou-se numa das ectoparasitoses mais importantes nos últimos anos, uma vez que existem relatos de infestações em pelo menos 12 ordens, 39 famílias e 148 espécies de mamíferos domésticos e selvagens (Thomson et al., 2023).

Infestações por *S. scabiei* são não sazonais, e podem afetar cães com qualquer idade, raça ou sexo. O correm por contato direto com um cão infestado, por contacto com objetos infetados (Taenzler et al., 2016), por exemplo, máquinas de tosquia ou camas ou contacto com fomites (Little & Cortinas, 2023). O mesmo autor assume que os casos em cães mais jovens são mais vezes relatados. Larvas, ninfas e adultos imaturos representam os estágios de contágio (Thomson et al., 2023).

Ciclo de vida

O ciclo de vida do *S. scabiei canis* (Figura 4) ocorre na totalidade no mesmo hospedeiro. Este ciclo de vida completa-se geralmente leva em 17 a 21 dias (Little & Cortinas, 2023; Thomson et al., 2023), mas foram descritos ciclos mais curtos de apenas 10 dias (Little & Cortinas, 2023). O ciclo de vida, desde o ovo, larva, ninfa a adulto ocorre no estrato córneo da pele do hospedeiro (Ferrari et al., 2008).

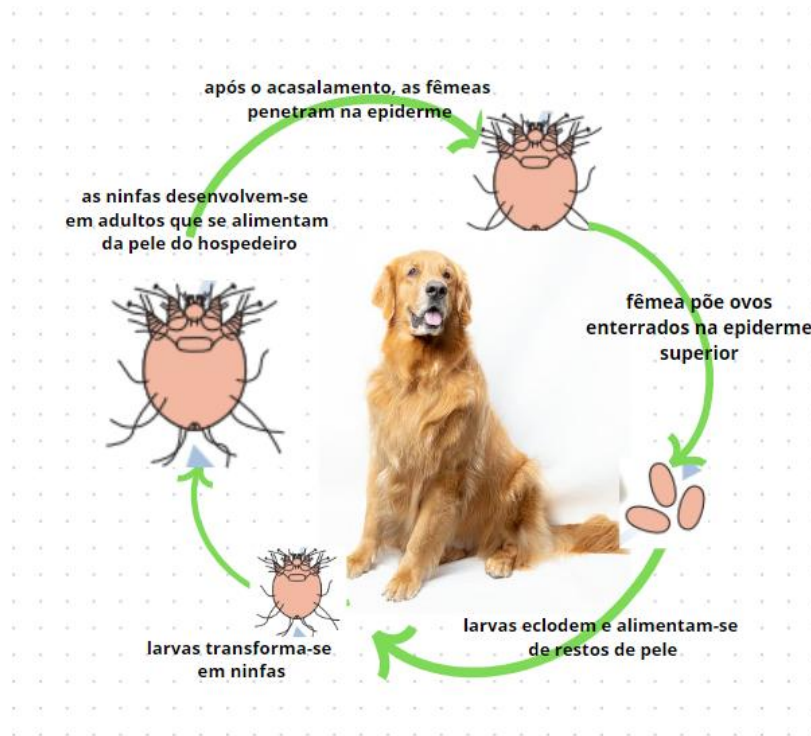


FIGURA 4: CICLO DE VIDA *SARCOPTES SCABIEI* (ADAPTADO DE ESCCAP, 2021)

A infestação é disseminada principalmente pelas larvas e ninfas que vivem na superfície do hospedeiro. Os ácaros alimentam-se de células epiteliais células e linfa. (Hofing & Kraus, 1994). Fora do hospedeiro, o ácaro pode sobreviver algumas semanas, dependendo das condições atmosféricas, sendo que o frio e humidade são fatores que favorecem a sua sobrevivência (Hofing & Kraus, 1994; Thomson et al., 2023).

Sinais clínicos e diagnóstico

O parasita penetra profundamente na epiderme, causando prurido intenso e inflamação (Taenzler et al., 2016; Little & Cortinas, 2023; Thomson et al., 2023). Outros sinais clínicos como alopecia e crostas ou escamas foram relatadas em praticamente todos os casos (Little & Cortinas, 2023). Animais com dermatite causada por *S. scabiei* apresentam por norma uma produção exagerada de gordura, o que confere ao animal um aspeto e odor a “ranço” (Ferrari et al., 2008). O mais comum é o parasita afetar a zona da cabeça, principalmente a área das orelhas, os cotovelos e os tarsos, no entanto as lesões podem surgir em outras zonas do corpo do hospedeiro (Thomson et al., 2023; Taenzler et al., 2016).

O diagnóstico da sarna sarcóptica inicia-se com a história clínica de prurido intenso (Ferrari et al., 2008; Thomson et al., 2023) e não sazonal, em zonas características tais como a borda da orelha, cotovelos e entre o joelho e a pata (Thomson et al., 2023). No entanto o diagnóstico definitivo de *S. scabiei* é o exame parasitológico por raspagem da pele e visualização microscópica. A visualização de ácaros, ovos ou suas fezes confirma o diagnóstico (Taenzler et al., 2016; Little & Cortinas, 2023; Thomson et al., 2023).

2.3 Endoparasitas

Os cães podem ser afetados por vários endoparasitas, tais como protozoários, cestodes, trematodos e nematodes. Por exemplo, endoparasitas como *Dipylidium caninum*, *Echinococcus granulosus*, *Ancylostoma caninum*, *Strongyloides stercoralis*, *Toxocara canis*, *Trichuris vulpis* e *Dirofilaria immitis* são comumente encontrados em cães (Dantas-Torres & Otranto, 2014). Destes parasitas alguns são potenciais transmissíveis ao homem, tais como *Ancylostoma* spp., *Toxocara* spp., *S.stercoralis*, *D.caninum*, *T.gondii*, *G.duodenalis* e *Cryptosporidium* spp (Berenguer et al., 2021; Dantas-Torres & Otranto, 2014; Nunes, 2021). A maioria dos PGI (parasitas gastrointestinais) tem potencial zoonótico e a contaminação ambiental traduz-se num risco, não somente para a saúde animal como também para a saúde humana (Berenguer et al., 2021).

2.3.1 Nematodos intestinais

2.3.1.1 *Toxocara canis*

Caraterísticas

Toxocara spp são nematodes que infetam cães e gatos tanto domésticos como os selvagens. A infeção ocorre através da ingestão de ovos com larvas.

Ataca principalmente cachorros provocando diarreias infecciosas. Apresenta potencial zoonótico e tem uma distribuição mundial (Troccap, 2019). O ser humano é um hospedeiro intermédio, porque o parasita não completa neste o seu ciclo de vida. *Toxacara canis* tem um tamanho médio, possui boca trilabiada e uma asa em posição

cervical alongada e estreita; o local de preferência de instalação é o intestino delgado do cão (Martins, 2020).

Ciclo de vida

Toxocara spp. pode apresentar um ciclo de vida direto (Figura 5) com apenas um hospedeiro ou indireto, tendo vários hospedeiros. As fêmeas fazem a postura dos ovos que são libertados nas fezes do hospedeiro. Dentro do ovo o parasita desenvolve-se até L3. O hospedeiro definitivo fica infectado quando alguma das seguintes situações acontece:

- Via oral: pela ingestão do ovo com a forma infetante, que é libertada no tubo digestivo e penetra na mucosa do intestino delgado;
- Via transplacentária: acontece quando nas fêmeas gestantes as larvas atingem o sangue arterial e contaminam o feto pela circulação fetal. É a via de contaminação mais relevante na espécie canina;
- Via transmamária: as larvas passam para os cachorros através da amamentação;
- Via hospedeiros parentéricos: a contaminação acontece quando o cão ou gato ingere um hospedeiro parentérico, por ex.: roedores ou aves (Martins, 2020).

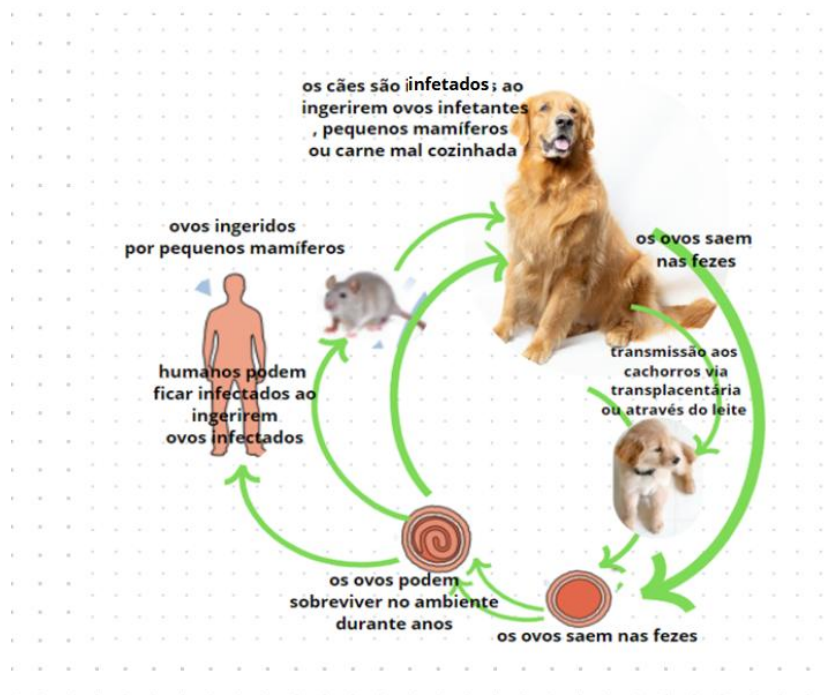


FIGURA 5: CICLO DE VIDA *TOXOCARA CANIS* (ADAPTADO DE ESCCAP, 2021)

Sinais clínicos e diagnóstico

Em cachorros recém-nascidos, até aos primeiros 10 dias as grandes infestações, que acontecem por via transplacentária, podem levar a pneumonia, morte por enterite aguda e obstrução gastrointestinal. Os cachorros apresentam baixa taxa de crescimento, desconforto abdominal, anorexia, diarreia e vômito (Troccap, 2019; Dantas-Torres, 2020).

O diagnóstico é feito pela detecção de ovos no exame de flutuação fecal. A ausência de ovos na pesquisa não exclui a possibilidade do animal estar infetado uma vez que os parasitas apesar de imaturos, ainda podem causar doença em cachorros (Troccap, 2019).

2.3.1.2 *Ancylostoma caninum*

Características

Os ancilóstomas são nematodes que parasitam cães e gatos domésticos e silvestres e também primatas, por isso têm caráter zoonótico (Troccap, 2019). *Ancylostoma caninum* é um parasita que possui três pares de dentes em garras (Martins, 2020) e tem preferência pelo intestino delgado de carnívoros (Troccap, 2019; Martins, 2020). Apresenta distribuição mundial (Troccap, 2019).

Ciclo de vida

Os cães são infetados por larvas embainhadas de terceiro estágio, que pode acontecer por 3 vias: percutânea, oral ou transmamária (Figura 6) (Troccap, 2019; Martins, 2020). O ciclo de vida até ao estágio L3 dura aproximadamente 5 dias em condições ideais (Martins, 2020).

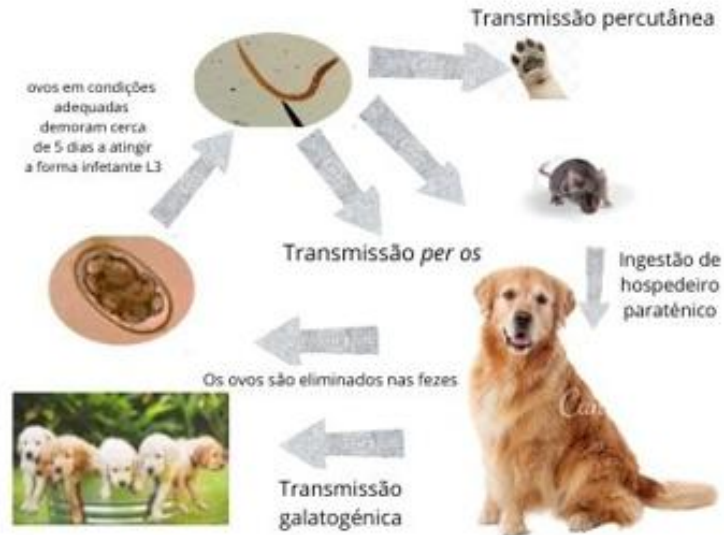


FIGURA 6: CICLO DE VIDA *ANCYLOSTOMA CANINUM* (ADAPTADO DE CARVALHO, 2021)

Sinais clínicos e diagnóstico

A. *Caninum* alimenta-se de sangue, causando anemia no hospedeiro definitivo que apresenta por isso fezes diarreicas e com uma coloração mais escura (Martins, 2020), e hipoproteinemia que pode levar à morte. Em cães mais velhos, pode ocorrer anemia não regenerativa por deficiência de ferro (Troccap, 2019).

O diagnóstico é feito pelo método de flutuação em solução salina saturada, açúcar ou nitrato de sódio para pesquisa de ovos tipo Strongyloidea em flutuação (Troccap, 2019).

2.3.2 Nemátodos não intestinais

2.3.2.1 Dirofilária

Características

Dirofilaria immitis é um nematode filarial (Troccap, 2019; Noack et al., 2021), pertencente à família Filarioidea (Noack et al., 2021). É um parasita que pode atingir

aproximadamente os 30 cm nas fêmeas, com extremidade anterior simples. Os machos apresentam extremidade posterior espiralada, espículas desiguais e anguladas e papilas pré e pós-cloacais e medem cerca de 18 cm (Martins, 2020; Noack et al., 2021). O parasita aloja-se na artéria pulmonar e no ventrículo direito de canídeos, felinos e furões e o hospedeiro intermédio é um culicídeo (Martins, 2020). Em regiões tropicais e subtropicais são uma das principais causas de insuficiência cardíaca congestiva direita, doença pulmonar e morte de cães. Tem potencial zoonótico, no entanto só ocasionalmente causa doença no Homem (Troccap, 2019). O homem é um hospedeiro aberrante de *Dirofilaria*, uma vez que o parasita normalmente morre antes de atingir a maturidade sexual (Bublitz et al., 2012).

É vulgarmente conhecido como parasita do coração e tem distribuição mundial, no entanto em climas frios pode ser pouco frequente. Em regiões com clima tropical ou subtropical a doença provocada por este parasita está fortemente instalada (Troccap, 2019).

Ciclo de vida

Tal como a maior parte das filárias, *D. immitis* completa todo o seu ciclo de vida no interior dos hospedeiros (mamífero, e mosquito vetor), não apresentando estágios de vida livre. Apresenta, no entanto, um ciclo de vida complexo com vários estágios de desenvolvimento (Figura 7). Os parasitas adultos chamados de macrofilárias, vivem como endoparasitas obrigatórios nas artérias lobares e pulmonar principal dos hospedeiros definitivos. As fêmeas medem cerca de 30 cm e os machos mais pequenos cerca de 18 cm. As fêmeas são ovovíparas (Noack et al., 2021) e fazem a postura de microfilárias (L1) para a circulação. Algumas espécies de mosquitos, ao se alimentarem de sangue do hospedeiro, ingerem acidentalmente larvas (L1). Uma vez no estômago do mosquito a larva penetra na mucosa estomacal e vai aos túbulos de Malpighi (Noack et al., 2021; Martins, 2020); aqui faz a muda para L2 e L3 que vai migrar até no aparelho bucal. Quando o mosquito volta a alimentar-se, a L3 é inoculada no hospedeiro definitivo, dando continuidade ao ciclo (Martins, 2020).

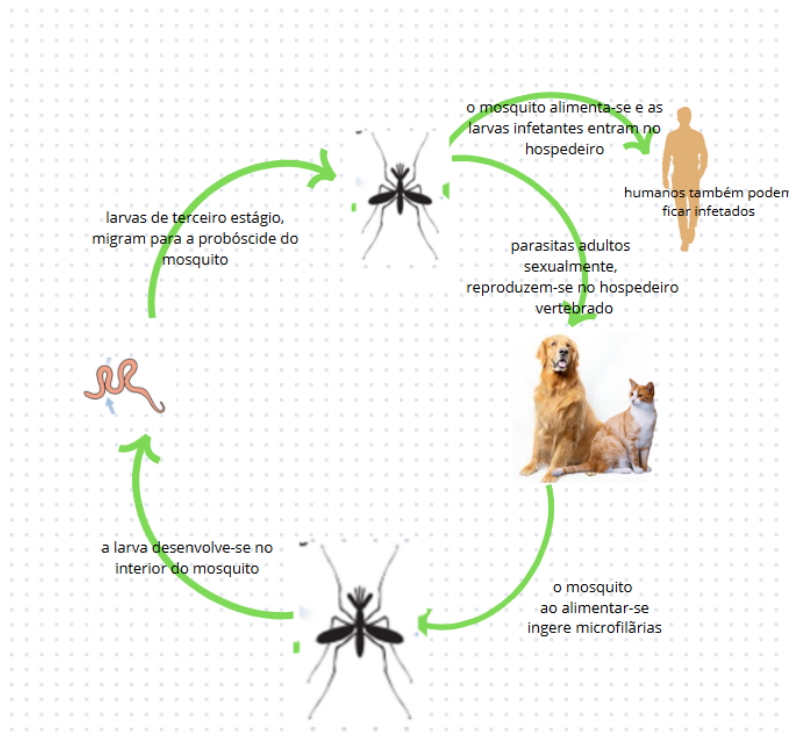


FIGURA 7: CICLO DE VIDA *DIROFILARIA IMMITIS* (ADAPTADO DE ESCCAP, 2021)

Sinais clínicos e diagnóstico

Os sinais clínicos da doença só surgem após doença crónica e progressiva. Num estado inicial da doença os animais normalmente não apresentam sintomas. Estes podem surgir após alguns meses ou mesmo anos (Troccap, 2019). Os sintomas incluem tosse, intolerância ao exercício, perda de peso e letargia (Noack et al., 2021; Troccap, 2019). Com a evolução da doença podem ocorrer dispneia, taquipneia, hemoptise, taquicardia, murmúrio cardíaco, síncope, hepatomegalia, ascite e insuficiência renal (Troccap, 2019). O diagnóstico é feito com base na anamnese, em sintomas como a tosse e as alterações observadas durante o exame físico. Uma suspeita de dirofilariose pode ser confirmada por um teste rápido para deteção de antígenos ou por um teste para deteção de microfilárias por gota a fresco ou teste de Knott modificado (Troccap, 2019).

2.3.2.2 *Thelazia calippaeda*

Características

Thelazia calippaeda é um nematodo filiforme esbranquiçado. Também conhecido como parasita oriental do olho, é um parasita ocular que afeta animais domésticos, animais selvagens e seres humanos (Vale et al., 2019). Esta doença é considerada uma doença emergente em toda a Europa (Maia et al., 2016). O mesmo autor conclui que o parasita é endêmico no centro e leste de Portugal e começa a disseminar-se em direção ao sul. Afeta não só animais domésticos, mas também os carnívoros selvagens.

Os parasitas na fase adulta podem ser vistos nas pálpebras, na conjuntiva e na membrana nictitante, nos ductos nasolacrimais, nos sacos conjuntivais ou nos ductos excretores das glândulas lacrimais (Vale et al., 2019). Este parasita é transmitido aos cães por algumas moscas (*Phortica variegata*, *Phortica okadai*) que se alimentam de secreções lacrimais destes (Troccap, 2019).

Ciclo de vida

O primeiro estágio do parasita, a larva L1, é produzida por parasitas fêmeas que habitam nos olhos do hospedeiro definitivo e são libertadas nas secreções lacrimais após acasalamento. A transmissão acontece quando estas são ingeridas pela mosca quando se alimenta de secreções lacrimais. No hospedeiro intermediário estas larvas passam por dois estágios e atingem o terceiro estágio L3 que é a forma infetante. As L3 migram até ao aparelho bucal das moscas e esperam que estas se voltem a alimentar para serem libertadas. Uma vez na órbita a L3 desenvolve-se até ao estágio adulto em 35 dias (Figura 8) (Vale et al., 2019).

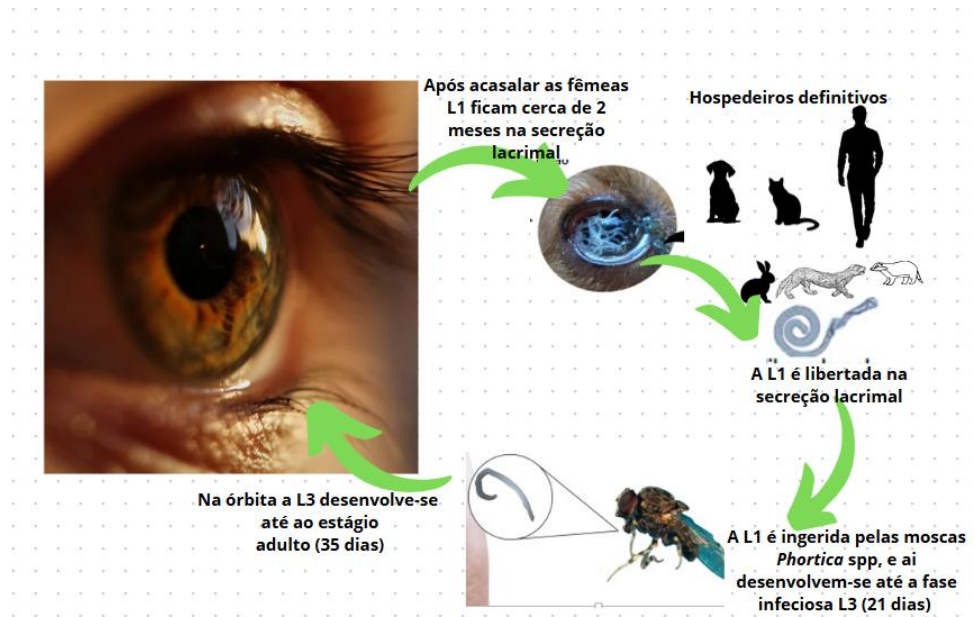


FIGURA 8: CICLO DE VIDA *THELAZIA CALIPPAEDA* (ADAPTADO DE KAZLOV, 1962)

Sinais clínicos e diagnóstico

Os cães são maioritariamente assintomáticos, no entanto sinais clínicos tais como conjuntivite leve, blefarite, epífora, prurido periocular podem ser frequentes. Com menos frequência, pode surgir edema de córnea e queratite (Troccap, 2019; Vale et al., 2019). Em casos mais graves, e que não são tratados, pode ocorrer cegueira (Troccap, 2019). Segundo Vale et al. (2019) e conforme os casos relatados, a gravidade dos sinais clínicos não parece estar correlacionada com a carga parasitária.

O diagnóstico é feito com recurso ao exame ocular com observação de parasitas adultos nos hospedeiros definitivos; as larvas L1 também podem ser visíveis nas secreções lacrimais (Troccap, 2019). O sinal patognomónico da telaziose é a presença de um nematodo esbranquiçado na conjuntiva e nos sacos conjuntivais (Vale et al., 2019).

2.3.3 Cestodes

2.3.3.1 *Dipylidium caninum*

Características

D. caninum possui aparelho genital duplo e proglotes com lateral dilatada, pelo que se assemelha a um barril ou grão de arroz (Martins, 2020). Apresenta uma distribuição mundial (Rousseau et al., 2022, Troccap, 2019), como uma consequência da distribuição

global dos seus hospedeiros intermediários (pulgas e piolhos)(Rousseau et al., 2022). Esta ténia é universal e comum entre os animais domésticos. Apesar de rara a infeção humana, foi relatada em todos os continentes. Este parasita na sua forma adulta habita no intestino delgado de cães, gatos e podem acontecer infeções em humanos (Rodrigues et al., 2016; Martins, 2020). É uma doença com potencial zoonótico, embora a maioria dos casos sejam relatados em crianças. É o parasita mais comum em animais de companhia, nos humanos é considerada rara (Rousseau et al., 2022).

A dipilidiose é a doença parasitária causada pelo cestode *Dipylidium caninum* (Rodrigues et al., 2016; Rousseau et al., 2022). As larvas encontram-se nos hospedeiros intermediários (Rodrigues et al., 2016)(pulgas, e em menor grau nos piolhos) (Rousseau et al., 2022). A infeção acontece quando o hospedeiro definitivo ingere um piolho ou uma pulga infetado com larvas (Rodrigues et al., 2016; Rousseau et al., 2022).

Ciclo de vida

A transmissão é um pouco diferente, uma vez que inclui um hospedeiro invertebrado intermediário, que pode ser a pulga ou o piolho, que após a infestação precisa ser ingerido pelos hospedeiros definitivos cães e gatos, e acidentalmente o homem, para que a infeção se desenvolva (Rousseau et al., 2022).

O ciclo de vida (Figura 9) inicia-se quando o hospedeiro definitivo (carnívoros) ao se lamber ingere acidentalmente um hospedeiro intermediário (pulga e piolho). Uma vez no intestino delgado, este hospedeiro é digerido e é libertada a forma larvar cisticercoide. O escólex evagina e desenvolve-se, e mais tarde as proglotes grávidas saem nas fezes. Os hospedeiros intermediários são infetados quando ingerem as cápsulas com os ovos, os ovos ou as próprias proglotes (Martins, 2020).

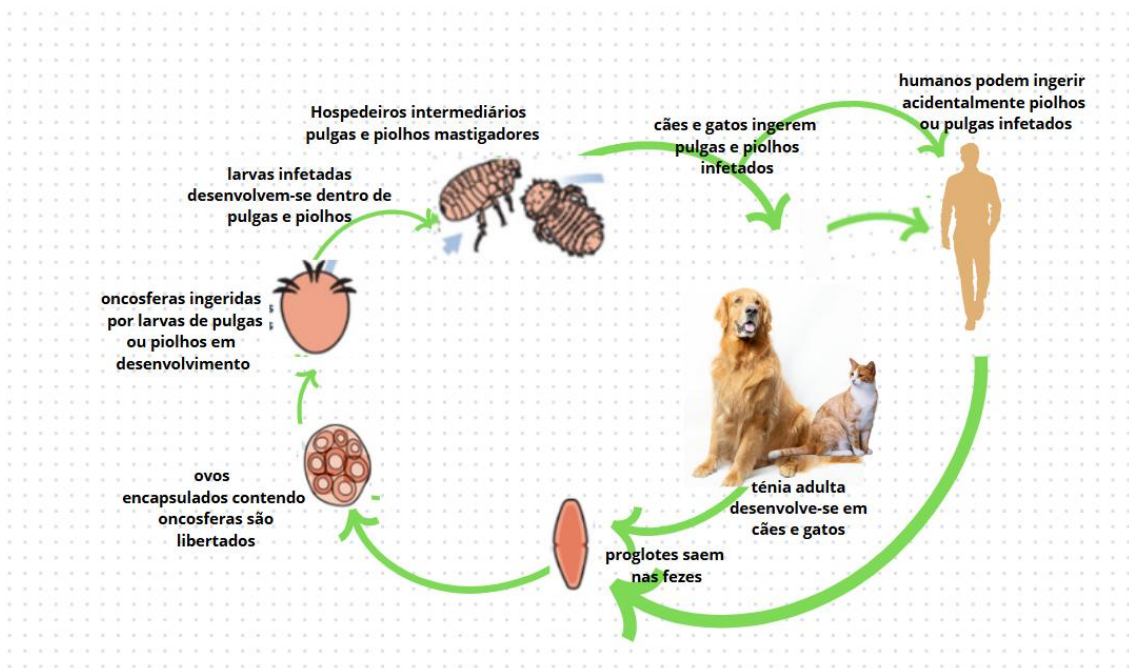


FIGURA 9: *DIPYLIDIUM CANINUM* (ADAPTADO DE ESCCAP, 2021)

Sinais clínicos

A infecção, na maioria dos casos, é assintomática ou os sinais ou sintomas clínicos são inespecíficos (Troccap, 2019). Os sintomas passam por um prurido intenso na zona anal que leva o cão a arrastar a parte traseira no chão o que por vezes leva a lesões na zona perianal. Infestações maiores podem levar a traumatismo e consequente infecção secundária na região anal, cólicas e diarreias. Ocasionalmente, as infecções intensas podem resultar em enterite e/ou obstrução intestinal (Troccap, 2019).

2.3.3.2 *Echinococcus*

Características

Echinococcus granulosus é um parasita intestinal da classe cestodo (DGAV, 2014), sendo o agente da Equinococose. É um parasita de corpo pequeno que possui no máximo cinco proglotes, com escólex com rostelo e ganchos (Martins, 2020) e que tem o cão como hospedeiro definitivo. Este fica infetado ao ingerir vísceras do hospedeiro intermediário (DGAV, 2014; Martins, 2020).

O homem pode ser um hospedeiro intermediário sendo, por isso, a Equinocose uma zoonose. É também conhecida por “doença do pelo do cão” e ganhou este nome porque quando parasitado o cão espalha os ovos pela pelagem. A proximidade entre o homem e o cão e a falta de uma higienização adequada das mãos após contato, facilita o ciclo zoonótico desta doença. A contaminação acontece sempre de forma acidental do cão para o homem (DGAV, 2014).

Outros hospedeiros intermediários são principalmente animais domésticos, tais como ovinos, suínos, bovinos, caprinos e cavalos. Todos estes podem ser infetados quando ingerem ovos que são libertados nas fezes de cães. Os cães, por sua vez, são infetados ao ingerirem quistos hidáticos em vísceras de espécies pecuárias. Por isso, o ciclo de vida deste parasita pode ser considerado um ciclo doméstico (Umhang et al., 2020).

Apesar de este parasita ser endêmico em todo o mundo, a sua prevalência é mais relevante em áreas onde existem práticas pecuárias (Mateus & Vieira-Pinto, 2015).

Ciclo de vida

O ciclo de vida do parasita (Figura 10) acontece quando o parasita que habita no intestino delgado dos hospedeiros definitivos atinge o estado adulto, libertando proglotes que são libertados no meio ambiente através das fezes. Estas proglotes são a forma infetante do parasita e vão ser acidentalmente ingeridos pelo hospedeiro intermédio (ruminantes, suínos, equinos e o homem). Uma vez ingeridos, os ovos libertam a oncosfera que migra até atingir órgãos-alvo como o fígado, pulmão e, raramente, o coração, rins ou cérebro onde se forma o quisto hidático. O ciclo progride quando o hospedeiro definitivo consome um hospedeiro intermediário infetado (Martins, 2020; Rusinà & Zancanaro, 2023).

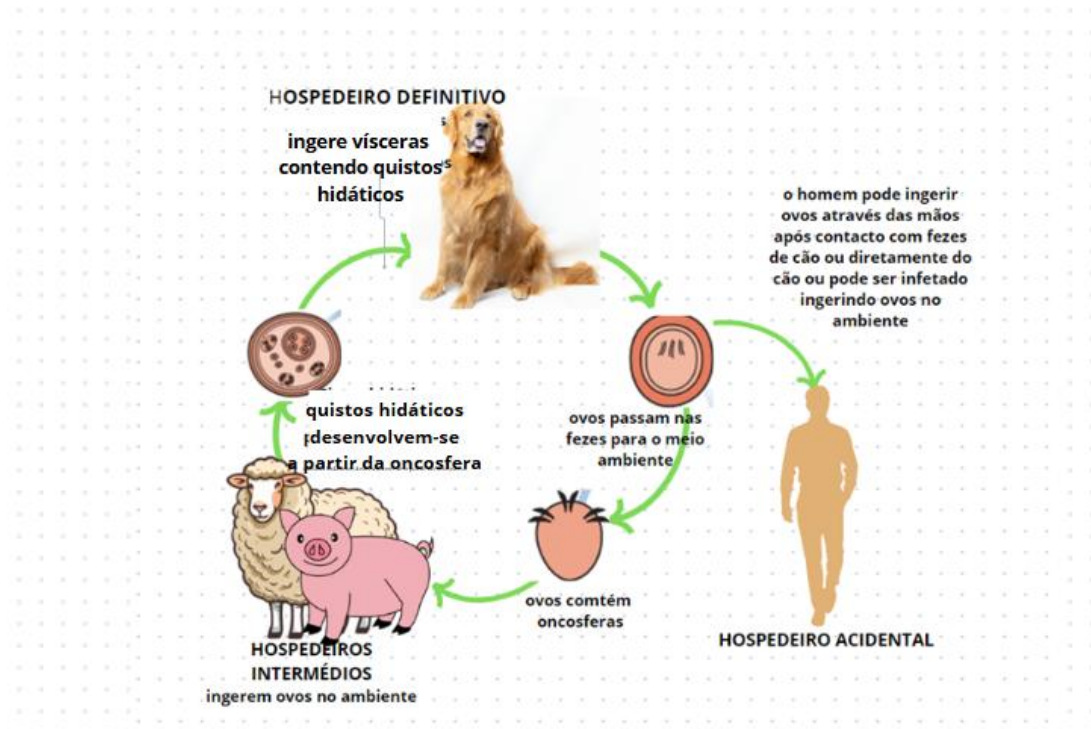


FIGURA 10: CICLO DE VIDA *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS* (ADAPTADO DE ESCCAP, 2021)

O homem surge como hospedeiro intermediário acidental e como último elo neste ciclo, ao adquirir a infeção através da ingestão de ovos do parasita e desenvolvendo quistos equinocócicos principalmente no fígado e pulmões (Mateus & Vieira-Pinto, 2015).

Sinais clínicos

A equinococose, normalmente é assintomática, no entanto podem surgir sinais clínicos tais como as enterites catarrais na presença de grandes infeções pelo equinococcus em cães. A hidatidose nos animais infetados leva a que as vísceras no abate sejam descartadas (Martins, 2020).

Se o quisto do equinococcus se rompe podem formar-se novos quistos ou pode ocorrer choque anafilático e consequentemente a morte (Martins, 2020), pode surgir febre, urticária, eosinofilia.

2.3.4 Protozoários

Hemoparasitoses

Fala-se de hemoparasitoses quando se refere a doenças causadas por microrganismos patogénicos que parasitam as células sanguíneas. Estes são transmitidos por artrópodes hematófagos, nomeadamente carraças da espécie *Rhipicephalus sanguineus* (Araújo et al., 2022).

As mais relatadas são a Erliquiose Monocítica Canina, a Anaplasmoze Trombocitotrófica Canina, a Babesiose e Hepatozoonose, sendo causadas pelos agentes dos géneros *Ehrlichia*, *Anaplasma*, *Babesia* e *Hepatozoon*, respetivamente (Araújo et al., 2022).

2.3.4.1 *Hepatozoon*

Características

Hepatozoon canis é um protozoário de estrutura alongada grande na fase de gametócitos, que ocupa o citoplasma dos leucócitos. Infecta cães e é transmitido através da ingestão de carraças infetadas da espécie *Rhipicephalus sanguineus* que é seu hospedeiro intermédiano (Rotondano et al., 2015; Martins, 2020).

Ciclo de vida

O ciclo de vida (Figura 11) começa pela ingestão acidental de uma carraça infetada pelo cão. Nas células do endotélio do baço, fígado e medula óssea ocorre a esquizogonia com formação dos esquizontes. Os gametócitos formam-se nos leucócitos quando ocupados pelos merozoítos. O ciclo continua quando a carraça se alimenta do sangue do cão e ingere estes gametócitos; no hospedeiro intermédiano surgem os zigotos móveis (oócito) e posteriormente esporocistos com esporozoítos (Martins, 2020).

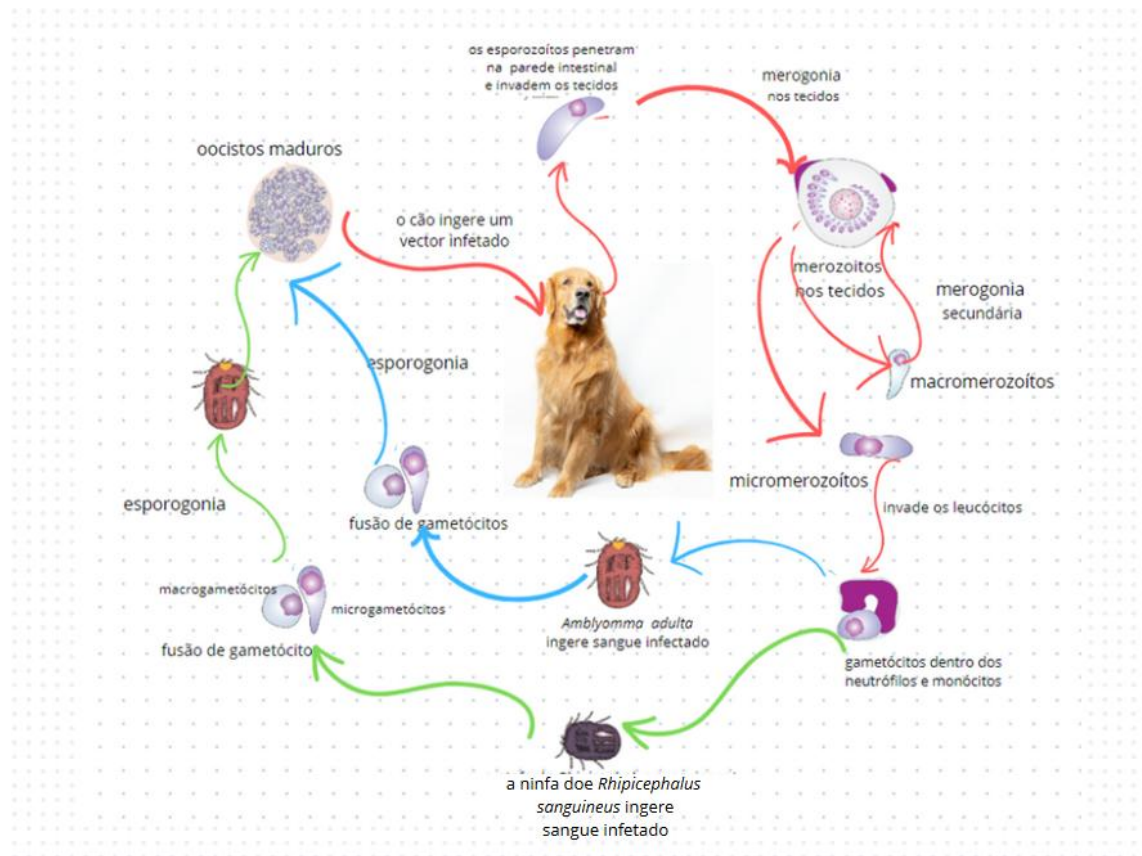


FIGURA 11: CICLO DE VIDA *HEPATOZOON CANIS* (ADAPTADO DE O'DWYER, 2011)

A sua principal via de transmissão é oral aquando da ingestão de carrças infectadas pelo cão, no entanto também pode acontecer transmissão transplacentária. Não apresenta um potencial zoonótico, no entanto tem uma distribuição mundial (Troccap, 2019).

Sinais clínicos e diagnóstico

Pode acontecer doença leve a grave, visto *H. canis* infetar os tecidos hemolinfáticos e causar anemia e letargia. A infeção pode variar de subclínica, em cães aparentemente saudáveis, a grave com sintomas como letargia, febre, caquexia e mucosas pálidas devido à anemia (Troccap, 2019). Para Martins (2020), a infeção por *Hepatazoon* provoca reações inflamatórias nos órgãos onde se origina a esquizogonia. Os animais apresentam sinais de febre, anemia, emagrecimento progressivo e esplenomegalia. Se não for diagnosticado e tratado pode ocorrer morte em quatro a oito semanas.

A infeção pode ser erradamente diagnosticada uma vez que os sintomas gerais são semelhantes aos de outras doenças transmitidas por carrças, como erliquiose e babesiose (Rotondano et al., 2015). A infeção por *H. canis* pode ser diagnosticada com recurso ao

microscópio para detecção de gamontes intracelulares em neutrófilos e monócitos em esfregaços de sangue, no entanto o teste de PCR de sangue total é sensível e específico (Troccap, 2019).

2.3.4.2 *Leishmania*

Características

A leishmaniose canina é uma zoonose causada por um protozoário difásico do Reino Protista, sub-reino Protozoa, filo Sarcomastigophora, subfilo Mastigophora, ordem Kinetoplastidae, sub-ordem Trypanosomatina, família Trypanosomatidae, e género *Leishmania* (Campillo et al., 1999). É uma zoonose de grande importância para a saúde pública (Oliveira-Neto et al., 2018; Baneth & Solano-Gallego, 2022), transmitida por vetores flebotomíneos com alta prevalência de infecção em cães e gatos (Baneth & Solano-Gallego, 2022), mas infecta também humanos e animais silvestres. As formas amastigotas instalam-se em macrófagos na pele ou outros órgãos (Martins, 2020).

Apenas as fêmeas de insetos do género *Phlebotomus*, das espécies *P. perniciosus* e *P. ariasi*, na Europa e *Lutzomyia* na América do Sul são transmissores deste parasita (Alvar et al., 2004). Existem cerca de 30 espécies diferentes de *Leishmania* dispersas pelos países do mundo inteiro. Na Europa, a espécie mais frequente é a *Leishmania infantum*, sendo a Bacia Mediterrânica a região onde mais afetada (Aguilar, 2011).

Os cães são o principal reservatório de *Leishmania infantum*, apresentando leishmaniose canina, uma doença que afeta vários sistemas no organismo. É uma doença incurável e pode levar à morte, quando não tratada. Na Bacia do Mediterrâneo, Norte da África, América do Sul e Oeste da Ásia este protozoário pode ser causa de três apresentações diferentes: leishmaniose visceral, cutânea e mucosa em pessoas (Morales-Yuste et al., 2022).

É considerada endémica em quase todo o território de Portugal Continental e nos últimos anos têm-se assistido a um aumento da sua prevalência nos cães (Aguilar, 2011). A leishmaniose causada por *Leishmania infantum* é de preocupação *One Health* (Dos Santos et al., 2021).

Ciclo de vida

O ciclo de vida de *L. infantum* envolve hospedeiros mamíferos e hospedeiros flebotomíneos que atuam como vetores (Figura 12) (Sáez et al., 2018). Ao utilizar vários hospedeiros tais como mamíferos, humanos, animais domésticos, animais selvagens e artrópodes vetores o parasita tem um ciclo epidemiológico complexo (Nunes, 2021; Dos Santos et al., 2021; Sáez et al., 2018).

Os flebotomíneos são insetos que têm a sua atividade ao final do dia, início da manhã e durante a noite. Em países de clima temperado ficam mais ativos durante a primavera e o verão, enquanto em países com clima tropical a sua atividade mantém-se durante todo o ano. As fêmeas são hematófagas e precisam de sangue para amadurecer os ovos e fazem-no ao alimentar-se de animais vertebrados. Os vetores de *L. infantum* pertencem aos gêneros *Phlebotomus* na Europa, África e Ásia e *Lutzomyia* que pode ser encontrada no continente americano. Oito espécies de *Phlebotomus* foram implicadas como vetores de *L. infantum* na sub-região do Mediterrâneo que inclui o sul da Europa, o norte da África e partes da Ásia: *Phlebotomus perniciosus*, *P. ariasi*, *P. neglectus*, *P. kandelakii*, *P. perfiliewi*, *P. langeroni*, *P. tobbi* e *P. balcanicus* (Sáez et al., 2018).

O flebotomíneo que atua como vetor, quando se alimenta do sangue de um hospedeiro anteriormente contaminado, ingere a forma amastigota, que se multiplica por divisões binárias sucessivas e se transforma em promastigota no tubo digestivo do inseto. Em seguida, quando este se volta a alimentar noutra animal, essas formas promastigotas são inoculadas e penetram nas células reticuloendoteliais, onde se transformam em amastigotas e se instalam na pele ou em outros órgãos, como fígado e baço (Martins, 2020; Morales-Yuste et al., 2022).

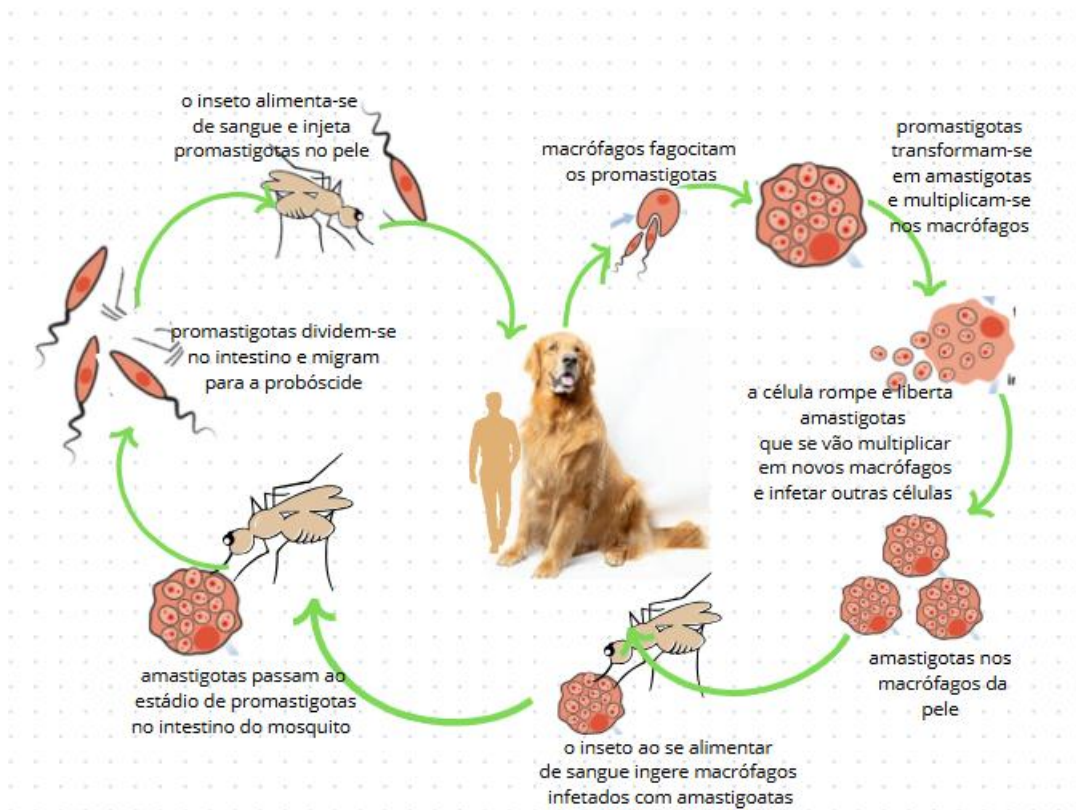


FIGURA 12: CICLO DE VIDA *LEISHMANIA INFANTUM* (ADAPTADO DE ESCCAP, 2021)

Sinais clínicos, diagnóstico e tratamento

Os macrófagos infectados por *L. infantum* encontrados em tecidos parasitados, causam reações inflamatórias granulomatosas que levam à maioria dos sintomas (Koutinas & Koutinas, 2014). Os principais sintomas são caquexia, lesões cutâneas e crescimento anormal das unhas (Martins, 2020; Baneth & Solano-Gallego, 2022; Koutinas & Koutinas, 2014). Danos oculares também podem ser encontrados, tais como blefarite, uveíte e conjuntivite (Koutinas & Koutinas, 2014).

A doença clínica é sistémica com sinais de apresentação e graus de gravidade variáveis. A infeção subclínica de caninos e felinos em áreas endémicas é frequente (Baneth & Solano-Gallego, 2022).

O diagnóstico é feito através da presença de sinais clínicos que sejam característicos da doença e na confirmação da infeção com recurso a técnicas serológicas e moleculares (PO-Guidelines.pdf, 2024). O diagnóstico da leishmaniose canina evoluiu ao longo dos

anos por meio da análise de novas amostras usando novas técnicas moleculares (Morales-Yuste et al., 2022).

O tratamento consiste na utilização de alopurinol, ou combinação de alopurinol com antimoniato de meglumina ou miltefosina a longo prazo, mas o mais provável é voltarem a acontecer manifestações da doença (Baneth & Solano-Gallego, 2022). As vacinas que foram desenvolvidas nos últimos 10 anos são agora também usadas e aliadas às estratégias de prevenção (Morales-Yuste et al., 2022).

3. Material e Métodos

Este estudo teve como objetivo a avaliação e identificação dos parasitas com potencial zoonótico em cães pastores de explorações pecuárias do concelho de Fronteira. Para efetuar as técnicas de pesquisa parasitológicas foram coletadas amostras de fezes e sangue. Todos os animais passaram por um exame físico minucioso. Para cada animal foi preenchido um questionário com recolha de dados sobre o mesmo, sobre a exploração e sobre o tutor.

No exame físico pesquisaram-se ectoparasitas tais como pulgas, carraças, ácaros. Paralelamente foram observados os globos oculares para pesquisa de *Thelazia calippaeda*. No sangue, a pesquisa foi baseada na procura de microfilárias, *Leishmania*, *Hepatozoon canis* e *Babesia*. Nas fezes a pesquisa consistiu na procura de parasitas gastrointestinais tais como, *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum*, *Taenia* spp.

Este trabalho de investigação foi avaliado pela Comissão de Ética para a Investigação e Ensino do IPP, tendo sido aprovado pela mesma.

3.1. Caracterização da área de estudo

Área de estudo: Freguesias do Concelho de Fronteira

Localizado na região do Alentejo e sub-região do Alto Alentejo, no distrito de Portalegre, o concelho de Fronteira compreende 3 freguesias, freguesia de Fronteira, Cabeço de Vide e S. Saturnino. A freguesia de Fronteira abrange a vila de Fronteira e o lugar de Vale de Seda, a freguesia de S. Saturnino abrange também a aldeia de Vale de Maceiras.

Com 248,60 km² de área total de ocupação, o concelho possui 2 858 habitantes segundo os dados dos últimos censos do ano de 2021. O município é limitado a norte pelo município de Alter do Chão, a leste por Monforte, a sueste por Estremoz, a sul por Sousel e a oeste por Avis (Figura 13).



FIGURA 13: MAPA DO CONCELHO DE FRONTEIRA

FONTE [HTTPS://WWW.CIMAA.PT/MUNICIPIO-DE-FRONTEIRA/](https://www.cimaa.pt/municipio-de-fronteira/)

Possui um clima marcadamente mediterrânico, caracterizado por uma estação seca bem acentuada no verão.

Como recursos hídricos fazem parte do concelho a ribeira de Carvalho, a ribeira de Chaminé, a ribeira de Vide, a ribeira Grande, a ribeira de Ana Louro, a ribeira da Aldeia e a ribeira de Juncal.

No concelho predominam as atividades ligadas aos setores terciário e primário. A indústria tem um peso quase insignificante.

Na agricultura destacam-se os cultivos de cereais para grão, os prados temporários e culturas forrageiras, o pousio, o olival, os prados e pastagens permanentes. A pecuária consiste na criação de suínos, ovinos e bovinos.

3.1.1 Locais de colheita

Os locais selecionados para a colheita de amostras no concelho de Fronteira foram explorações pecuárias com cães pastores. Fizeram parte do estudo as explorações visitadas pela equipa da Clínica Vetinser, durante o período do estudo a quando do saneamento anual ou em consultas de campo. Foram visitadas 43 explorações com as seguintes espécies pecuárias (Figura 14): Ovinos 26, bovinos 7, caprinos 3, suínos 1 e mistas com ovinos/bovinos e caprinos/ovinos 5 e 1, respetivamente.

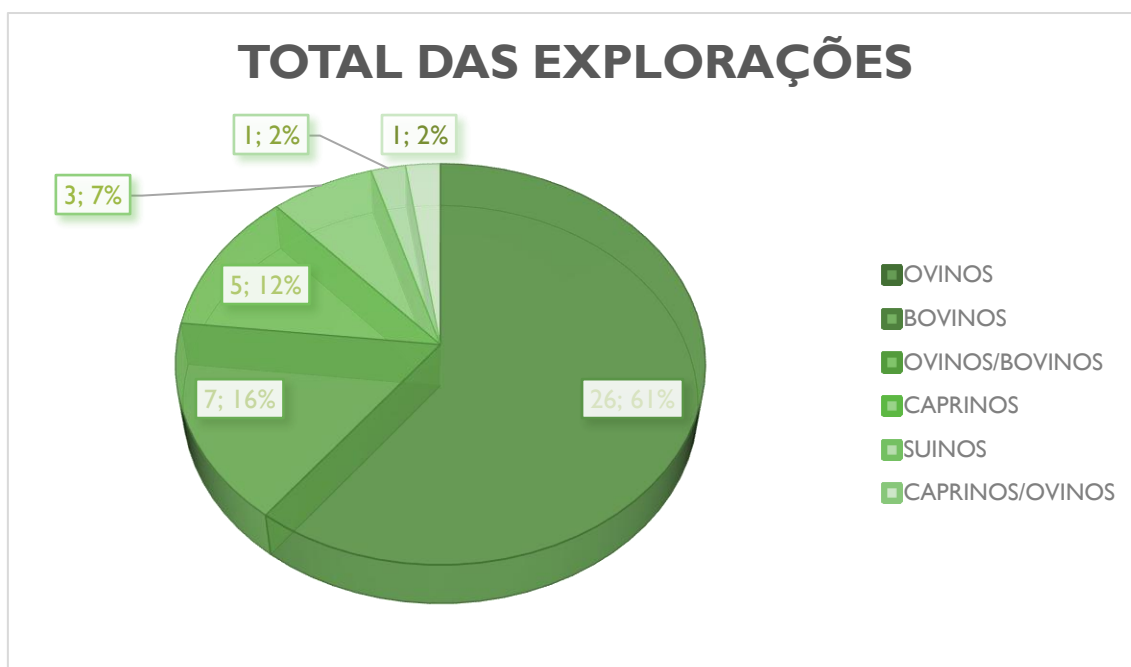


FIGURA 14: TOTAL DAS EXPLORAÇÕES VISITADAS

Essas explorações tiveram a seguinte distribuição pelas 3 freguesias do concelho (Tabela 1)

TABELA 1: DISTRIBUIÇÃO DAS EXPLORAÇÕES POR FREGUESIA

ESPÉCIE PECUÁRIA	Fronteira	Cabeço de Vide	S. Saturnino	Total
Ovinos	15	2	9	26
Bovinos	3	2	2	7
Ovinos/Bovinos	3	2		5
Caprinos	3			3
Ovinos/Caprinos		1		1
Suínos	1			1

3.2. Material

Todos os cães das explorações visitadas pela equipa da Vetinser no período entre outubro de 2023 e julho de 2024 no concelho de Fronteira foram selecionados para o estudo. No entanto, nem todos os animais participaram em todas as etapas do estudo pelas mais diversas razões, tais como, animais pouco cooperativos, tutores que não conheciam os comportamentos de excreção dos cães.

Para cada animal examinado foi preenchido um questionário pelo proprietário (Anexo I), com o intuito de obter os dados necessários para a construção do perfil de cada animal: sexo, idade e raça, histórico epidemiológico geral, tipo de alimentação, acesso livre ou restrito ao exterior da propriedade, desparasitação e vacinação atualizadas, caracterização do efetivo coabitante, acesso a vísceras cruas, contacto com o efetivo pecuário da exploração e convivência com outros cães ou outros animais.

Entre outubro de 2023 e julho de 2024 foram recolhidos 81 questionários. Cada cão selecionado foi submetido a um exame clínico geral, aos quais foram retirados os ectoparasitas observados. Seguidamente foram realizadas 57 colheitas de amostras de sangue e por fim de 63 amostras de fezes. As amostras de sangue foram obtidas por colheita a partir da veia cefálica ou da veia safena lateral e armazenadas em tubos secos. A maioria das amostras de fezes foram obtidas dos animais através de eliminação espontânea, outras diretamente da ampola rectal tentando sempre colher o máximo de massa fecal possível. Todas as amostras foram identificadas com o número do animal correspondente. Após a recolha todas as amostras foram refrigeradas até serem analisadas.

3.3. Métodos

3.3.1 Questionário

A maioria dos questionários eram lidos aos tutores e preenchidos pela autora. O questionário foi dividido em três partes, dados referentes ao tutor, dados referentes ao animal e dados referentes à exploração pecuária (Anexo I). Os dados obtidos foram usados para análise de potenciais fatores de risco associados ao parasitismo. Os dados

recolhidos foram colocados em tabelas de Microsoft Office – Excel e todo processo da análise dos dados e produção de gráficos foi feito através do mesmo.

3.3.2 Exame Clínico

Cada cão selecionado foi submetido a um exame clínico geral para observar o seu estado de saúde e para extrair ectoparasitos na eventualidade de serem encontrados. No exame físico ao animal foram inspecionadas as áreas anatómicas onde as carraças por norma tendem a aderir, cabeça, orelhas e região interdigital, e a região dorso-lombar com a finalidade de encontrar sinais de dermatite alérgica por picada de pulga (DAPP) ou fezes destas.

Em todos os cães foram inspecionados os globos oculares com o intuito de encontrar sinais de *Thelazia*.

3.3.3 Exame macroscópico

Todas as amostras fecais foram primeiro sujeitas a um exame macroscópico com o intuito de observar características tais como cor, consistência, odor, forma e presença de corpos estranhos ou parasitas adultos (Anexo II). Algumas amostras apresentavam um aspeto pastoso e diversas tonalidades de castanho. Nos animais alimentados com carne constatou-se que as fezes tinham uma consistência mais dura e possuíam uma coloração mais clara, algumas de cor branca. Apenas a amostra nº36 continha um parasita adulto (Figura 15), que pelas características seria um ancylostomatídeo.



FIGURA 15: PARASITA ADULTO ENCONTRADO DURANTE O EXAME MACROSCÓPICO

3.3.4 Procedimentos laboratoriais

3.3.4.1 Técnica de Willis

A avaliação das amostras foi realizada pelos métodos parasitológicos de flutuação simples de Willis-Mollay. O método é rápido, barato e não requer o uso de centrífuga. É simples e não exige nenhuma habilidade especial. Segundo Nunes (2021), a técnica de Willis-Mollay, é eficaz no diagnóstico qualitativo de ovos de helmintes e oocistos de protozoários.

Foi usado uma solução saturada de açúcar e o procedimento utilizado foi o descrito em (Troccap, 2019), (Figura 16) (Anexo III).

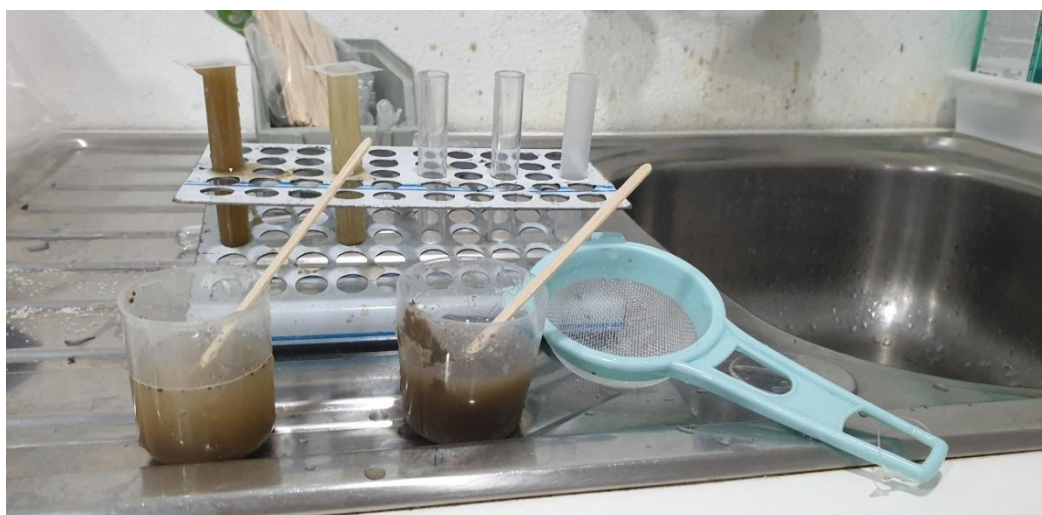


FIGURA 16: PROCEDIMENTO PARA TÉCNICA DE FLUTUAÇÃO

Para Santos et al. (2020), a técnica de Willis-Mollay é empregada na rotina dos laboratórios de análises clínicas. É uma técnica qualitativa de flutuação espontânea simples, que recorre ao uso de uma solução de elevada densidade (1:1200). O princípio é fazer com que os ovos de menor densidade flutuem, aderindo à superfície inferior da lâmina.

3.3.4.2 Técnica da gota a fresco

Com o objetivo de pesquisar parasitas sanguíneos tais com microfilárias foi realizado a técnica da gota a fresco com as amostras de sangue obtidas (Figura 17).

Para cada amostra foi colocada uma gota do material biológico, neste caso sangue, no centro de uma lâmina, e colocado por cima logo de seguida a lamela, para que a gota se espalhasse pela extensão desta. Este teste é barato e rápido, mas apresenta uma baixa sensibilidade, com falsos negativos frequentes e não permite identificar a espécie de *Dirofilária* (Silva, 2018). Esta técnica requer atenção à quantidade de sangue colocado na lâmina, uma vez que uma quantidade elevada impede uma boa visualização dos eritrócitos. A colocação da lamela também deve ser feita de forma cuidadosa para que não se formem bolhas. As observações ao microscópio foram feitas com a objetiva de 40X e com iluminação reduzida.

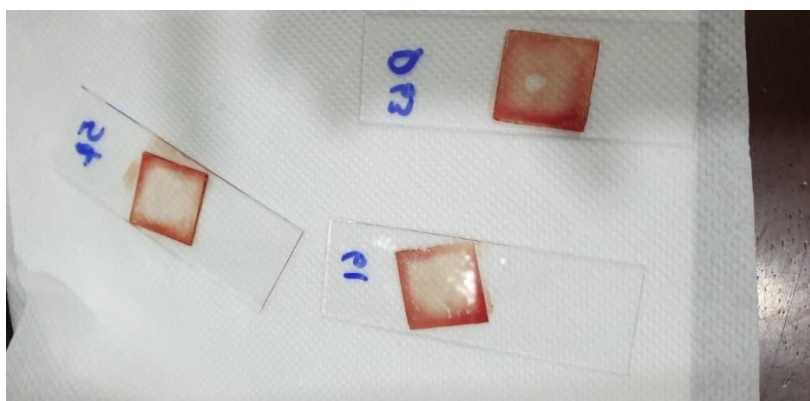


FIGURA 17: LÂMINAS DA GOTA A FRESCO

3.3.4.3 Esfregaço sanguíneo

No esfregaço sanguíneo foram pesquisadas hemoparasitoses.

Para realizar um bom esfregaço devem ser usadas lâminas de vidro limpas e livres de gorduras. Uma pequena gota de sangue é colocada próximo de uma extremidade da lâmina e outra lâmina, colocada junto da gota, em ângulo de 30°, vai espalhar o sangue pela zona de contato das duas lâminas. Com suavidade e rapidez deve-se fazer deslizar a segunda lâmina para a frente de modo a espalhar o sangue até ao fim da lâmina. Depois deixa-se secar ao ar e de seguida fixa-se e cora-se (Juárez & Sevilla, 2018). As colorações do tipo Romanowsky são as mais comuns. Neste estudo foi usada a coloração *DIFF-*

Quick Uranotest® (Figura 18). Procedimento sugerido para coloração com *Diff-Quick*: Anexo IV.



FIGURA 18: COLORAÇÃO DE ESFREGAÇOS SANGUÍNEOS COM CLORAÇÃO *DIFF-QUICK*

Para lâminas coradas, a observação foi feita com a objetiva de imersão, com iluminação intensa.

3.3.4.4 Imunofluorescência

Os primórdios da imunofluorescência indireta (IFT) datam de 1942, quando Albert Coons e col. demonstraram a marcação de anticorpos anti pneumococos com fluoresceína no tecido pulmonar (Aoki et al., 2010).

Neste estudo foi usado o *kit* MegaFLUO® LEISH (Figura19) para detecção semiquantitativa de imunofluorescência de anticorpos Imunoglobulina G (IgG) contra *Leishmania infantum* no plasma ou soro do cão. Neste teste de imunofluorescência indireta (IFT), anticorpos específicos presentes nos soros pré-diluídos ligam se aos antígenos presentes na lâmina (Figura 20). Proteínas séricas não específicas não ligadas são lavadas. Anticorpos FLUO FITC marcados com fluoresceína no conjugado ligam-se aos complexos antígeno-anticorpo. A avaliação é feita com um microscópio de fluorescência (sistema de filtro para FITC) com ampliação de 400×.

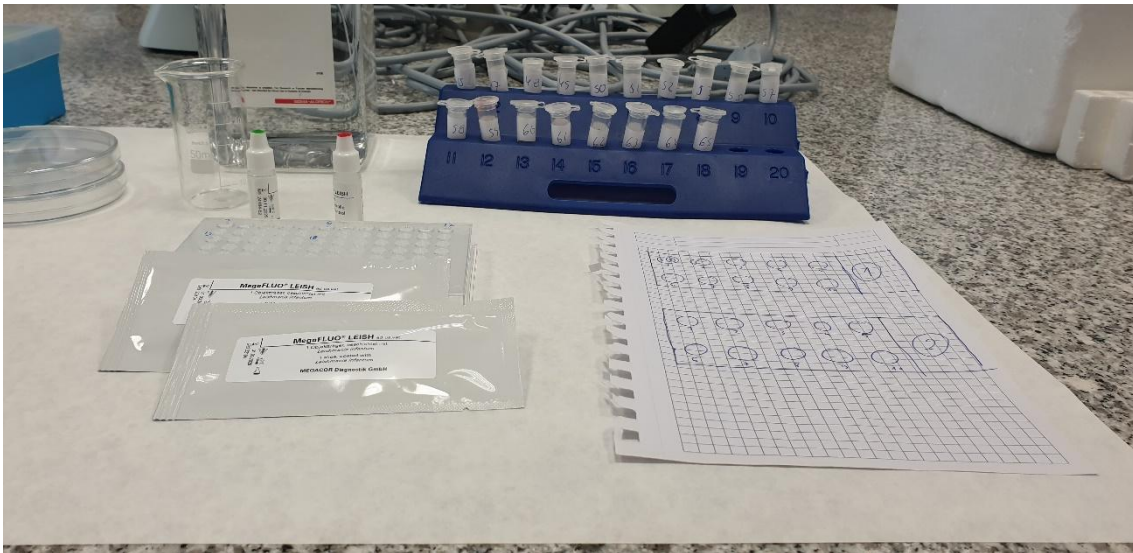


FIGURA 19: PREPARAÇÃO DO KIT MEGAFLUO® LEISH

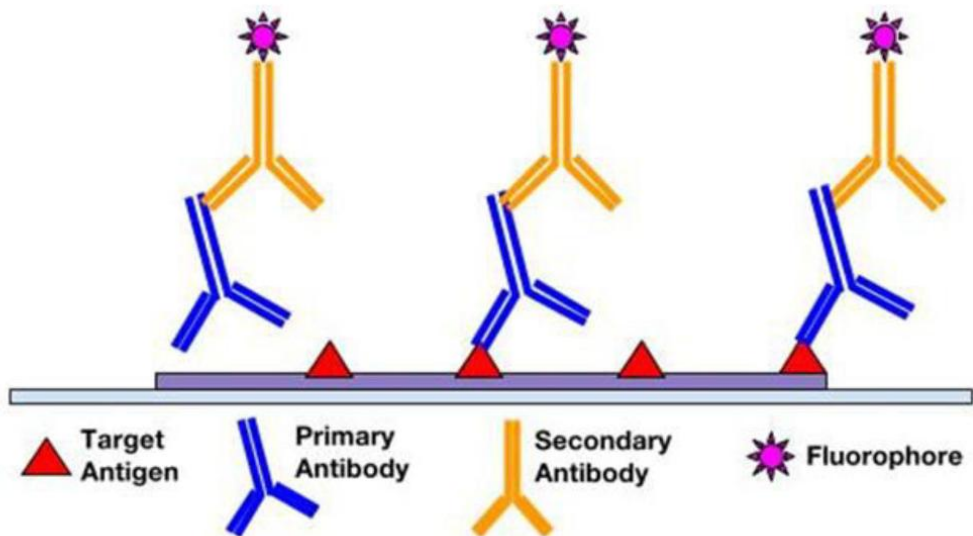


FIGURA 20: IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA FONTE (IM ET AL., 2019)

4. Resultados

4.1 Resultados dos Questionários

Através dos questionários foram obtidos dados sobre a exploração, dados do animal e dados do tutor.

4.1.1 Dados das explorações

Foram examinados entre outubro de 2023 e junho de 2024 um total de 81 caninos, em 43 explorações do concelho de Fronteira. Distribuídas pelas 3 freguesias do concelho (Figura 21). Na freguesia de Fronteira foram visitadas 25 explorações, 15 de ovinos, 3 de bovinos, 3 caprinos, 1 de suínos e 3 com ambas as espécies pecuárias ovinos e caprinos. Na freguesia de Cabeço de Vide foram 7 explorações, 2 de ovinos, 2 de bovinos, 2 de ovinos e bovinos e 1 mista com caprinos e ovinos. Em S. Saturnino a 3ª freguesia do concelho contabilizamos um total de 11 explorações, 9 de ovinos e 2 de bovinos.

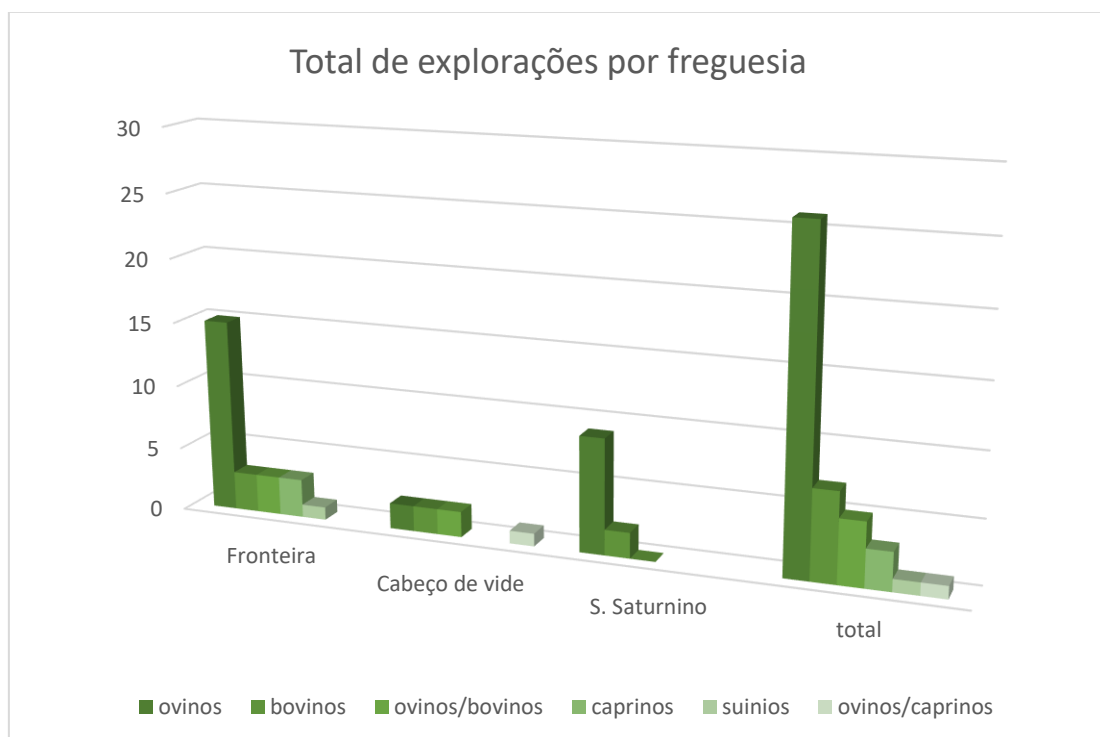


FIGURA 21: TOTAL DE EXPLORAÇÕES POR FREGUESIA

Todas as explorações possuem um estatuto sanitário indemne, com classificação sanitária de B4/ T3 para os bovinos e B4 para os ovinos. Apenas uma das explorações de bovinos durante o período em que decorreu o estudo passou por uma suspeita de tuberculose, no entanto, novas provas de tuberculina obteriam resultados negativos. Outra das explorações não tinha sido saneada no ano de 2022 por falecimento do proprietário.

Todas as explorações cumprem o plano profilático proposto pelo médico veterinário assistente e fazem pelo menos uma desparasitação anual do efetivo usando para o efeito produtos com ivermectina tais como Virbamec® (29 explorações) ou Ivomec® (3 explorações), Seponver® (mebendazol e closantel sódico di-hidratado) (5 explorações), Dectomax® (doromectina) (1 exploração) ou Spotinor® (deltametrina) associado a um dos anteriores (2 explorações). Uma das explorações por ser produtora de leite não tem um programa regular de desparasitação uma vez que a maioria dos produtos apresenta um intervalo de segurança em relação ao leite para consumo humano. A exploração cujo proprietário faleceu também não cumpriu o plano sanitário no ano transato.

Das 43 explorações participantes 23 (53%) fazem uma desparasitação do efetivo semestralmente, 18 (42%) apenas o fazem uma vez por ano, uma não faz desparasitação regularmente e a outra não fez no ano anterior (5%). Destas 43 explorações apenas 4 (9,3%) têm doenças diagnosticadas nomeadamente Coxiella, Chlamydia, DHE (Doença hemorrágica epizootica) e noutra existe uma suspeita de tuberculose.

Apenas 3 explorações confirmaram abortos, das quais duas têm doenças abortivas, como Coxiella e Chlamydia, diagnosticadas. Na outra exploração o proprietário declarou que teve alguns abortos, mas que associou a abortos espontâneos devido a perseguição por predadores no final do período de gestação. As explorações apresentam uma média de taxa de fertilidade de 88,9%.

Têm proximidade com barragens ou zonas húmidas 42% das explorações e apenas 14% não estão dentro de zonas de caça.

4.1.2 Dados dos animais

No que respeita aos animais que fizeram parte do estudo estes apresentam uma média de idades de 4,35 anos distribuídos da seguinte forma (Figura 22):



FIGURA 22: IDADE DOS ANIMAIS

Foram examinados 33 machos e 48 fêmeas. Quanto á raça (Tabela2) a maioria dos tutores classificam os animais como cães de pastoreio, de raça indeterminada (31 animais), seguido dos Rafeiros do Alentejano (30 animais), Border Collie (14 animais), 2 Mastim Espanhol e o Labrador Retriever, o Pastor Belga e o Pastor Australiano cada raça com um representante.

TABELA 2: DISTRIBUIÇÃO DOS ANIMAIS POR RAÇA

RAÇAS	NÚMERO DE ANIMAIS
CÃO CASTRO/LABOREIRO	1
COLLIE	14
INDETERMINADA	31
LABRADOR	1
MASTIM ESPANHOL	2
PASTOR BELGA	1
PASTOR AUTRALIANO	1
RAFEIRO ALENTEJANO	30
Total Geral	81

Dos 81 caninos apenas 2 apresentavam má condição física, 10 apresentavam uma condição considerada suficiente e os restantes 69 apresentavam-se em boas condições físicas. Apenas 2 estavam diagnosticados como positivos para leishmaniose, um destes apresentava má condição física e o outro já diagnosticado e medicado há algum tempo apresentava uma boa condição física, no entanto viria a falecer durante o decorrer do estudo por suspeita de envenenamento. Apenas 4 animais, dos quais 3 fêmeas e 1 macho estavam esterilizados.

Do total dos animais que fizeram parte do estudo, trinta e um tinham um programa completo de vacinação, 50 não tinham vacina ou apenas tinham a vacina antirrábica. No que respeita à desparasitação interna 44 tinham desparasitação feita há pelo menos 1 ano e 39 foram desparasitados externamente. Os desparasitantes internos mais usados foram praziquantel, febendazol, febantel e pirantel, em associações ou isolados. Quanto aos desparasitantes externos, foram referidos o Bravecto® e Simparica® cujas substâncias ativas são o fluralaner e sarolaner, respetivamente. As desparasitações contabilizadas no questionário foram apenas as que estavam averbadas por médico veterinário no cartão de saúde dos animais.

Apenas 4 animais do grupo fizeram despiste da leishmaniose dos quais dois testaram positivo. Destes um faz tratamento com Alopurinol® há pelo menos 3 anos e o segundo iniciou durante o decorrer do estudo. O terceiro fez teste para despiste porque é coabitante com um positivo, e o quarto fez despiste antes de iniciar a vacinação com Letifend®. Nenhum animal fez qualquer despiste ou fez prevenção para a dirofilariose.

Muitos dos animais tinham como alimentação base, restos de comida humana e ração num total de 39; 3 deles eram alimentados com carne crua, no entanto 33 tinham acesso a peças de caça e restos de placenta. Tinham contacto com animais selvagens 43 caninos e 51 tinham acesso total às pastagens. Apenas 19 não tinham local próprio para descansar pernoitando os mesmos junto com os rebanhos.

4.1.3 Tutores

No que toca a idades, os tutores apresentavam uma média de idades de 59,6 sendo que o mais novo tinha 34 anos e o mais velho 88, apenas um pertencia ao sexo feminino.

Quanto à escolaridade 4 dos tutores possuíam escolaridade superior, 9 possuíam o secundário completo, 19 não completaram o secundário e 13 possuíam apenas o 4º ano.

4.2 Resultados das pesquisas

Durante o exame físico foram recolhidas 2 carraças, foram colhidas 63 amostras de fezes e foram feitas 57 colheitas de sangue (Figura 23):

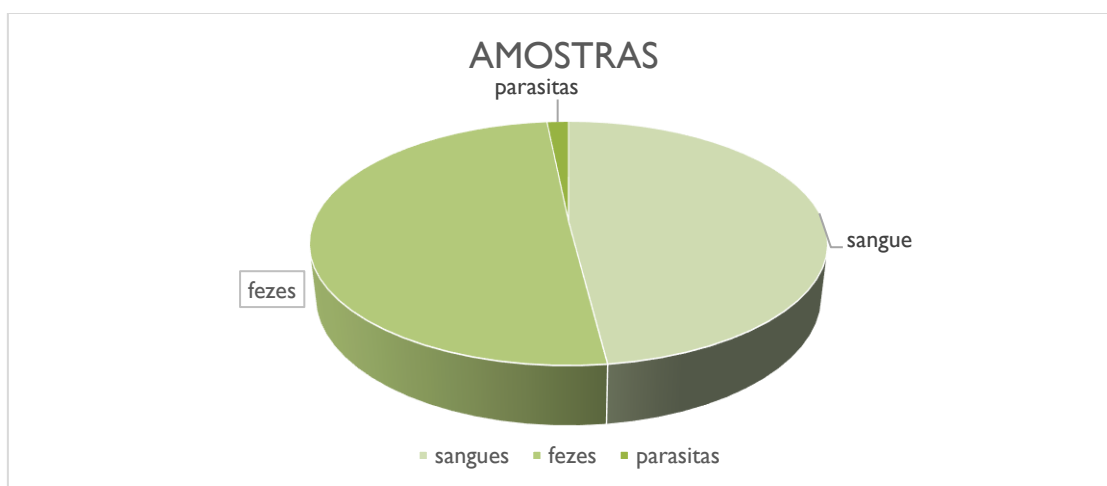


FIGURA 23: AMOSTRAS RECOLHIDAS

4.2.1 Parasitas

No exame físico não foram observados sinais compatíveis com *Thelazia calippaeda*.

As carraças colhidas foram identificadas como pertencente ao género *Hyalomma* (Figura 24).



FIGURA 24: CARRAÇAS DO GÉNERO HYALOMMA RECOLHIDAS EM 2 CANÍDEOS

4.2.2 Amostras de sangue

Com as amostras de sangue (57) foram feitos esfregaços e todas as amostras foram sujeitas à técnica da gota a fresco.

Foi feita estimativa indireta da contagem dos leucócitos e nos esfregaços apenas foram observadas ligeiras neutrofilias ou seja um aumento do número de neutrófilos no sangue, o que pode ser indicativo de infecções e doenças inflamatórias. Alguns esfregaços também apresentavam monocitose. Os monócitos são células do sangue produzidas na medula óssea e que fazem parte do sistema imunológico. São responsáveis pela defesa do organismo, logo um aumento de monócitos no sangue pode surgir como consequência de um processo inflamatório e infeccioso. Não foi possível visualizar nenhuma espécie parasitária, também não foram observadas riquetsias.

Nas lâminas preparadas com a técnica da gota a fresco também não foi encontrado nenhum parasita.

Como no distrito Portalegre existe uma alta prevalência de leishmaniose foram selecionadas aleatoriamente 18 amostras de sangue que foram sujeitas ao teste Megafluo® Leish para pesquisa de anticorpos anti-*leishmania*, sendo que 9 testaram positivo para leishmaniose, 1 amostra foi considerada duvidosa e 8 obtiveram um resultado negativo (Figura 25).

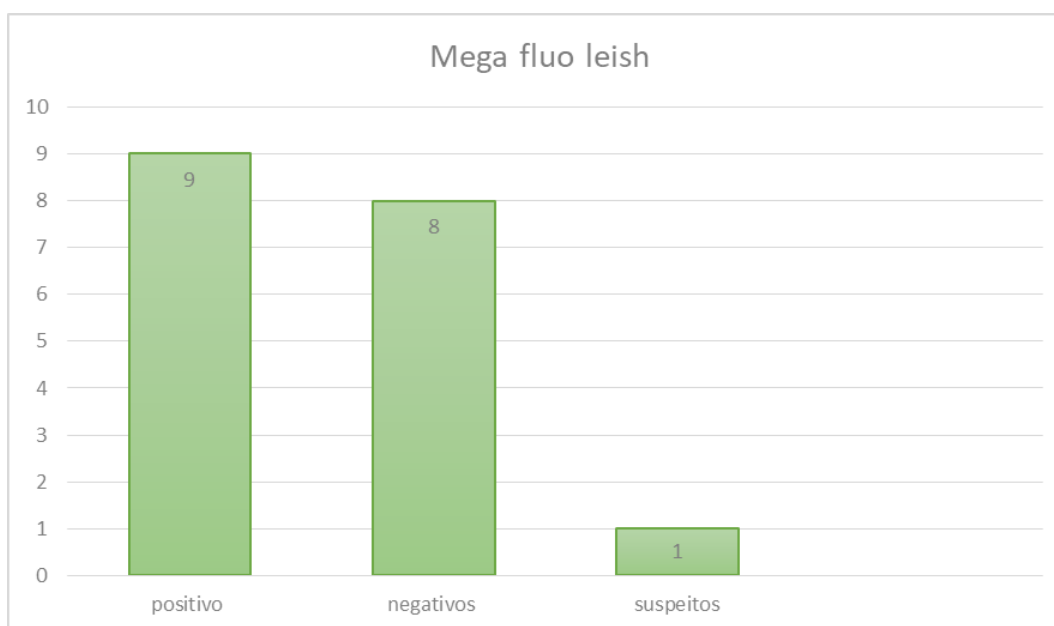


FIGURA 25: RESULTADOS DO TESTE MEGAFLUO® LEISH

Foi considerado como referência o padrão de fluorescência (forma, densidade, etc.) do Controle Positivo (Figura 26) e Controle Negativo (Figura 27). Nos positivos, na observação microscópica, as Leishmanias apresentam uma fluorescência verde-amarelada clara na membrana e área de flagela (Figura 28). Por sua vez, nos negativos as Leishmanias não apresentam fluorescência verde-amarelada, são coloridas de vermelho acinzentado (Figura 29).

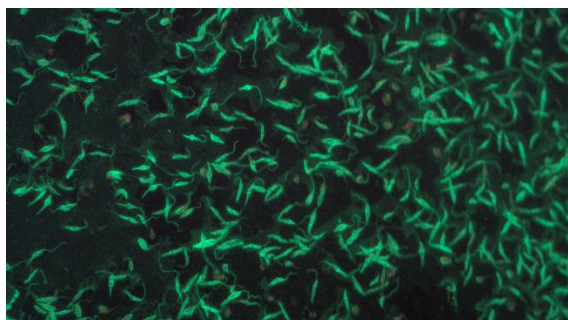


FIGURA 26: IMAGEM CONTROLO POSITIVO

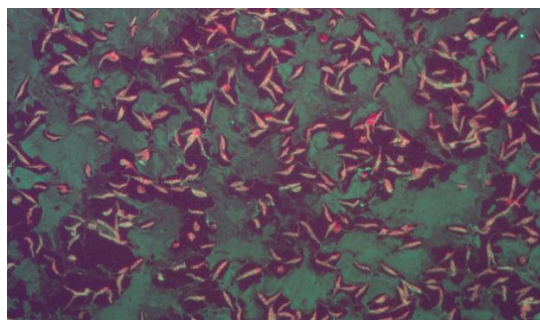


FIGURA 27: IMAGEM CONTROLO NEGATIVO

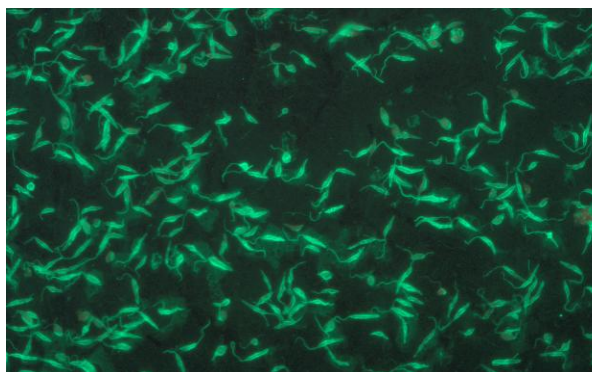


FIGURA 28: IMAGEM DE MICROSCÓPIO DE FLUORESCÊNCIA AMOSTRA POSITIVA (AMOSTRA 45)

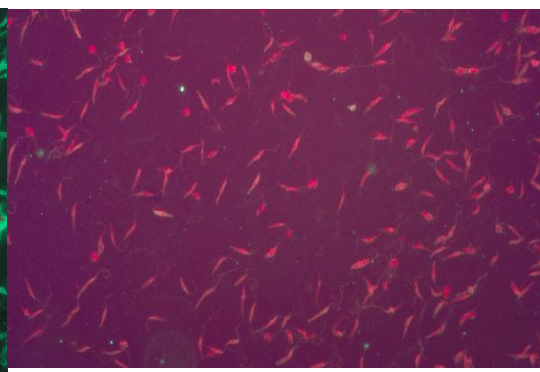


FIGURA 29: IMAGEM DE MICROSCÓPIO DE FLUORESCÊNCIA AMOSTRA NEGATIVA (AMOSTRA 63)

Dos animais selecionados, 14 pertenciam a explorações de ovinos, 3 a explorações de bovinos e 1 a uma exploração de suínos. Sendo que os positivos pertenciam todos a explorações de ovinos com exceção de um que pertencia á exploração de suínos, 3 eram da freguesia de S. Saturnino e os restantes da freguesia de Fronteira. Dos positivos 3 animais eram coabitantes.

Apenas duas das explorações às quais pertenciam os positivos tinham zonas húmidas ou barragens e quatro destas eram zonas de caça.

Um dos animais apresentava sinais compatíveis com a leishmaniose (Figura 30) o que se confirmou no teste rápido e posteriormente em teste laboratorial. Iniciou em seguida o protocolo com Alopurinol®.

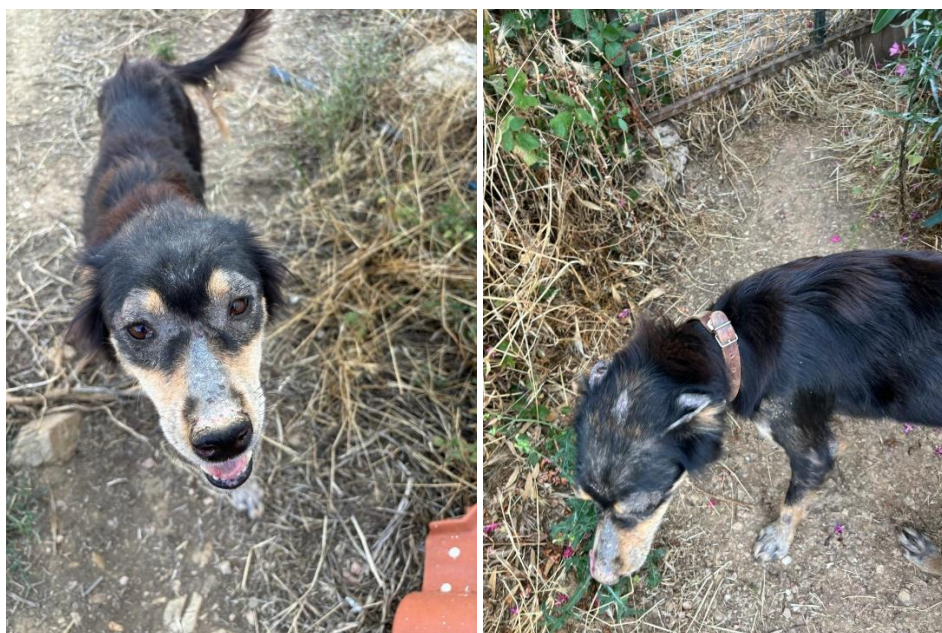


FIGURA 30: FOTO ANIMAL POSITIVO AMOSTRA 45

No que respeita a características dos animais positivos, 4 eram fêmeas e 5 eram machos, 3 eram de raça Rafeiro do Alentejo os restantes 6 eram de raça indeterminada. Todos tinham contacto com outros animais domésticos mas não tinham contacto direto com animais selvagens. Dos positivos 3 fizeram anteriormente desparasitação externa com Bravecto®, no entanto nenhum fazia proteção contra o vetor responsável pela transmissão da leishmaniose.

4.2.3 Amostras fecais

Das 63 amostras fecais recolhidas e submetidas à técnica de flutuação ou de Wills foram obtidos os seguintes resultados (Figura 31): 49 negativos (78%), 7 positivos para ancilostomídeos (11%), 4 positivos para *Toxascaris leonina* (6%), 3% apresentavam infeção mista por *Toxascaris* e ancilostomídeos e numa amostra foi encontrado um parasita adulto.

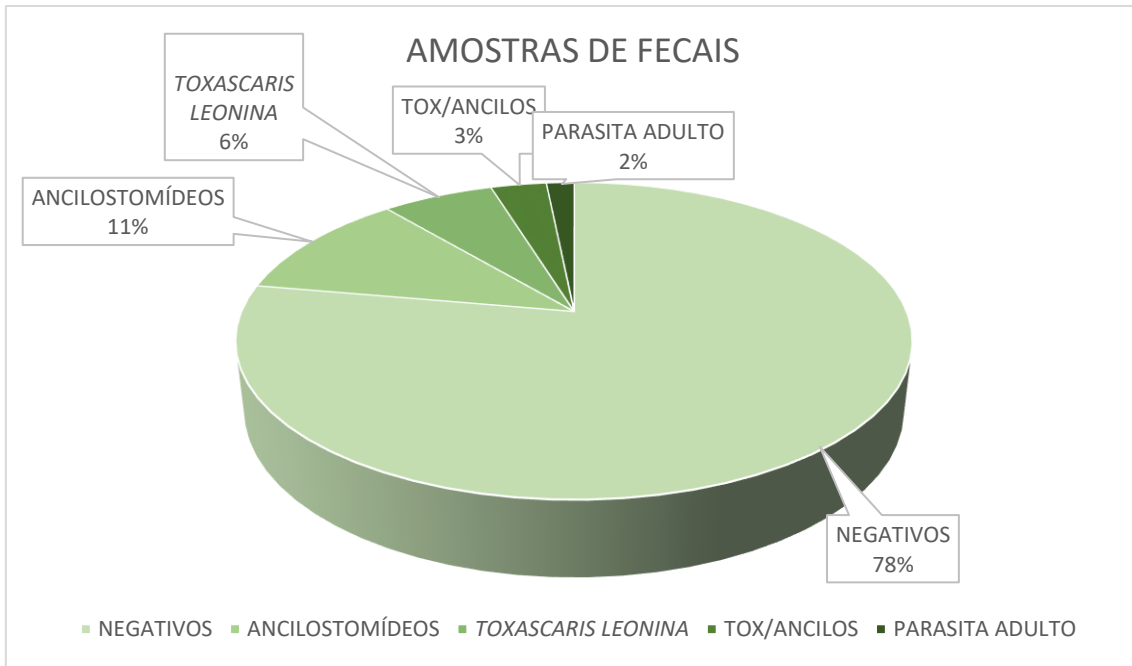


FIGURA 31: RESULTADOS DAS AMOSTRAS FECAIS

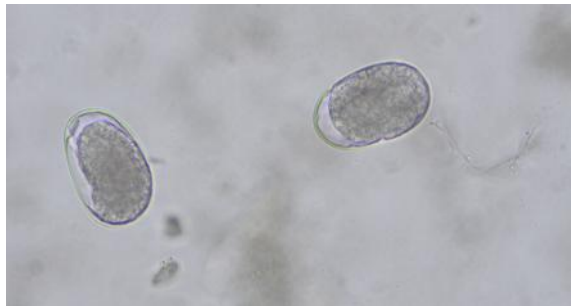


FIGURA 32: OVOS DE ANCILOSTOMÍDEOS



FIGURA 33: OVOS DE ANCILOSTOMÍDEOS E TOXASCARIS LEONINA



FIGURA 34: OVOS DE TOXASCARIS LEONINA

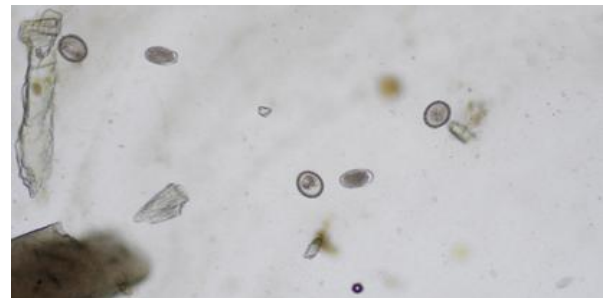


FIGURA 35: OVOS DE ANCILOSTOMÍDEOS E TOXASCARIS LEONINA

O intervalo das idades dos animais positivos variou entre os 2 meses e os 8 anos, 8 eram machos e 6 pertenciam ao sexo feminino. Apenas dois apresentavam uma condição corporal suficiente, possuindo os restantes uma condição física considerada boa.

No que respeita à alimentação, 3 deles eram alimentados com carne crua (carcaças de animais), 4 faziam uma alimentação com restos da alimentação humana e alguma ração, os restantes alimentavam-se de ração.

Destes, 6 possuíam vacinação trivalente anual em dia, 8 tinham desparasitação interna feita há menos de 1 ano e 7 tinham feito também desparasitação externa.

Todos tinham contacto com outros animais domésticos e 6 deles também mantinham contacto com animais selvagens, 10 tinham acesso às pastagens. Além dos três que eram alimentados com carne crua, outros 3 tinham acesso nos campos a peças de caça. Apenas 5 não tinham local de descanso próprio.

As explorações a que pertenciam os animais positivos estavam situadas na freguesia de Fronteira (10) e na freguesia de S, Saturnino (4), sendo que 2 das explorações eram explorações de caprinos e as restantes de ovinos.

A média de idades dos tutores foi de 45,5 num intervalo entre os trinta e quatro o mais novo e os 75 o mais velho. Sendo que 6 possuíam o ensino secundário, 5 apenas possuíam o ensino primário, 2 não completaram o secundário e 1 possuía habilitações superiores.

5. Discussão

O objetivo principal deste estudo foi avaliar a prevalência dos diferentes gêneros e espécies de parasitas nos cães pastores de explorações pecuárias do concelho de Fronteira e avaliar o risco de transmissão para outras espécies.

Para efetuar as técnicas de pesquisa parasitológicas foram recolhidas 63 amostras de fezes e 53 amostras de sangue e todos os 81 animais passaram por um exame físico minucioso.

No exame físico pesquisou-se ácaros e ectoparasitas tais como pulgas e carraças. Também foi objeto de pesquisa a presença de *Thelazia calippaeda*. Nas amostras de sangue a pesquisa foi baseada na procura de microfilárias, anti-corpos anti-*Leishmania*, *Hepatozoon canis* e *Babesia canis*. Nas fezes a pesquisa consistiu na procura de parasitas gastrointestinais tais como, *Toxocara canis*, *Ancylostoma caninum*, *Taenia* spp.

No exame físico, foram recolhidas amostras de 2 carraças, sendo que apenas estavam com desparasitação externa atualizada 39 caninos dos 81 examinados, no entanto os parasitas recolhidas foram de animais não desparasitados. As desparasitações externas contabilizadas no inquérito foram apenas as que estavam averbadas por médico veterinário no cartão de saúde dos animais, no entanto sabemos que muitos dos pastores aplicam produtos desparasitantes dos ruminantes nestes, por exemplo deltametrina e ivermectina, o que pode justificar a ausência de ectoparasitas. Outra justificação pode ter a ver com o período de maior quantidade de recolhas de amostras ter acontecido entre outubro e abril, altura do ano em que os parasitas apresentam menor atividade (Silva et al., 2006). Os tutores deveriam ser elucidados para a importância da desparasitação visto que as carraças estão associadas à transmissão ao Homem e a outros vertebrados, de agentes patogénicos responsáveis por várias doenças infecciosas como rickettsioses, borrelioses, ehrlichioses, tularémia, arboviroses, babesioses, entre outras (Silva et al., 2006)

A presença de sinais de *Thelazia calippaeda* não se confirmou o que não é de todo estranho uma vez que este parasita é encontrado em zonas de pomares, segundo, Vale et al. (2019) e de acordo com vários estudos, *T. callippaeda* surge em áreas adequadas para o desenvolvimento das moscas-das-frutas *Phortica*. Parasitoses do género foram descritos em regiões com frutas em decomposição e plantações de frutas, por exemplo

pomares com macieiras e ameixeiras ou plantações de morangos. No concelho não existem pomares ou plantações de frutas.

Os resultados das pesquisas de hemoparasitoses nos esfregaços sanguíneos e de filárias nas lâminas com a preparação da técnica da gota a fresco, foram negativos. A pesquisa de agentes etiológicos com recurso ao esfregaço sanguíneo quando comparada a outros métodos de diagnóstico, não é tão efetiva, sendo de baixa sensibilidade na fase crónica da doença uma vez que nesta fase a parasitemia é baixa e estes microrganismos são visualizados apenas durante a fase aguda da doença. Além disso, podem ocorrer resultados falso-positivos, já que os patógenos hematológicos podem ser confundidos, na microscopia, com plaquetas, grânulos citoplasmáticos, material nuclear fagocitado e corpúsculos linfoglândular (Araújo et al., 2022). No mesmo trabalho e citando Brandão (2010) o autor realça que é comum serem observados poucos animais positivos nos estudos que optem pelo esfregaço sanguíneo como método de pesquisa.

Quanto à alta prevalência de positivos (50%) no teste MegaFLUO® LEISH e 1 animal suspeito, os resultados vêm de encontro aos dados obtidos em estudos recentes que revelam que Portugal continua a ser um país endémico de leishmaniose, sendo que o distrito de Portalegre está no topo da lista (Almeida et al., 2022). Do total de animais, apenas 1 faz profilaxia com a vacina Letifend® apesar de se saber que a vacina por si só não é eficaz e que é aconselhável completar com repelente para vetores (Morales-Yuste et al., 2022). Quando informados sobre os resultados percebe-se que a maioria dos tutores desconhece os riscos da doença e o seu potencial zoonótico.

Das 63 amostras fecais recolhidas e submetidas a análise através da técnica de flutuação ou de Wills foram obtidos os seguintes resultados, 49 negativos (78%), 7 positivos para ancilostomídeos (11%), 4 positivos para *Toxascaris leonina* (6%), 3% apresentavam infeção mista por *Toxascaris* e ancilostomídeos, e numa amostra foi encontrado uma um parasita adulto, o que contabiliza 22% de amostras positivas. Relembramos que Segundo Nunes (2021), a técnica de Willis-Mollay, é eficaz no diagnóstico qualitativo de ovos de helmintes e oocistos de protozoários. Embora os testes de flutuação fecal tenham sido amplamente utilizados em estudos parasitológicos, a precisão da técnica varia dependendo do procedimento empregado. A flutuação fecal não é confiável para detetar ovos de muitas das ténias (Robertson et al., 2000; Dantas-Torres & Otranto, 2014). Por essa razão não terem sido encontrados outros parasitas o que não invalida que não

estivessem presentes nas amostras. Outras razões para resultados de fezes falsos negativos são para além do uso de técnicas de diagnóstico inadequadas, o uso de fezes insuficientes e manuseio feito de forma inadequada (Robertson et al., 2000).

Em 2014 foi realizado um levantamento de parasitas intestinais em cães com recurso a amostras fecais em explorações de pequenos ruminantes numa região rural em torno de Cantanhede. A prevalência mais alta foi Ancylostomidae de 40,9% (Cardoso et al., 2014). Apesar de ser mais baixa a percentagem (11%) também os ancilostomídeos foram os parasitas com maior prevalência no presente estudo.

Também Carvalho (2021), num levantamento em alguns concelhos do distrito de Portalegre (distrito onde foi realizado o presente trabalho), concluiu que a prevalência global de parasitismo gastrointestinal foi de 14,0%, sendo a espécie de parasita mais prevalente pertencente à família Ancylostomatidae (10,8%).

Dos animais desparasitados (8 tinham desparasitação interna e 7 fizeram também desparasitação externa), alguns apresentavam parasitas. Em muitos casos o tratamento não é realizado de forma correta, nem com o aconselhamento devido de um profissional (Pereira et al., 2016; Carvalho, 2021) pelo que as infeções não ficam tratadas.

Alerta-se que os PGI identificados têm potencial zoonótico, o que se traduz num risco não só para a saúde animal como também para a saúde humana, pela contaminação ambiental que estes parasitas representam. O meio rural pelas mais diversas razões é o local ideal para a presença, desenvolvimento e disseminação destes e de outros parasitas. Seria importante fazer alguma intervenção junto destes tutores que não frequentam as clínicas veterinárias de forma a ficarem alertas para os perigos. A maioria destes cães, apenas são vacinados com a vacina antirrábica quando o veterinário da exploração executa o saneamento anual ou quando existem na zona companhias antirrábicas. O Programa Nacional de Luta e Vigilância Epidemiológica da Raiva Animal e Outras Zoonoses, em vigor em Portugal, regulamentado pelo Despacho nº 1254/2020, estabelece que, nas áreas das Direções de Serviços de Alimentação e Veterinária das Regiões do Alentejo e do Algarve, das Divisões de Alimentação e Veterinária de Castelo Branco e da Guarda e nos concelhos de Vinhais e de Mação, o médico veterinário executor da campanha antirrábica anual administre aos canídeos que se apresentem uma dose de comprimidos antiparasitários contra *Echinococcus granulosus* e que forneça aos tutores uma segunda dose para outra administração 2 meses depois. O mesmo despacho também

determina que sempre que se apresente um animal com suspeitas de doença contagiosa com potencial zoonótico, como leishmaniose, sarnas e dermatofitoses o tutor seja notificado pelo médico veterinário para a realização de testes de diagnóstico e que lhe seja indicado o tratamento dos animais (DR, 2020).

A maioria dos tutores possuía apenas o ensino primário ou secundário incompleto, o que pode refletir-se na falta de conhecimento sobre zoonoses e cuidados com os animais.

A idade média dos tutores era de 59,6 anos, o que pode dificultar a adoção de medidas preventivas.

6. Conclusões

A presença de cães em explorações pecuárias é bastante comum, sendo, portanto um achado raro uma propriedade isenta dessa espécie animal.

Os animais desempenham um papel crucial na gestão do rebanho, mas podem estar expostos a uma variedade de parasitas com potencial zoonótico.

O rastreio parasitológico regular em cães pastores de explorações pecuárias é uma prática crucial para garantir a saúde animal, proteger o rebanho e prevenir zoonoses. Estes animais, devido à sua constante exposição ao ambiente externo e ao contato com outros animais, são suscetíveis a uma variedade de parasitas internos e externos.

Um rastreio parasitológico regular permite, identificar diferentes parasitas na população canina da exploração, permite a deteção precoce desses parasitas permitindo assim o tratamento no tempo devido evitando complicações graves, previne surtos, reduz o risco de transmissão de doenças parasitárias entre animais e para o homem, garante qualidade da produção animal, proteção da saúde do rebanho e garante qualidade dos produtos de origem animal.

O rastreio regular torna-se importante, para a saúde animal ao prevenir doenças parasitárias que podem levar a debilidade e até morte, para a segurança do rebanho ao reduzir o risco de transmissão de parasitas, para o gado o que se traduz na saúde e produtividade e para a saúde pública ao prevenir zoonoses. Animais parasitados são animais menos produtivos.

Devem ser adotadas medidas preventivas em relação aos cães pastores tais como:

- Administração regular de antiparasitários
- Controle de vetores (ex: pulgas, carraças)
- Limpeza e desinfecção regular do ambiente
- Exames veterinários periódicos

A implementação de um programa de rastreio regular, em conjunto com medidas de prevenção, é fundamental para manter a saúde e o bem-estar dos animais, do rebanho e da comunidade.

7. Bibliografia

- Aguiar, M. C. C. M. de. (2011). Estudo comparativo das alterações clínicas e laboratoriais em canídeos mono-infectados com *Leishmania infantum* versus canídeos co-infectados com *Leishmania infantum* e com *Babesia canis*, *Ehrlichia canis* e/ou *Rickettsia conorii* [bachelorThesis, Universidade Técnica de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária].
<https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/3544?locale=en>
- Almeida, M., Maia, C., Cristóvão, J. M., Morgado, C., Barbosa, I., Ibars, R. F., Campino, L., Gonçalves, L., & Cortes, S. (2022). Seroprevalence and Risk Factors Associated with *Leishmania* Infection in Dogs from Portugal. *Microorganisms*, 10. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112262>
- Alvar, J., Cañavate, C., Molina, R., Moreno, J., & Nieto, J. (2004). Canine Leishmaniasis. Em *Advances in Parasitology* (Vol. 57, pp. 1–88). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(04\)57001-X](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(04)57001-X)
- Aoki, V., Sousa Jr, J. X., Fukumori, L. M. I., Périgo, A. M., Freitas, E. L., & Oliveira, Z. N. P. (2010). Imunofluorescência direta e indireta. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 85, 490–500.
<https://doi.org/10.1590/S0365-05962010000400010>
- Araújo, R. de, Araújo, R. R. de, Santos, H. S. P., Silva, S. B., Leal, S. M. S., Araújo, E. M., Barbosa, B. de J., Santos, H. O., Santana, J. L. de S., Mourão, A. P. M. de S., Barros, N. C. B., & Cardoso, J. de F. S. (2022). Avaliação diagnóstica das hemoparasitoses em cães: Revisão. *Pubvet*, 16.
<https://doi.org/10.31533/pubvet.v16n10a1237.1-16>
- Arruda, A. A., Bresciani, K. D. S., Werner, S. S., & Silva, B. F. da. (2023). Occurrence of gastrointestinal parasites in dogs in a rural area of Santa Catarina, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 32, e005723. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612023061>
- Baneth, G., & Solano-Gallego, L. (2022). Leishmaniasis. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 52(6), 1359–1375. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2022.06.012>
- Barros, A. S. D. (2022). Pulgas do gênero *Ctenocephalides*: Revisão. *Pubvet*, 16.
<https://doi.org/10.31533/pubvet.v16n07a1168.1-4>
- Berenguer, L. K. A. R., Gomes, C. F. C. de A., Santos, J. F. dos, & Oliveira, J. B. (2021). PARASITOS GASTROINTESTINAIS DE CANINOS E FELINOS: UMA QUESTÃO DE SAÚDE PÚBLICA. *Archives of Veterinary Science*, 26. <https://doi.org/10.5380/avs.v26i2.77520>

- Bitam, I., Dittmar, K., Parola, P., Whiting, M. F., & Raoult, D. (2010). Fleas and flea-borne diseases. *International Journal of Infectious Diseases*, 14(8), e667–e676.
<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2009.11.011>
- Bublitz, G. S., Serapião, M. J., Roberge, V. D., Coelho, K. M. de P. A., & Serapião, C. J. (2012). Dirofilariose humana em Joinville-SC: Avaliação clinicopatológica dos primeiros casos relatados na região Sul. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 48, 383–389.
<https://doi.org/10.1590/S1676-24442012000500012>
- Campillo, M. C., Vazquez, F. A. R., Fernandez, S. H., & Lopez-Cozar, I. N. (1999). *Parasitología Veterinaria*. (1ª Edição).
- Cardoso, A. S., Costa, I. M. H., Figueiredo, C., Castro, A., & Conceição, M. a. P. (2014). The occurrence of zoonotic parasites in rural dog populations from northern Portugal. *Journal of Helminthology*, 88(2), 203–209. <https://doi.org/10.1017/S0022149X13000047>
- Carvalho, M. L. (2021). Parasitismo gastrointestinal e respiratório em cães de trabalho, de companhia e de alojamentos sem fins lucrativos no distrito de Portalegre [masterThesis, Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária]. <https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/21606>
- CDC - DPDx—Toxocaríase. (2019, julho 9). <https://www.cdc.gov/dpdx/toxocarisis/index.html>
- Dantas-Torres, F. (2010). Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasites & Vectors*, 3(1), 26. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-3-26>
- Dantas-Torres, F. (2020). Toxocara prevalence in dogs and cats in Brazil. Em *Advances in Parasitology* (Vol. 109, pp. 715–741). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2020.01.028>
- Dantas-Torres, F., & Otranto, D. (2014). Dogs, cats, parasites, and humans in Brazil: Opening the black box. *Parasites & Vectors*, 7, 22. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-22>
- Dantas-Torres, F., & Otranto, D. (2016). Best Practices for Preventing Vector-Borne Diseases in Dogs and Humans. *Trends in Parasitology*, 32(1), 43–55. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2015.09.004>
- Despacho n.º 1254/2020 | DR. (sem data). Obtido 3 de fevereiro de 2024, de <https://diariodarepublica.pt/dr/detalhe/despacho/1254-2020-128571991>
- Equinococose/hidatidose – DGAV. (2014). <https://www.dgav.pt/animais/conteudo/animais-de-companhia-2/saude-animal/zoonoses-doencas-transmissiveis-ao-homem/equinococose-hidatidose/>
- ESCCAP. (2021). <https://www.esccap.org/guidelines/>

- Félix, L. I. B. (2015). Parasitoses gastrointestinais e cardiopulmonares em cães: Estudo epidemiológico em canis de Portugal Continental [masterThesis, Universidade de Lisboa. Faculdade de Medicina Veterinária]. <https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/8791>
- Ferrari, M. L., Prado, M., & Spiglon, Z. (2008, janeiro). SARNA SARCÓPTICA EM CÃES. <https://faef.revista.inf.br/site/a/821-sarna-sarcoptica-em-caes.html>
- Greek JS & Kuhl KA. (2015). Consulta Veterinária em 5 minutos, Cães e gatos.pdf. SlideShare. <https://pt.slideshare.net/slideshow/consulta-veterinria-em-5-minutos-ces-e-gatospdf/265200232>
- Guidelines | ESCCAP Portugal. (sem data). Obtido 22 de setembro de 2024, de <https://www.esccapportugal.pt/page/Guidelines/2/>
- Hofing, G. L., & Kraus, A. L. (1994). Artrópodes e Helminthos Parasitas*. Em P. J. Manning, D. H. Ringler, & C. E. Newcomer (Eds.), *The Biology of the Laboratory Rabbit (Second Edition)* (pp. 231–257). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-469235-0.50017-8>
- Homepage | ESCCAP. (2024). <https://www.esccap.org/>
- Humbert, B., Traina, O., & Magnol, J. (2005). *Otodectes cynotis*: Multiple features ectoparasitism. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20053170948>
- Im, K., Mareninov, S., Diaz, M. F. P., & Yong, W. H. (2019). An Introduction to Performing Immunofluorescence Staining. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.), 1897, 299–311. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8935-5_26
- Juárez, J., & Sevilla, V. (2018). Diagnóstico y tratamiento de dirofilariasis (*Dirofilaria immitis*) en un paciente canino positivo en Managua por las técnicas de Inmuncromatografía, Tincion Diff-Quick® y observación al fresco [Bachelor, Universidad Nacional Agraria]. <https://repositorio.una.edu.ni/3704/>
- Kazlov, B. (1962). The life-cycle of the nematode, *Thelazia callipaeda* parasitic in the eye of man and carnivores. *Doklady Akademii Nauk Sssr*, 732–733.
- Kit-Coloracao-URANO.pdf. (sem data). Obtido 30 de agosto de 2024, de <https://assets.ams3.digitaloceanspaces.com/campifarma/2021/05/24/153944/Kit-Coloracao-URANO.pdf>
- Koutinas, A. F., & Koutinas, C. K. (2014). Pathologic Mechanisms Underlying the Clinical Findings in Canine Leishmaniosis due to *Leishmania infantum*/chagasi. *Veterinary Pathology*. <https://doi.org/10.1177/0300985814521248>

- Little, S. E., & Cortinas, R. (2023). Mites [of Dogs and Cats].
<https://digitalcommons.unl.edu/vetscipapers/430>
- Lusa, F. T., & Amaral, R. V. do. (2010). Demodicose canina. *Pubvet*, 4(24).
<https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/2529>
- Macedo, L. O. de, Santos, M. A. B., Santana, B. B. de, Pereira, T. A., Silva, N. M. M. da, Alves, L. C., Ramos, R. A. N., & Carvalho, G. A. de. (2019). Parasites with zoonotic potential in canine fecal samples from Garanhuns, Pernambuco, Brazil. *Medicina Veterinária (UFRPE)*, 13(2), 227.
<https://doi.org/10.26605/medvet-v13n2-3074>
- Maia, C., Catarino, A. L., Almeida, B., Ramos, C., Campino, L., & Cardoso, L. (2016). Emergence of *Thelazia callipaeda* Infection in Dogs and Cats from East-Central Portugal.
<https://doi.org/10.1111/tbed.12284>
- Martins, M., Isabella Vilhena Freire. (2020). *Parasitologia veterinária*. Edufes.
<http://repositorio.ufes.br/handle/10/11421>
- Mateus, T. L., Castro, A., Ribeiro, J. N., & 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).
<https://doi.org/10.3390/ijerph110909050>
- Mateus, T. L., & Vieira-Pinto, M. (2015). Novos tempos, velhas doenças: Equinococose/hidatidose, uma zoonose a respeitar! | Portal Agronegócios.eu. <http://www.agronegocios.eu/noticias/novos-tempos-velhas-doencas-equinococose-hidatidose-uma-zoonose-a-respeitar/>
- Morales-Yuste, M., Martín-Sánchez, J., & Corpas-Lopez, V. (2022). Canine Leishmaniasis: Update on Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Veterinary Sciences*, 9.
<https://doi.org/10.3390/vetsci9080387>
- Noack, S., Harrington, J., Carithers, D. S., Kaminsky, R., & Selzer, P. M. (2021). Heartworm disease – Overview, intervention, and industry perspective. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 16, 65. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2021.03.004>
- Nunes, G. D. L. (Ed.). (2021). *PARASITOLOGIA VETERINÁRIA*. Editora Inovar.
<https://doi.org/10.36926/editorainovar-978-65-80476-66-4>

- O'Dwyer, L. H. (2011). Life Cycle of Hepatozoon canis in the Tick Rhipicephalus sanguineus. <https://www.semanticscholar.org/paper/Life-Cycle-of-Hepatozoon-canis-in-the-Tick-O%E2%80%99Dwyer/dffa9c160b7733b5eb47e9e7be2408a8ef3b640e>
- Oliveira-Neto, R. R., de Souza, V. F., Gubulin Carvalho, P. F., & Rodrigues Frias, D. F. (2018). [Level of knowledge on zoonoses in dog and cat owners]. *Revista De Salud Publica (Bogota, Colombia)*, 20(2), 198–203. <https://doi.org/10.15446/rsap.V20n2.68155>
- Oliveira, J. C. P., Oliveira, W. S. M., Brito, R. S., Lima, T. a. R. F., Giannelli, A., Carvalho, G. A., & Ramos, R. a. N. (2021). Ectoparasites infesting animals living in close contact with human beings: A real trouble for One Health perspective? *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 73, 55–61. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-12084>
- Opazo, A., Barrientos, C., María Sanhueza, A., Urrutia, N., & Fernández, I. (2019). Fauna parasitaria en caninos (*Canis lupus familiaris*) de un sector rural de la región central de Chile. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30(1), 330–338. <https://doi.org/10.15381/rivep.v30i1.15683>
- Pereira, A., Martins, Â., Brancal, H., Vilhena, H., Silva, P., Pimenta, P., Diz-Lopes, D., Neves, N., Coimbra, M., Alves, A. C., Cardoso, L., & Maia, C. (2016). Parasitic zoonoses associated with dogs and cats: A survey of Portuguese pet owners' awareness and deworming practices. *Parasites & Vectors*, 9(1), 245. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1533-2>
- Pinto, C. (2019, junho 27). A parasitologia por região: Saiba quais os parasitas mais frequentes no país. <https://www.veterinaria-atual.pt/na-clinica/a-parasitologia-por-regiao-saiba-quais-os-parasitas-mais-frequentes-no-pais/>
- PO-Guidelines.pdf. (sem data). Obtido 2 de maio de 2022, de <https://www.leishvet.org/wp-content/uploads/2018/09/PO-Guidelines.pdf>
- Robertson, I. D., Irwin, P. J., Lymbery, A. J., & Thompson, R. C. A. (2000). The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. *International Journal for Parasitology*, 30(12), 1369–1377. [https://doi.org/10.1016/S0020-7519\(00\)00134-X](https://doi.org/10.1016/S0020-7519(00)00134-X)
- Rodrigues, D., Alencar, D. F., & Medeiros, B. L. do N. (2016). Dipilidiose em cães—Relato. *Pubvet*, 10. <https://doi.org/10.22256/pubvet.v10n3.197-199>

- Rodrigues, R. D., Souza, R. R. D., Silva, M. V. A. D., & Toledo, J. C. (2012b). Demodicose canina: Relato de caso. *Pubvet*, 6(7). <https://doi.org/10.22256/pubvet.v16n7.1304>
- Rohdich, N., Meyer, L., & Guerino, F. (2022). Fluralaner 5.46% (w/w) flavored chewable tablet (Bravecto® I-Month) is effective for treatment of canine generalized demodicosis. *Parasites & Vectors*, 15(1), 83. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05213-x>
- Rotondano, T. E. de F., Almeida, H. K. A., Krawczak, F. da S., Santana, V. L., Vidal, I. F., Labruna, M. B., Azevedo, S. S. de, Almeida, A. M. P. de, & Melo, M. A. de. (2015). Survey of Ehrlichia canis, Babesia spp. And Hepatozoon spp. In dogs from a semiarid region of Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 24, 52–58. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612015011>
- Rousseau, J., Castro, A., Novo, T., & Maia, C. (2022). Dipylidium caninum in the twenty-first century: Epidemiological studies and reported cases in companion animals and humans. *Parasites & Vectors*, 15. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05243-5>
- Rusinà, A., & Zancanaro, G. (2023). Annual assessment of Echinococcus multilocularis surveillance reports submitted in 2023 in the context of commission delegated regulation (EU) 2018/772. *EFSA Journal*, 21(8), e08204. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.8204>
- Sáez, V. D., Morillas-Márquez, F., Merino-Espinosa, G., Corpas-López, V., Morales-Yuste, M., Pesson, B., Barón-López, S., Lucientes-Curdi, J., & Martín-Sánchez, J. (2018). Phlebotomus langeroni Nitzulescu (Diptera, Psychodidae) a new vector for Leishmania infantum in Europe. *Parasitology Research*, 117(4), 1105–1113. <https://doi.org/10.1007/s00436-018-5788-8>
- Santos, N. S., de Pinho, F. A., Hlavac, N. R. C., Nunes, T. L., Almeida, N. R., Solcà, M. S., Varjão, B. M., Portela, R. W., Rugani, J. N., Rêgo, F. D., Barrouin-Melo, S. M., & Soares, R. P. (2021). Feline Leishmaniasis Caused by Leishmania infantum: Parasite Sequencing, Seropositivity, and Clinical Characterization in an Endemic Area From Brazil. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, 734916. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.734916>
- Santos, K. R. dos, Ciro, E. R., Miranda, L. da S. R., Lino, M. N., & Sousa Júnior, S. C. de. (2020). Comparação entre três técnicas coproparasitológicas na investigação de parasitos intestinais de seres humanos. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, 52, e3521. <https://doi.org/10.25248/reas.e3521.2020>

- Santos, M., Silva, R. A. da, & Antunes, S. C. (2018). Artrópodes. *Revista de Ciência Elementar*, 6.
<https://doi.org/10.24927/rce2018.042>
- Sevá, A. da P., Chiebao, D. P., Brandão, A. P. D., Godoy, S. N., Jimenez-Villegas, T., Pena, H. F. J., & Ferreira, F. (2020). Seroprevalence and incidence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* infection in naturally exposed domestic dogs from a rural area of São Paulo state, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 29. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612020053>
- Silva, J. de S. M. da. (2018). Caracterização clínica e epidemiológica da dirofilariose cardiopulmonar canina no concelho de Benavente, Portugal [masterThesis, Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária]. <https://www.repository.utl.pt/handle/10400.5/16472>
- Silva, O. A. da, & Braga, G. M. da S. (2010). O papel do *Rhipicephalus sanguineus* na transmissão da Leishmaniose Visceral Canina: Aspectos epidemiológicos. *Pubvet*, 4.
<https://ojs.pubvet.com.br/index.php/revista/article/view/2524>
- Silva, J., Santos, J., & Lavina, M. (2017). ECTOPARASITOS EM CÃES DE ÁREAS PERI-RURAI DO MUNICÍPIO DE RIO BRANCO, ACRE, AMAZÔNIA OCIDENTAL | ENCICLOPEDIA BIOSFERA. <https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/709>
- Silva, M., Santos, A. S., Formisinhos, P., & Bacellar, F. (2006). Carraças associadas a patologias infecciosas em Portugal. *Acta Médica Portuguesa*, 19. <https://doi.org/10.20344/amp.907>
- Spegiorin, R., & Durlo, T. P. (2019). Sarna demodéica em cão adulto: Relato de caso. *Pubvet*, 13(5), 1–4. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n5a322.1-45>
- Taenzler, J., Liebenberg, J., Roepke, R. K. A., Frénais, R., & Heckerroth, A. R. (2016). Efficacy of fluralaner administered either orally or topically for the treatment of naturally acquired *Sarcoptes scabiei* var. *Canis* infestation in dogs. *Parasites & Vectors*, 9. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1670-7>
- Thomson, P., Carreño, N., & Núñez, A. (2023). Main mites associated with dermatopathies present in dogs and other members of the Canidae family. *Open Veterinary Journal*, 13.
- Troccap. (2019). <https://www.troccap.com/>
- Ubirajara Filho, C. R. C., Santos, K. K. F., Lima, T. a. R. F., Alves, L. C., Carvalho, G. A., & Ramos, R. a. N. (2022). Gastrointestinal parasites in dogs and cats in line with the One Health' approach. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 74, 43–50.
<https://doi.org/10.1590/1678-4162-12355>

Umhang, G., Richomme, C., Bastid, V., Boucher, J.-M., Garam, C. P. de, Itié-Hafez, S., Danan, C., & Boué, F. (2020). National survey and molecular diagnosis of *Echinococcus granulosus sensu lato* in livestock in France, 2012. *Parasitology*, 147(6), 667.

<https://doi.org/10.1017/S0031182020000190>

Vale, B., Lopes, A. P., da Conceição Fontes, M., Silvestre, M., Cardoso, L., & Coelho, A. C. (2019). Thelaziose por *Thelazia callipaeda* na Europa no século 21 – Uma revisão. *Veterinary Parasitology*, 275, 108957. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.108957>

Veloso, A. R. (2013). Pesquisa de *Coxiella burnetii* em ixodídeos capturados em parques urbanos de Lisboa [Universidade de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária].
[file:///C:/Users/utilizador/Downloads/Pesquisa%20de%20Coxiella%20burnetii%20em%20ixod%C3%ADdeos%20capturados%20em%20parques%20urbanos%20de%20Lisboa%20\(5\).pdf](file:///C:/Users/utilizador/Downloads/Pesquisa%20de%20Coxiella%20burnetii%20em%20ixod%C3%ADdeos%20capturados%20em%20parques%20urbanos%20de%20Lisboa%20(5).pdf)

Anexos

Anexo I

Questionário

DADOS DO PROPRIETÁRIO

Idade _____ Sexo _____ Escolaridade _____

DADOS DA EXPLORAÇÃO

Marca de Exploração _____

Estatuto sanitário da exploração _____

Espécie pecuária existente _____ Total do efetivo _____

Data do último saneamento _____

Medicamentos utilizados _____

Data da última desparasitação do efetivo _____

Medicamentos utilizados _____

Doenças diagnosticadas _____

Registo de abortos ou nado mortos _____

Qual a taxa de fertilidade? _____

DADOS DO ANIMAL

Nome _____ Idade _____ M/F _____

Raça _____

Condição física de 1 a 5 _____

Alguma doença diagnosticada _____

Esterilizado _____

Tipo de alimentação _____

Vacinação _____ **Data** _____

Desparasitação _____ **Data** _____

Tem contacto com os animais de exploração ou apenas acesso á pastagem

Tipo de recolha

Fezes

Parasitas

Sangue

Citologia

Anexo II

EXAME MACROSCÓPICO

Procedimentos

1- Observar a consistência da amostra. Fezes moles ou líquidas sugerem a possível presença de trofozoítos de protozoários intestinais. Cistos de protozoários são encontrados com mais frequência em fezes formadas. Ovos e larvas de helmintos podem ser encontrados tanto em fezes líquidas quanto em fezes formadas.

2- Examinar a superfície da amostra para observar a presença de proglotes de tênias, ancilostomídeos ou oxiúros adultos, por exemplo.

3- Examinar a amostra fecal com auxílio de um palito (sorvete) para verificar a presença de outros helmintos adultos.

4- Examinar as fezes quanto à presença de sangue e/ou muco.

a) sangue fresco (vermelho vivo) indica hemorragia aguda no trato intestinal.

b) muco sanguinolento sugere ulcerações e uma porção desse material deve, de preferência, ser examinada, ao microscópio, para a procura de trofozoitos.

Os vermes adultos, quando encontrados, devem ser imediatamente examinados e identificados.

As tênias são identificadas especificamente pelo exame das proglotes grávidas. As proglotes devem ser fixadas em formol a 10% e depois clarificadas por imersão em glicerina ou solução de lactofenol (1:1).

Anexo III

Procedimento para técnica de flutuação

1. Colocar ~2 g de fezes em um copo descartável de plástico de boca larga
2. Acrescentar ~4 ml de solução de flutuação ao frasco e misturar bem com fezes
3. Acrescentar mais ~4 ml de solução de flutuação ao frasco e misturar novamente
4. Verter/filtrar essa suspensão fecal através de um coador de chá em um novo frasco
5. Esvaziar o conteúdo do frasco em um tubo de ensaio de 10-15 ml apoiado em um rack ou suporte
6. Continuar acrescentando o conteúdo ou completar com solução de flutuação até que se forme um menisco positivo sobre a borda do tubo de ensaio
7. Colocar cuidadosamente uma lamínula (22 x 22 mm) no topo do tubo de ensaio
8. Descansar por 10-15 min
9. Erguer cuidadosamente a lamínula do tubo, com a gota de fluido aderida ao fundo da mesma, e colocar sobre uma lâmina de microscópio
10. Examinar em microscópio com objetiva de 10x para detetar estágios de helmintos e 40x para estágios de protozoários (*Troccap*, 2019)

Anexo IV

Procedimento de coloração

5- Deixar a lâmina secar com a amostra ao ar, sem usar qualquer papel ou tecido de modo a evitar a introdução de partículas estranhas ou "artefactos".

6- Colocar a lâmina ou as lâminas (até 3) no cesto de suporte.

7- Inserir o cesto no recipiente 1 (solução fixadora) durante 5-10 segundos. Retirar e deixar escorrer.

8- Inserir o cesto no recipiente 2 (solução de coloração vermelha) durante 5-10 segundos. Retirar e deixar escorrer.

9- Inserir o cesto no recipiente 3 (água) durante pelo menos 15 segundos, como passo intermédio para lavar a amostra e evitar que as soluções vermelha e azul se misturem. De acordo com as preferências do Médico Veterinário, pode-se passar diretamente da solução de coloração vermelha para a solução de coloração azul sem passar por água.

10- Inserir o cesto no recipiente 4 (solução de coloração azul) durante 5-10 segundos. Retirar e deixar escorrer.

11- Lavar a amostra novamente no recipiente 5 (água) durante 15 segundos

12- Após este último passo, alguns veterinários, preferem fazer outra lavagem adicional com água destilada para eliminar completamente os restos do corante.

Quando se utilizam corantes envelhecidos, misturados ou contaminados, os tempos de coloração devem ser prolongados. No entanto, a utilização de corantes novos ou com muito pouco uso permite obter uma coloração de melhor qualidade. (*Kit-Coloracao-URANO.pdf*, sem data)

Versión 01/2021

MegaFLUO® LEISH ad us. vet.

Diagnóstico *in vitro*

Testkit para la detección indirecta semicuantitativa mediante inmunofluorescencia de anticuerpos IgG específicos contra *Leishmania infantum* en plasma o suero del perro

INSTRUCCIONES DE USO



8912 Hörbranz – AUSTRIA

1. INFORMACIÓN DEL KIT DE ANÁLISIS

CONTENIDO

1 Kit de análisis MegaFLUO® LEISH contiene:

- 10 portaobjetos recubiertos con *Leishmania infantum*
- 1 frasco cuantitativo con 3,0 ml FLUO FITC conjugado IgG anti-canino
- 1 frasco cuantitativo con 0,5 ml control positivo
- 1 frasco cuantitativo con 0,5 ml control negativo
- 1 frasco cuantitativo con 3,0 ml medio de montaje
- 1 instrucciones de uso

MATERIAL DE LA MUESTRA

Suero o plasma

ALMACENAMIENTO Y DURABILIDAD

- La temperatura de almacenamiento para el test-kit es de +2-8°C
- Los kits de prueba pueden ser utilizados durante 12 meses después de la fecha de fabricación.
- Las distintas temperaturas de almacenamiento indicadas en las etiquetas de los componentes, indican su almacenamiento para compras de los componentes individuales (+ otra fecha de vencimiento).

NECESARIA, PERO NO LOS MATERIALES DEL KIT DE ENSAYO SIEMPRE

PBS (solución salina tamponada con fosfato) pH 7,2 a 7,4, recipiente para el lavado de PBS, tubos para diluciones de suero, micropipetas, 24x40 mm cubreobjetos, microscopio de fluorescencia con el sistema de filtro para FITC (fluorescencia, la longitud de onda de excitación de 465 a 495, 515 a 555 de filtro de barrera) y 400x magnificación, una incubadora con 37°C, cámara de humedad.

RESPONSABILIDAD

Todo el riesgo relacionado con el uso de este producto es asumido por el comprador. El fabricante no se hace responsable de los daños indirectos, especiales o consecuentes que pueden resultar del uso, la aplicación y evaluación del análisis con este producto.

Mantener fuera del alcance de los niños

2. PRINCIPIO DEL ANÁLISIS

Suero de perro es diluido con PBS (pH 7,2 a 7,4) y se aplica sobre los campos de antígeno del portaobjeto para permitir en el caso de una muestra positiva, una reacción de acople antígeno-anticuerpo a 37°C de temp. Enjuague posterior de anticuerpo no acoplado, con PBS, es decir que los acoplos no específicos en el suero, son lavados. En el siguiente paso, se aplica el FLUO conjugado FITC IgG anti-canino, que se acopla a los complejos antígeno-anticuerpo. Después de un período de incubación de 30 minutos, el conjugado no unido se elimina por lavado con PBS. Por último, los campos de antígeno se cubren con el medio de montaje y el portaobjeto queda así protegido. La evaluación se realiza mediante el uso de un microscopio de fluorescencia (sistema de filtro para FITC) a 400x de magnificación.

3. PRECAUCIONES

- Asegúrese del uso exacto de los componentes del kit, solo así está garantizada de forma segura el resultado para cada muestra.
- Para cada dilución de la muestra debe utilizar una nueva punta de pipeta.
- El conjugado es fotosensible y sensible al calor, por lo que se debe almacenar hasta antes de la prueba en la oscuridad y a 2-8°C de temperatura.
- El conjugado contiene azul de Evans como colorante, que es potencialmente cancerígeno. El contacto con la piel o la ingestión deben ser evitados.
- El material de la muestra y los portaobjetos deben considerarse potencialmente infecciosos y deben ser desechados de acuerdo con las estipulaciones vigentes en cada país una vez concluida la prueba.

4. INFORMACIÓN ADICIONAL IMPORTANTE PARA LA EVALUACIÓN DE LA PRUEBA

Seroprevalencia

El límite puede variar según la región y el origen de la muestra (según la prevalencia y el estado endémico). Por lo tanto, se recomienda que cada laboratorio establezca el cut-off individual.

Una infección aguda (Incremento de 2 a 4 veces en título: "seroconversión") sólo se puede determinar por el título de un par de suero (2 muestras a intervalos de 2-3 semanas).

Además, los resultados de la prueba siempre deben interpretarse junto con la anamnesis, la clínica y los parámetros de laboratorio adicionales.

Posibles reacciones cruzadas

Debido a su similitud inmunológica con el *Trypanosoma cruzi*, son posibles resultados de resultados potencialmente falsos positivos (antígeno reacciones cruzadas) en sueros de América del Sur y Central.

5. PROCEDIMIENTO

1. Los componentes del kit de ensayo (excepto el conjugado!) y los sueros de prueba se deben encontrar en el momento de la aplicación a temperatura ambiente.
2. Hacer diluciones apropiadas (por ejemplo, 1:50 y 1:100) con PBS para atrás con todos los sueros de prueba. Para sueros detectados como positivos en una prueba anterior, es aconsejable preparar diluciones en serie 2 veces con PBS con el fin de determinar el título final (= más alto, sin embargo, la dilución positiva).
3. Retire el portaobjeto cuidadosamente del sobre de aluminio y colocarlo en la cámara de humedad. Colocar a cada gota 1 de (20 µl) de controles positivos y negativos en los campos de antígeno por separado. Pipeta de cada dilución de suero también 20 µl para separar campos de antígeno (fig. 1). Asegúrese de que los campos de antígeno se humedezcan por completo.
4. Incubar durante 30 minutos a una temperatura de 37°C.
5. Etapa de lavado: Toque en las soluciones de suero suavemente y remover los portaobjetos durante 5 minutos en PBS. Repita este paso para otros 5 minutos en PBS fresco. A continuación, enjuagar recomienda el portaobjetos con agua destilada. Golpear suavemente el exceso de agua y secar la humedad con cuidado con papel absorbente o un hisopo de algodón el revestimiento de teflón entre los campos con el antígeno. Cuida que los campos de antígeno no se sequen!
Si utiliza un frasco para lavar, no dirigir el chorro directamente sobre los campos de antígeno.
6. Abrir la cámara húmeda y gotear inmediatamente en cada campo de antígeno utilizado, 1 gota FLUO FITC conjugado IgG anti-canino como en la (fig. 2). Asegúrese de que los campos de antígeno se humedezcan por completo.
7. Incubar durante 30 minutos a una temperatura de 37°C y en oscuridad, con el fin de proteger al conjugado que es fotosensible.
8. Repetir nuevamente la etapa de lavado, como se describe en el paso 5.
9. Aplique unas gotas de medio de montaje sobre el cubreobjetos y colócalo cuidadosamente sobre los campos de antígeno del portaobjeto utilizado. Tratar de exprimir las burbujas de aire, suavemente.
10. Evaluar los portaobjetos bajo un microscopio de fluorescencia a 400x magnificación (fig. 3) mediante la comparación de los patrones de fluorescencia de las muestras con los del control positivo o negativo.
11. Portaobjetos así sellados pueden ser almacenados 7 días a 2-8°C, en la oscuridad.

6. EVALUACIÓN

Para la evaluación se requiere un microscopio de fluorescencia con un sistema de filtro para FITC (excitación de longitud de onda 465-495, 515-555 filtro de corte) y es una magnificación de 400x.

Las imágenes de fluorescencia (forma, densidad, etc.) de los controles negativo y positivo generalmente se usan como imágenes de referencia. ¡Los patrones de reacción desviados son inespecíficos, es decir negativos!

Imagen de fluorescencia positiva ≥ 1:100
La *Leishmania* muestra una fluorescencia amarillo verdosa clara en la membrana y el área del flagelo.

Si recomienda que las muestras positivas se diluyan adicionalmente para determinar el título final (= más alto, la dilución es positiva).

Imagen de fluorescencia negativa < 1:100
La *Leishmania* (membrana, flagelo) muestra una ligera fluorescencia amarillo-verde.

Imagen de fluorescencia positiva < 1:100
La *Leishmania* no muestra fluorescencia amarillo verdosa, Ison de color rojo grisáceo!

Reacción fluorescente inespecífica
Una intensa fluorescencia de *Leishmania* pequeña (< 5%) pequeña y fuertemente doblada, con flagelos truncados o faltantes, en medio de promastigotos no fluorescentes de forma normal, se consideran reacciones inespecíficas y, por lo tanto, negativas.

Las ilustraciones se pueden encontrar en <http://www.megacor.at>

SÍMBOLO	EXPLICACIÓN
	Almacenamiento - ver etiqueta
	Para el uso veterinario
	Diagnóstico <i>in vitro</i>
	Seguir las instrucciones de uso detenidamente
	Usar antes de - ver etiqueta
	Número de lote
	No utilizar reactivos de otros kits de análisis, número de lote o pasada la fecha de caducidad.

