



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

PARASITISMO GASTROINTESTINAL EM CÃES FREQUENTADORES DE ESPAÇOS  
PÚBLICOS DA FREGUESIA DE MAFRA, PORTUGAL

MARIA CAROLINA SANTO MACHADO

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho  
Doutora Isabel Maria Soares Pereira da  
Fonseca de Sampaio  
Mestre Telmo Renato Landeiro Pina Nunes

ORIENTADORA:

Doutora Isabel Maria Soares  
Pereira da Fonseca de Sampaio

2019

LISBOA

---





UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

PARASITISMO GASTROINTESTINAL EM CÃES FREQUENTADORES DE ESPAÇOS  
PÚBLICOS DA FREGUESIA DE MAFRA, PORTUGAL

MARIA CAROLINA SANTO MACHADO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho  
Doutora Isabel Maria Soares Pereira da  
Fonseca de Sampaio  
Mestre Telmo Renato Landeiro Pina Nunes

ORIENTADORA:

Doutora Isabel Maria Soares  
Pereira da Fonseca de Sampaio

2019

LISBOA

---

## **Agradecimentos**

À Prof. Doutora Isabel Pereira da Fonseca pela amabilidade demonstrada nos momentos mais difíceis, dedicação, disponibilidade em me ajudar em todas as fases do processo e transmissão de conhecimentos, por aceitar ser minha orientadora e me permitir estagiar no Laboratório de Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da FMV – UL.

À Dra. Lídia Gomes pela ajuda laboratorial em todo estágio, pela paciência demonstrada e pela constante alegria no laboratório.

Aos meus pais, por todo o apoio que me deram, principalmente nas alturas mais difíceis de todo o percurso académico apoiando todas as decisões tomadas, incondicionalmente, mostrando que com dedicação, esforço e determinação tudo é possível.

À minha irmã, pelo apoio constante ao longo de todo este percurso, por ser a melhor amiga nas alturas mais complicadas e nunca duvidar das minhas capacidades dando-me sempre força quando mais precisei.

Ao meu namorado, por estar sempre ao meu lado e me ouvir em todos os momentos, mesmo não percebendo nada do que eu digo, por ser o melhor quando eu mais preciso, realçar o melhor de mim e me ajudar a tomar decisões difíceis nos piores momentos. Sem ele nada seria igual. Principalmente, obrigada pelo amor demonstrado.

À minha amiga Daniela Botelho, por me ajudar em vários processos da presente dissertação, me transmitir os melhores conhecimentos para a realizar, por me ajudar na parte estatística e por me ter apoiado na parte laboratorial. Acima de tudo obrigada por seres quem és e estares sempre presente. Sem ela tudo teria sido bastante mais complicado.

À minha amiga Jéssica Monteiro pela ajuda na tradução para fazer o Abstract, ter amigas inglesas compensa, pelo apoio durante o estágio e por seres quem és.

À Cláudia Acúrcio por me ter apoiado na realização da tese, assim como no trabalho laboratorial, por ser uma grande amiga e estar sempre presente.

À minha grande amiga Vânia Fiúza por ser das melhores amigas que podia ter, nunca sair do meu lado mesmo estando distante, por me apoiar incondicionalmente e ser das

melhores pessoas que já conheci. Sabes o que significas para mim e o quão agradecida estou pelo apoio que me deste e sei que continuarás a dar concerteza.

Ao tio Bruno por todo o apoio, dedicação, carinho e tentativas de me manter calma nos momentos mais stressantes.

## Resumo

### PARASITISMO GASTROINTESTINAL EM CÃES FREQUENTADORES DE ESPAÇOS PÚBLICOS DA FREGUESIA DE MAFRA, PORTUGAL

As parasitoses dos animais de companhia são, cada vez mais relevantes, pelo contacto com o ser humano, que tem vindo a aumentar pelos benefícios tanto psicológicos como físicos que promovem nos seus tutores. Muitas destas parasitoses têm potencial zoonótico, podendo causar doença nas pessoas.

A presente dissertação teve como objetivo principal determinar a prevalência de vários parasitas gastrointestinais através da colheita de fezes de cão em espaços públicos em várias localidades da freguesia de Mafra.

Foram colhidas 130 amostras fecais de cães em 13 locais de recolha, na vila de Mafra e localidades envolventes. Todas foram sujeitas às mesmas técnicas laboratoriais: técnica de flutuação de Willis, técnica de sedimentação natural, técnica de Baermann, esfregaços fecais diretos e após Método da Sedimentação Difásica de Ritchie Modificado corados pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada. As amostras de resultado duvidoso para *Giardia* spp. e/ou *Cryptosporidium* spp. foram sujeitas a teste utilizando kits de imunofluorescência direta. Este estudo evidenciou uma prevalência global de parasitismo de 14,6% (19/130), sendo que os parasitas mais prevalentes foram *Giardia* spp. (8,5%), *Toxocara canis* (2,3%), *Cryptosporidium* spp (2,3%) e *Cystoisospora* spp. (0,8%). Não se constatou relação estatisticamente significativa entre exposição solar e presença de parasitas, assim como não houve relação entre a consistência das fezes com a presença de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. A prevalência global registada foi inferior a outros estudos, porém alguns dos parasitas encontrados têm potencial zoonótico e, por isso, acarretam preocupação ao nível da saúde pública. É, assim, necessário sensibilizar a população para medidas higio-sanitárias a adoptar, iniciando por simples medidas como a recolha de dejectos dos seus animais de estimação.

Palavras-chave: cão, parasitas gastrointestinais, zoonoses, saúde pública, helmintes, protozoários, coprologia, Mafra, Portugal.

## Abstract

### GASTROINTESTINAL PARASITISM IN DOGS THAT FREQUENT PUBLIC SPACES OF MAFRA, PORTUGAL

### GASTROINTESTINAL PARASITISM IN DOGS FREQUENTING PUBLIC SPACES IN MAFRA, PORTUGAL

Parasitic diseases in pets are becoming more important mainly due to the closest contact between animals and their owners although several benefits, both psychological and physical, are acquired.

Many of these parasites have zoonotic potential and may cause problems in the human population.

The primary aim of this study was to determine the prevalence of several gastrointestinal parasites through the collection of dog feces in public spaces in Mafra. A total of 130 fecal samples of dogs were collected at 13 collection sites in the village of Mafra and surrounding localities. All of them were subjected to the same laboratory techniques: flotation technique (Willis), natural sedimentation technique, Baermann technique, direct faecal smear and stained with the Ziehl-Neelsen modified technique after the modified Ritchie's diphasic sedimentation method. The present study revealed an overall prevalence of parasitism of 14.6% (19/130) being the prevalent parasites *Giardia* sp. (8.5%), *Toxocara canis* (2.3%), *Cryptosporidium* sp. (2.3%) and *Cystoisospora* sp. (0.8%). There was no statistically significant relationship between sun exposure and presence of parasites, nor was there any relation between the consistency of the feces and the presence of *Giardia* sp. and *Cryptosporidium* sp. The prevalence recorded was lower than other existing studies, however some of the parasites found have zoonotic potential and, therefore, are of concern to the public health.

Hygienic-sanitary measures should be adopted, such as the collection of pets feces from the soil, being of utmost importance to sensitize the population for the danger of zoonotic diseases.

Key-Words: dogs, gastrointestinal parasites, zoonosis, public health, helminths, protozoan, coprology, Mafra, Portugal.

## Índice Geral

|  |      |
|--|------|
| Agradecimentos .....   | i    |
| Resumo .....   | iii  |
| Abstract .....   | iv   |
| Índice Geral .....   | v    |
| Índice de Figuras .....  | x    |
| Índice de Tabelas .....  | xi   |
| Índice de Gráficos .....   | xii  |
| Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos .....                         | xiii |
| I. Atividades desenvolvidas durante o estágio curricular .....         | 1    |
| 1. IPMA .....  | 1    |
| 2. Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da FMV-UL ..... | 2    |
| II. Introdução .....   | 3    |
| III. Revisão Bibliográfica .....                                       | 4    |
| 1. Nemátodes .....   | 4    |
| 1.1. <i>Toxocara canis</i> .....                                       | 4    |
| 1.1.1. Etiologia .....   | 4    |
| 1.1.2. Ciclo de vida .....   | 5    |
| 1.1.3. Sinais clínicos .....   | 6    |
| 1.1.4. Diagnóstico .....   | 6    |
| 1.1.5. Terapêutica e Profilaxia .....                                  | 8    |
| 1.1.6. Risco Zoonótico .....   | 9    |
| 1.2. <i>Toxascaris leonina</i> .....                                   | 11   |
| 1.2.1. Etiologia .....   | 11   |
| 1.2.2. Ciclo de vida .....   | 12   |
| 1.2.3. Sinais clínicos .....   | 12   |
| 1.2.4. Diagnóstico .....   | 12   |
| 1.2.5. Terapêutica e Profilaxia .....                                  | 13   |
| 1.3. <i>Ancylostoma</i> spp. e <i>Uncinaria stenocephala</i> .....     | 13   |
| 1.3.1. Etiologia .....   | 13   |
| 1.3.2. Ciclo de vida .....   | 13   |
| 1.3.3. Sinais clínicos .....   | 15   |
| 1.3.4. Diagnóstico .....   | 16   |
| 1.3.5. Terapêutica e Profilaxia .....                                  | 17   |
| 1.3.6. Risco Zoonótico .....   | 17   |
| 1.4. <i>Trichuris vulpis</i> .....                                     | 18   |
| 1.4.1. Etiologia .....   | 18   |

|        |  |    |
|--------|--|----|
| 1.4.2. | Ciclo de vida .....                    | 18 |
| 1.4.3. | Sinais clínicos .....                  | 19 |
| 1.4.4. | Diagnóstico .....                      | 19 |
| 1.4.5. | Terapêutica e Profilaxia .....         | 19 |
| 1.4.6. | Risco Zoonótico .....                  | 19 |
| 1.5.   | <i>Strongyloides stercoralis</i> ..... | 20 |
| 1.5.1. | Etiologia .....                        | 20 |
| 1.5.2. | Ciclo de vida .....                    | 20 |
| 1.5.3. | Sinais clínicos .....                  | 20 |
| 1.5.4. | Diagnóstico .....                      | 20 |
| 1.5.5. | Terapêutica e Profilaxia .....         | 21 |
| 1.5.6. | Risco Zoonótico .....                  | 21 |
| 1.6.   | <i>Angiostrongylus vasorum</i> .....   | 21 |
| 1.6.1. | Etiologia .....                        | 21 |
| 1.6.2. | Ciclo de vida .....                    | 21 |
| 1.6.3. | Sinais clínicos .....                  | 22 |
| 1.6.4. | Diagnóstico .....                      | 23 |
| 1.6.5. | Terapêutica e Profilaxia .....         | 24 |
| 2.     | Céstodes .....                         | 24 |
| 2.1.   | <i>Dipylidium caninum</i> .....        | 24 |
| 2.1.1. | Etiologia .....                        | 24 |
| 2.1.2. | Ciclo de vida .....                    | 24 |
| 2.1.3. | Sinais clínicos .....                  | 25 |
| 2.1.4. | Diagnóstico .....                      | 25 |
| 2.1.5. | Terapêutica e Profilaxia .....         | 25 |
| 2.1.6. | Risco Zoonótico .....                  | 26 |
| 2.2.   | <i>Echinococcus</i> spp. ....          | 26 |
| 2.2.1. | Etiologia .....                        | 26 |
| 2.2.2. | Ciclo de vida .....                    | 26 |
| 2.2.3. | Sinais clínicos .....                  | 27 |
| 2.2.4. | Diagnóstico .....                      | 27 |
| 2.2.5. | Terapêutica e Profilaxia .....         | 27 |
| 2.2.6. | Risco Zoonótico .....                  | 28 |
| 2.3.   | <i>Taenia</i> spp. ....                | 29 |
| 2.3.1. | Etiologia .....                        | 29 |
| 2.3.2. | Ciclo de vida .....                    | 29 |
| 2.3.3. | Sinais clínicos .....                  | 29 |
| 2.3.4. | Diagnóstico .....                      | 29 |
| 2.3.5. | Terapêutica e Profilaxia .....         | 30 |
| 2.4.   | <i>Mesocestoides</i> spp. ....         | 30 |
| 2.4.1. | Etiologia .....                        | 30 |
| 2.4.2. | Ciclo de vida .....                    | 30 |
| 2.4.3. | Sinais clínicos .....                  | 30 |
| 2.4.4. | Diagnóstico .....                      | 31 |

|   |        |
|---|--------|
| 2.4.5. Terapêutica e Profilaxia .....   | 31     |
| 2.4.6. Risco Zoonótico .....  | 31     |
| 3. Protozoários .....   | 31     |
| 3.1. <i>Giardia</i> spp. ....   | 31     |
| 3.1.1. Etiologia .....  | 31     |
| 3.1.2. Ciclo de vida .....  | 32     |
| 3.1.3. Sinais clínicos .....  | 32     |
| 3.1.4. Diagnóstico .....  | 32     |
| 3.1.5. Terapêutica e Profilaxia .....   | 34     |
| 3.1.6. Risco Zoonótico .....  | 34     |
| 3.2. <i>Cryptosporidium</i> spp. ....   | 35     |
| 3.2.1. Etiologia .....  | 35     |
| 3.2.2. Ciclo de vida .....  | 35     |
| 3.2.3. Sinais clínicos .....  | 36     |
| 3.2.4. Diagnóstico .....  | 36     |
| 3.2.5. Terapêutica e Profilaxia .....   | 37     |
| 3.2.6. Risco Zoonótico .....  | 37     |
| 3.3. <i>Cystoisospora</i> spp. ....   | 38     |
| 3.3.1. Etiologia .....  | 38     |
| 3.3.2. Ciclo de vida .....  | 38     |
| 3.3.3. Sinais clínicos .....  | 38     |
| 3.3.4. Diagnóstico .....  | 39     |
| 3.3.5. Terapêutica e Profilaxia .....   | 39     |
| <br>IV. Parasitismo Gastrointestinal em cães frequentadores de espaços públicos de várias localidades da freguesia de Mafra ..... | <br>40 |
| 1. Objetivos .....  | 40     |
| 2. Material e Métodos .....   | 41     |
| 2.1. Caracterização da área geográfica em estudo .....  | 41     |
| 2.2. Caracterização da população canina da freguesia de Mafra .....   | 41     |
| 2.3. Locais de Recolha .....  | 41     |
| 2.4. Período de Recolha .....   | 42     |
| 2.5. Amostras .....   | 43     |
| 2.6. Técnicas Laboratoriais .....   | 43     |
| 2.6.1. Exame macroscópico .....   | 43     |
| 2.6.2. Técnica de flutuação de Willis .....   | 43     |
| 2.6.3. Técnica de Sedimentação Natural .....  | 44     |
| 2.6.4. Técnica de Baermann .....  | 44     |
| 2.6.5. Esfregaço Fecal corado pelo método de Ziehl Neelsen .....  | 44     |
| 2.6.6. Método de Sedimentação Difásica de Ritchie Modificado .....  | 45     |
| 2.6.7. Técnica da Imunofluorescência direta .....   | 45     |
| 2.6.8. Análise Estatística .....  | 46     |
| 3. Resultados .....   | 46     |

|   |    |
|---|----|
| 3.1. Caracterização das Amostras .....  | 46 |
| 3.2. Observação Macroscópica .....  | 47 |
| 3.3. Método de Flutuação pela Técnica de Willis .....   | 48 |
| 3.4. Técnica de Sedimentação Natural .....  | 48 |
| 3.5. Técnica de Baermann .....  | 49 |
| 3.6. Parasitas observados em esfregaços fecais .....  | 49 |
| 3.6.1. Esfregaços fecais corados pela técnica de Ziehl-Neelsen<br>modificada .....  | 49 |
| 3.6.2. Método da Sedimentação Difásica de Ritchie Modificado .....  | 49 |
| 3.6.3. Técnica de Imunofluorescência Direta .....   | 49 |
| 3.7. Resultados Gerais .....  | 49 |
| 3.8. Relação entre a presença de <i>Giardia</i> spp. e os locais de recolha .....   | 53 |
| 3.9. Relação entre a presença de coinfeção por <i>Toxocara canis</i> e <i>Uncinaria<br/>    stenocephala</i> e os locais de recolha .....   | 54 |
| 3.10. Relação entre a presença de <i>Cystoisospora</i> spp. com o local de<br>recolha F. ....   | 54 |
| 3.11. Relação entre a presença de coinfeção por <i>Uncinaria stenocephala</i> e<br><i>Cryptosporidium</i> spp. e o local de recolha G ..... | 55 |
| 3.12. Relação entre a presença de coinfeção por <i>Angiostrongylus vasorum</i> e<br><i>Toxocara canis</i> e o local de recolha H .....      | 55 |
| 3.13. Relação entre a presença de <i>Cryptosporidium</i> spp. e os vários locais de<br>recolha .....  | 56 |
| 3.14. Relação entre a presença de <i>Uncinaria stenocephala</i> e o local de recolha<br>.....   | 56 |
| 3.15. Relação entre a presença de <i>Toxocara canis</i> e o local de recolha .....  | 57 |
| 3.16. Relação entre a exposição solar e a presença de parasitas nas amostras<br>fecais .....  | 58 |
| 3.17. Relação entre presença de <i>Giardia</i> spp. e a consistência pastosa das fezes<br>.....   | 58 |
| 3.18. Relação entre presença de <i>Giardia</i> spp. e a consistência diarreica das<br>fezes .....   | 59 |
| 3.19. Relação entre presença de <i>Cryptosporidium</i> spp. e a consistência pastosa<br>das fezes .....                                     | 60 |
| 3.20. Relação entre presença de <i>Cryptosporidium</i> spp. e a consistência<br>diarreica das fezes .....                                   | 60 |
| 4. Discussão .....  | 61 |
| IV. Conclusão .....   | 71 |
| V. Bibliografia .....   | 72 |
| VI. Anexos .....  | 82 |
| 1. Anexo 1- Resultados obtidos nas análises das amostras em estudo .....  | 82 |

|  |    |
|--|----|
| 2. Anexo 2 - Adaptação do protocolo da técnica de Imunofluorescência Direta com recurso ao kit Crypto/Giardia Cell IF (Cellabs®) ..... | 89 |
| 3. Anexo 3 - Distribuição da presença ou ausência de <i>Giardia</i> spp. em relação às várias localidades .....                        | 90 |
| 4. Anexo 4 - Relação entre a presença de coinfeção por <i>Cryptosporidium</i> spp. e os vários local de recolha .....                  | 92 |
| 5. Anexo 5 – Método de Flutuação de Willis .....   | 93 |
| 6. Anexo 6 – Método da Sedimentação Natural .....  | 94 |
| 7. Anexo 7 – Técnica de Baermann .....   | 95 |
| 8. Anexo 8 – Técnica de coloração de Ziehl – Neelsen .....   | 96 |
| 9. Anexo 9 - Método de sedimentação difásica de Ritchie Modificado .....   | 97 |

## Lista de Figuras

|   |    |
|---|----|
| Figura 1 – Exemplo de dissecção de <i>Sardina pilchardus</i> (original) .....   | 2  |
| Figura 2 – Exemplos de parasitas encontrados em <i>Sardina pilchardus</i> (original) .....  | 2  |
| Figura 3 – Ovo de <i>Toxocara canis</i> (original) .....  | 7  |
| Figura 4 – Ovo do tipo ancilostomatídeo (original) .....  | 16 |
| Figura 5 – Larva de primeiro estágio de <i>Angiostrongylus vasorum</i> (original) .....   | 23 |
| Figura 6 – Quistos de <i>Giardia</i> spp. em esfregaço fecal (original) .....   | 33 |
| Figura 7 – Oocisto de <i>Cryptosporidium</i> spp. (original) .....  | 37 |
| Figura 8 – Oocisto de <i>Cystoisospora</i> spp. (original) .....  | 39 |
| Figura 9 – Observação de quistos de <i>Giardia</i> spp. e oocisto de <i>Cryptosporidium</i> spp. em controlo positivo do <i>kit</i> de IFD (original) ..... | 46 |
| Figura 10 – Método de Flutuação de Willis (original) .....  | 93 |
| Figura 11 – Método de Sedimentação Natural (original).....  | 94 |
| Figura 12 – Técnica de Baermann (original) .....  | 95 |
| Figura 13 – Esfregaços fecais corados com o método de Ziehl – Neelsen (original).....   | 96 |
| Figura 14 – Método de Sedimentação Difásica de Ritchie Modificado (original) .....  | 97 |

## Lista de Tabelas

|  |    |
|--|----|
| Tabela 1 – Parasitas gastrointestinais com potencial zoonótico .....   | 4  |
| Tabela 2 – Síntese dos resultados gerais obtidos .....   | 47 |
| Tabela 3 – Prevalências de parasitismo determinadas em cada zona de recolha ..   | 51 |
| Tabela 4 – Locais de recolha das amostras positivas e respetivas técnicas de identificação .....   | 52 |
| Tabela 5 – Relação entre a proximidade à Vila de Mafra e a presença de parasitas .....   | 53 |
| Tabela 6 – Distribuição da presença ou ausência de <i>Giardia</i> spp. em relação à localidade N .....   | 54 |
| Tabela 7 – Distribuição da presença ou ausência de coinfeção por <i>Toxocara canis</i> e <i>Uncinaria stenocephala</i> em relação à localidade C .....   | 54 |
| Tabela 8 – Distribuição da presença ou ausência de <i>Cystoisospora</i> spp. em relação à localidade F .....   | 55 |
| Tabela 9 – Distribuição da presença ou ausência de coinfeção por <i>U. stenocephala</i> e <i>Cryptosporidium</i> spp. em relação à localidade G .....    | 55 |
| Tabela 10 – Distribuição da presença ou ausência de coinfeção por <i>Toxocara canis</i> e <i>Angiostrongylus vasorum</i> em relação à localidade H ..... | 56 |
| Tabela 11 – Distribuição da presença ou ausência de <i>Cryptosporidium</i> spp. em relação à localidade G .....  | 56 |
| Tabela 12 – Distribuição da presença ou ausência de <i>U. stenocephala</i> em relação à localidade G .....   | 57 |
| Tabela 13 – Distribuição da presença ou ausência de <i>U. stenocephala</i> em relação à localidade C .....   | 57 |
| Tabela 14 – Distribuição da presença ou ausência de <i>T. canis</i> em relação à localidade C .....  | 57 |
| Tabela 15 - Distribuição da presença ou ausência de <i>T. canis</i> em relação à localidade H .....  | 58 |
| Tabela 16 - Distribuição da presença ou ausência de parasitas de acordo com a presença de sol ou sombra no local de recolha das amostras .....           | 58 |
| Tabela 17 - Distribuição da presença ou ausência de <i>Giardia</i> em relação a fezes pastosas ou não pastosas .....                                     | 59 |
| Tabela 18 - Distribuição da presença ou ausência de <i>Giardia</i> em relação a fezes diarreicas ou não diarreicas .....                                 | 59 |
| Tabela 19 - Distribuição da presença ou ausência de <i>Cryptosporidium</i> spp. em relação a fezes pastosas ou não pastosas .....                        | 60 |
| Tabela 20 - Distribuição da presença ou ausência de <i>Cryptosporidium</i> spp. em relação a fezes diarreicas ou não diarreicas .....                    | 60 |
| Tabela 21 - Resultados obtidos no total das amostras analisadas .....  | 82 |
| Tabela 22 - Distribuição da presença ou ausência de <i>Giardia</i> spp. em relação à localidade A .....  | 90 |
| Tabela 23 - Distribuição da presença ou ausência de <i>Giardia</i> spp. em relação à localidade B .....  | 90 |
| Tabela 24 - Distribuição da presença ou ausência de <i>Giardia</i> spp. em relação à localidade F .....  | 90 |
| Tabela 25 - Distribuição da presença ou ausência de <i>Giardia</i> spp. em relação à localidade G .....  | 91 |
| Tabela 26 - Distribuição da presença ou ausência de <i>Giardia</i> spp. em relação à localidade H .....  | 91 |

|  |    |
|--|----|
| Tabela 27 - Distribuição da presença ou ausência de <i>Giardia</i> spp. em relação à localidade L .....        | 91 |
| Tabela 28 - Distribuição da presença ou ausência de <i>Giardia</i> spp. em relação à localidade M .....        | 92 |
| Tabela 29 - Relação entre a presença de coinfeção por <i>Cryptosporidium</i> spp. e o local de recolha J ..... | 92 |
| Tabela 30 - Relação entre a presença de coinfeção por <i>Cryptosporidium</i> spp. e o local de recolha M ..... | 92 |

### **Lista de Gráficos**

|  |    |
|--|----|
| Gráfico 1 – Distribuição das amostras segundo a consistência das fezes .....                     | 48 |
| Gráfico 2 – Proporção geral de amostras positivas e negativas .....                              | 50 |
| Gráfico 3 – Proporção de infeções simples e coinfeções nas amostras consideradas positivas ..... | 50 |

## **Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos**

%: Percentagem

®: Marca registada

µm: Micrómetro

& – E

µl – Microlitro

°C- grau Celsius

cm – Centímetro

ALT- Alanina Transaminase

ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

FMV – Faculdade de Medicina Veterinária

g – grama

GLDH- Glutamato Desidrogenase

IC95% – Intervalo de Confiança de 95 por cento

IF – Imunofluorescência (Direta)

IFAT – Immuno-Fluorescence Antibody Test

INE – Instituto Nacional de Estatística

IPMA- Instituto Português do Mar e da Atmosfera

IgE – Imunoglobulina E

km<sup>2</sup> – quilómetro quadrado

L1 – Larva de primeiro estágio

L2- Larva de segundo estágio

L3 – Larva de terceiro estágio

LMC – Larva Migrante Cutânea

LMO – Larva Migrante Ocular

LMV – Larva Migrante Visceral

mg/kg – miligrama por quilograma

mm – Milímetro

n – Número total de amostras

PCR – Polymerase Chain Reaction

sp. – Espécie

spp. – Espécies

UL – Universidade de Lisboa



## **I. Atividades desenvolvidas durante o estágio curricular**

O estágio curricular incidiu, exclusivamente, na área de Parasitologia. Numa primeira fase, o mesmo teve lugar no IPMA, analisando parasitas presentes em sardinhas, decorrendo desde 8 de outubro de 2018 até 8 de janeiro de 2019, num total de 496 horas . A segunda etapa deste estágio decorreu durante o mês de fevereiro de 2019 no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária [FMV] da Universidade de Lisboa [UL], onde foram analisadas as amostras de fezes colhidas, durante esse exato mês, na freguesia de Mafra, que servem de base de estudo à presente dissertação.

### **1. IPMA**

A autora desta dissertação, no IPMA, sob o acompanhamento da Doutora Paula Ramos, teve a oportunidade de analisar parasitas de vários peixes, sendo, da sua responsabilidade, observar parasitas da sardinha. Porém, teve ainda a possibilidade de observar parasitas em cavalas, carapaus, filetes de pescada, mexilhões e amêijoas, adquirindo, desta forma, capacidades laboratoriais a vários níveis.

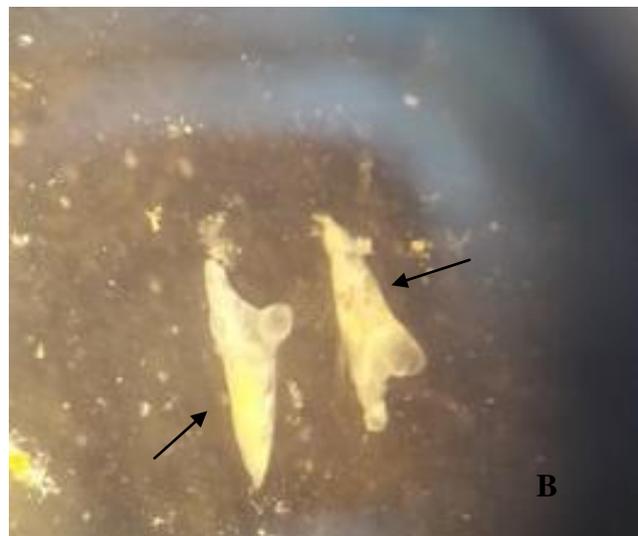
A nível dos parasitas da sardinha, a autora recebia os peixes congelados que, após descongelação, eram dissecados, como exemplificado na Figura 1, seguindo um protocolo específico, tentando identificar, em todos os órgãos e cavidades, potenciais parasitas como parasitas nos arcos branquiais, na cavidade bucal, olhos, cavidade celómica, músculos, fígado, baço, rins e coração, fazendo esfregaços por aposição de todos os órgãos, com posterior observação ao microscópio. De seguida analisava, de forma minuciosa, os conteúdos estomacais e intestinais à lupa, após os mesmos serem limpos, passando o conteúdo por um crivo para que o conteúdo estivesse mais clarificado. Os parasitas mais encontrados foram *Kudoa thyrsites*, presente em esfregaços por aposição do músculo demonstrada na Figura 2, *Goussia cruciata* presente nos esfregaços do fígado e tremátodes digenéticos nos conteúdos estomacais e intestinais, evidenciados na Figura 2.

Após a análise de todo o peixe, era realizada a digestão peptídica da totalidade do músculo sobranete após dissecção, revelando-se a presença de nemátodes de *Anisakis simplex*.

Figura 1- Exemplo de dissecação de *Sardina pilchardus* (original)



Figura 2 - Exemplos de parasitas encontrados em *Sardina pilchardus*: A) *Kudoa thyrsites*; B) Tremátodes digenéticos (originais)



## 2. Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da FMV – UL

No Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias, a estagiária teve a oportunidade de analisar as amostras que, todas as semanas, no decorrer do mês de Fevereiro, ia recolhendo, num total de 100 horas. Todas as amostras foram submetidas a técnicas de coprologia tais como a flutuação de Willis, a técnica de Sedimentação Natural, a técnica de Baermann, o método de Ritchie e esfregaços fecais simples e após concentração, corados com técnica de Ziehl-Neelsen modificada.

## II. Introdução

Os animais domésticos são importantes membros de muitas famílias e o seu papel na sociedade revela-se importante em vários cenários como no bem-estar psicológico e fisiológico de certas pessoas, porém tem que haver um cuidado pelo facto dos mesmos poderem estar infetados por parasitas gastrointestinais que podem infetar os seus tutores (Robertson, Irwin, Lymbery, & Thompson, 2000; Robertson & Thompson, 2002). Sendo assim, apesar dos animais de estimação oferecerem benefícios significativos para a nossa sociedade, tem que haver cuidados, pois há vários riscos para a saúde, já documentados, associados a possuir um animal. Alguns dos perigos mais comuns são mordeduras, arranhões e alergias, porém há um leque diverso de infeções que podem advir, tais como parasitárias, bacterianas, virais, fúngicas, doenças que podem ser transmitidas ao ser humano (Robertson & Thompson, 2002). Mesmo com as grandes evoluções nos últimos anos a nível da profilaxia e tratamento de parasitoses, os parasitas são, ainda, nos dias que correm, capazes de causar morbidade e mortalidade nos animais de companhia, ou seja a importância dos parasitas nos animais de companhia prende-se com as suas consequências ao nível da Saúde Pública e Animal (Matos, Alho, Owen, Nunes & Madeira de Carvalho, 2015).

Evidências sugerem que os tutores dos animais de estimação vão ao seu médico com menos frequência, utilizam menos medicação e têm níveis mais baixos de tensão arterial e colesterol que pessoas que não tenham animais de estimação (Judge & Barish-Wreden, 2011). Apesar de muitos parasitas entéricos terem sido reconhecidos em cães e gatos, nem todos eles têm potencial zoonótico (Bugg, Robertson, Elliot & Thompson, 1999).

A presente dissertação foi realizada devido à falta de dados acerca do grau de parasitismo no que se refere aos parasitas gastrointestinais na freguesia de Mafra, sede do concelho de Mafra. Os principais parasitas gastrointestinais do cão serão abordados na presente revisão bibliográfica, assim como *Angiostrongylus vasorum* que, apesar de ser um parasita pulmonar, é eliminado pelas fezes, sendo detetado por métodos coprológicos como a Técnica de Baermann (Alho, Nabais & Madeira de Carvalho, 2013). Os restantes parasitas podem ser detetados por técnicas laboratoriais como flutuação de Willis, sedimentação natural, técnica de Baermann e método de Ritchie, pretendendo-se chegar a conclusões acerca da prevalência dos parasitas pesquisados na freguesia de Mafra.

### III. Revisão Bibliográfica

Serão abordados os principais parasitas, discriminados de seguida, dando especial atenção aos parasitas gastrointestinais e com potencial zoonótico (Tabela 1).

Tabela 1- Parasitas gastrointestinais com potencial zoonótico (Adaptado de: Bowman, 2014; Lebre, 2011; Robertson & Thompson, 2002)

|              | Parasita                         | Potencial Zoonótico                            |
|--------------|----------------------------------|--|
| Nemátodes    | <i>Toxocara canis</i>            | Larva migrante ocular e visceral               |
|              | <i>Toxascaris leonina</i>        |  |
|              | <i>Ancylostoma</i> spp.          | Larva migrante cutânea e Enterite eosinofílica |
|              | <i>Uncinaria stenocephala</i>    | Larva migrante cutânea                         |
|              | <i>Trichuris vulpis</i>          | Tricuriose (raramente)                         |
|              | <i>Strongyloides stercoralis</i> | Estrongiloidose                                |
| Céstodes     | <i>Angiostrongylus vasorum</i>   |  |
|              | <i>Dipylidium caninum</i>        | Dipilidiose                                    |
|              | <i>Echinococcus</i> spp.         | Hidatidose                                     |
|              | <i>Taenia</i> spp.               | Cenurose (raro)                                |
|              | <i>Mesocestoides</i> spp.        |  |
| Protozoários | <i>Giardia</i> spp.              | Giardiose                                      |
|              | <i>Cryptosporidium</i> spp       | Criptosporidiose                               |
|              | <i>Cystoisospora</i> spp.        |  |

#### 1. Nemátodes

##### 1.1. *Toxocara canis*

###### 1.1.1. Etiologia

O género *Toxocara* pertence ao reino Animalia, filo Nematoda, classe Nematoda, ordem Ascaridida, superfamília Ascaridoidea, família Ascarididae, subfamília Toxocaridae (Foreyt 2001; Despommier, 2003).

Este parasita apresenta como principal hospedeiro definitivo o cão, no entanto, mamíferos silvestres como raposas e lobos são, igualmente, hospedeiros definitivos que podem atuar

como fonte de infecção, a longo prazo, para seres humanos e outros animais, principalmente nas zonas de subúrbios e áreas rurais (Radwan, Khalil & El Mahi, 2009). Podem existir hospedeiros paraténicos, tais como roedores, suínos, primatas, ovinos, sendo que o Homem é considerado um Hospedeiro Intermediário acidental (Bowman, 2014).

Os adultos de *Toxocara canis* alojam-se no lúmen do intestino delgado do hospedeiro, sendo que a fêmea consegue depositar milhares de ovos por dia (Habluetzel et al., 2003).

As formas larvares podem variar, consideravelmente, o seu tamanho, porém, normalmente, os machos apresentam comprimento até 10cm e as fêmeas até 18cm. A extremidade anterior é elíptica, explicada pela presença de um par de asas cervicais lanceoladas e a parte anterior do corpo é curvada ventralmente. A boca apresenta-se rodeada por três lábios, não tendo cápsula bucal e o esófago não revela bulbo posterior. Os machos apresentam aba caudal e apêndice terminal estreito (Taylor, Coop & Wall, 2016). As fêmeas têm os órgãos reprodutivos internos de cor branca, vendo-se através da cutícula nos parasitas examinados a fresco (Bowman, 2014).

Os ovos do género *Toxocara* apresentam uma espessa camada externa, que corresponde a uma característica evolutiva que lhes permite ter grande resistência, incluindo em ambientes extremos ou quando na presença de agentes químicos e físicos, o que lhes permite sobreviver no solo e permanecer com capacidade infetante durante meses ou mesmo anos (Bowman, 2014).

### **1.1.2. Ciclo de vida**

*Toxocara canis* apresenta um ciclo de vida direto, podendo ser indireto no caso de haver hospedeiro paraténico (Ballweber, 2001). Os ovos são expelidos nas fezes do cão parasitado, encontrando-se não embrionados com apenas uma célula, desenvolvendo-se a L3 infetante no seu interior, ainda no meio ambiente, num período de 4 semanas (Bowman, 2014; Taylor et al., 2016).

Relativamente às formas de infecção, existem quatro possíveis vias, uma é a infecção direta, através da ingestão dos ovos embrionados contendo L3, sendo que as mesmas nos cachorros sofrem uma migração entero-hepato-pneumo-traqueo-entérica e nos adultos migram para os pulmões, continuando, contudo, nos tecidos somáticos onde permanecem enquistadas (Ballweber, 2001). Após a ingestão, as larvas L3 podem eclodir no intestino delgado e migrar por várias vias incluindo pelo sistema porta, através do fígado, até aos pulmões, nos quais podem penetrar nos alvéolos pulmonares fazendo migração traqueal

sendo deglutidas, regressando ao intestino para terminar o seu desenvolvimento. Se a larva chegar aos pulmões, mas continuar em circulação, vai sofrer migração somática até outros órgãos e tecidos, tais como fígado, cérebro, coração, músculo-esquelético, pulmões e paredes do trato gastrointestinal (Taylor et al., 2016).

Outras duas vias de infecção ocorrem nos cachorros que podem ser infetados via transmamária ou transplacentária. A infecção transplacentária ocorre no período pré-natal em que as larvas são reativadas dos tecidos da cadela gestante, em que estavam enquistadas, migrando para os pulmões dos fetos, durante o último trimestre, desenvolvendo-se até L4, L5 e adulto no intestino delgado após o nascimento, sendo o principal modo de infecção nos cães (Ballweber, 2001). Neste tipo de infecção, os cachorros podem expelir ovos em 3 semanas (Amaral et al., 2010).

Na forma de infecção transmamária, as larvas infetantes migram até as glândulas mamárias e são ingeridas pelos cachorros recém-nascidos, sendo que os ovos são expelidos em cerca de 4 a 5 semanas (Amaral et al., 2010; Ballweber, 2001).

A última forma possível de infecção por *Toxocara canis* é pela ingestão de hospedeiros paraténicos, nomeadamente roedores, nos quais estão as larvas infetantes enquistadas que são ativadas, completando o seu ciclo (Strube, Heuer & Janecek, 2013).

### **1.1.3. Sinais Clínicos**

Os animais mais jovens, normalmente, são os mais atingidos e os que revelam mais sinais como diarreia, vômitos, abdómen distendido, má condição da pelagem, atrasos no crescimento e sinais respiratórios (Otero, Ferreira, Cruz, Alho & Carvalho, 2015). Pode levar ao aparecimento de nados-mortos em animais infetados. Os animais adultos são muito menos propensos a ter infecções sintomáticas (Zajac & Conboy, 2012). Nos casos em que ocorrem infecções maciças, estas podem levar à morte do animal pela rotura ou obstrução intestinal (Bowman, 2014).

### **1.1.4. Diagnóstico**

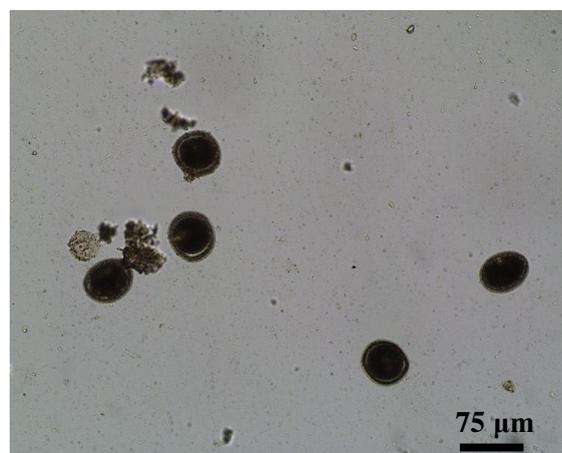
O diagnóstico definitivo de infecção por *Toxocara canis* é realizado através da análise coprológica, recorrendo-se ao método de flutuação, podendo este método ser simples ou com recurso a centrifugação, com posterior observação e respetiva identificação ao microscópio ótico (Zajac & Conboy, 2012). O tamanho médio dos ovos de *Toxocara canis* é de 74,8 x 86µm, tendo um diâmetro mínimo de 74,0 µm e máximo de 86,0 µm (Figura 3) (Fahrion, Schnyder, Wichert & Deplazes, 2011). Os mesmos apresentam uma

coloração acastanhada, com forma sub-esférica, contendo o embrião protegido por uma parede espessa (Zajac & Conboy, 2012).

Há que ter em atenção os hábitos de coprofagia dos cães, aquando do diagnóstico, para que seja possível fazer distinção entre infeções patentes e uma passagem de ovos pelo organismo sem a presença de infeção (Peter Deplazes, van Knapen, Schweiger, & Overgaaauw, 2011). No caso de se pretender pesquisar infeção não patente em animais domésticos, esta deve ser realizada em fêmeas reprodutoras para que seja possível determinar se as mesmas são portadoras de larvas somáticas (Overgaaauw, 1997). Nestes casos, o diagnóstico pode ser realizado por ELISA, que utiliza antigénios excretados e secretados e facilita, imensamente, o diagnóstico, sendo que uma elevada eosinofilia também é sugestiva de Toxocarose nestes animais, especialmente se a presença de outros possíveis parasitas tiver sido eliminada (Schmidt & Roberts, 2008).

O diagnóstico pode ser auxiliado pelos sinais clínicos, sendo que ocorrem mais em cachorros que apresentam infeções graves com diminuição do hematócrito devido a graves hemorragias internas, originadas pela passagem de larvas pré-adultas pelo fígado e perfurações no intestino, em casos de números elevados de adultos (Schnieder, Laabs & Welz, 2011). No decorrer da migração larvar pelo fígado, ocorre um aumento das enzimas hepáticas, nomeadamente Alanina Transaminase (ALT) e Glutamato Desidrogenase (GLDH), sendo que GLDH retoma aos seus valores normais passados 14 dias da subida de valores (Schnieder et al., 2011).

Figura 3 – Ovo de *Toxocara canis* (original)



### 1.1.5. Terapêutica e Profilaxia

Devido à transmissão transplacentária, podemos assumir que todos os cachorros estão infetados ao nascimento. O controlo da parasitose é efetuado através da desparasitação profilática às duas semanas de idade, utilizando pamoato de pirantel, febantel ou milbemicina oxima, sendo repetida de duas em duas semanas até atingir os três meses de idade. É importante fazer tratamento até aos três meses visto que, desta forma, se cobre a possibilidade de transmissão galactogénica que ocorre continuamente até, pelo menos, cinco semanas pós-parto. Posteriormente, deve-se desparasitar uma vez por mês até aos seis meses de idade (Bowman, 2014; Deplazes et al., 2011).

Para além do pamoato de pirantel, também se utilizam outros anti-helmínticos tais como compostos de piperazina, que são considerados seguros e muito eficazes contra ascarídeos presentes no lúmen do trato gastrointestinal, porém há bulas que referem que não devem ser utilizados em cachorros com menos de seis semanas de idade. Recorre-se, igualmente, ao uso da associação de febantel, praziquantel e pamoato de pirantel, a partir das três semanas de idade. Milbemicina oxima também pode ser utilizada para cachorros com mais de quatro semanas e se tiver mais de seis semanas pode-se recorrer ao uso de febendazol ou ivermectina com pamoato de pirantel. Às sete semanas, podem ser tratados topicamente com Moxidectina e Imidaclopride, sendo que às oito semanas de idade pode ser utilizada a formulação de ivermectina com pamoato de pirantel e praziquantel (Bowman, 2014).

No que se refere às cadelas, estas devem ser desparasitadas, previamente ao acasalamento, assim como, duas semanas antes da data prevista do parto, com ou sem tratamento diário com febendazol, desde o último terço de gestação até à primeira etapa de lactação. A desparasitação profilática deve manter-se com uma frequência recomendada de quatro vezes por ano (Overgaauw & Knapen, 2013).

Os ovos de *Toxocara* spp. são eliminados nas fezes e tornam-se infectantes num período mínimo de 10 a 14 dias, dependendo de fatores, tais como o tipo de solo e as condições ambientais a que estão sujeitos (Papini, Campisi, Faggi, Pini & Mancianti, 2012). Pelo referido anteriormente, é necessário adotar medidas de controlo, como remoção frequente de fezes dos animais, cuidados de higiene depois do contacto com animais, fezes ou solo, tendo especial precaução com as crianças, tendo, também, atenção a alimentos que possam estar possivelmente contaminados, como por exemplo vegetais contaminados ou carne de frango com L3 enquistadas). Deve haver um uso frequente de anti-helmínticos, dependendo do risco de infeção (Robertson & Thompson, 2002).

Pelo facto dos ovos serem extremamente resistentes no ambiente, devem-se tomar medidas como descontaminação do solo, aplicar fontes de calor, utilizar fungos telúricos nematófagos ou luz ultravioleta (Otero et al., 2015).

#### **1.1.6. Risco zoonótico**

A toxocarose humana é considerada um problema ao nível da saúde pública (Overgaauw & Knapen, 2008). Esta é uma infeção humana causada por larvas tanto de *Toxocara canis* como de *Toxocara cati*. Os humanos, infetam-se, normalmente, através da ingestão acidental de ovos embrionados, que contêm no seu interior a larva L3, totalmente desenvolvida, que provêm de fontes contaminadas como solo, vegetais frescos ou insuficientemente lavados (Moreira et al., 2014). Esta infeção é responsável por originar, em Humanos, as síndromes da Larva Migrante Visceral (LMV) e Larva Migrante Ocular (LMO), pensando-se que a espécie que tem maior potencial zoonótico seja *Toxocara canis*, sendo assim, o cão o principal hospedeiro reservatório de infeções para humanos, embora alguns autores refiram o gato como um agente zoonótico relevante (Dhaliwal & Juyal, 2013; Pearson. R., 2015). Não só existem as síndromes acima referidas, como também estão descritas Toxocarose assintomática, podendo haver associação neurológica e sintomas atópicos (Deplazes et al., 2011).

Esta doença está distribuída por todo o globo, tendo sido reportadas seroprevalências elevadas deste parasita em países tropicais (Dhaliwal & Juyal, 2013).

A infeção é, predominantemente, assintomática, sendo que, em alguns indivíduos, apesar disso, o sistema imunitário é incapaz de controlar a migração larvar no fígado. Nestes casos, pode ocorrer doença grave com envolvimento do sistema nervoso central e/ou do globo ocular. Os sinais clínicos são, mais frequentemente, observados em crianças, em detrimento dos adultos, principalmente crianças entre um e três anos de idade, revelando sintomas graves da síndrome de *Larva migrans*. Provavelmente, este facto, pode ser explicado por uma, relativamente, elevada taxa de infeção nesta idade ao contactarem com terra, ingerindo os ovos deste parasita, acidentalmente, em combinação com o sistema imunitário que ainda não se encontra totalmente desenvolvido (Overgaauw, 1997).

Em relação à síndrome de LMV, há certos sinais clínicos associados à migração larvar a nível pulmonar e hepático, incluindo dor abdominal, inquietação, febre, diminuição de apetite, ruídos respiratórios, tosse, asma e hepatomegália, sendo a infeção geralmente

caracterizada por uma acentuada eosinofilia crónica, leucocitose e hipergamaglobulinémia (Magnaval & Glickman, 2006).

Num estudo de 2012, realizado na Polónia, que analisou a toxocarose em crianças, a média de idade das mesmas foi de 7,3 anos, similar em ambos os sexos. Nesse grupo de estudo, as crianças que foram mais infetadas eram do sexo masculino, possivelmente devido aos seus hábitos de passarem mais tempo ao ar livre, principalmente na rua, sendo que os hábitos de higiene não eram os mais adequados (Wiśniewska-Ligier, Woźniakowska-Gęsicka, Sobolewska-Dryjańska, Markiewicz-Józwiak & Wieczorek, 2012). Apesar disso, existem outros grupos de risco que se deve alertar, nomeadamente agricultores, veterinários, trabalhadores de matadouros e caçadores, sendo a presença de um cão nas instalações, seja pecuárias ou perto de matadouros, é um fator de risco de toxocarose (Deutz et al., 2005). Um outro factor que aumenta o risco de infeção é o facto de os ovos serem extremamente resistentes no ambiente, podendo já estar depositados há alguns meses (Katagiri & Oliveira-Sequeira, 2007).

Uma outra maneira de infeção pode ser através do contacto direto com ovos de *Toxocara canis* presentes no pelo dos cães (Wolfe & Wright, 2003), sendo que os cães em que se encontram mais parasitas no pêlo (99% dos casos) são os cachorros com idades até seis meses e os de pêlo curto, segundo um estudo mais recente (Amaral et al., 2010).

Os ovos de *Toxocara canis* encontram-se mais em cães de pêlo curto, visto que estão mais perto da pele, o que lhes permite estar num ambiente com temperaturas que lhes possibilita ter melhores condições para o seu desenvolvimento, comparativamente aos de pêlo comprido (Roddie, Stafford, Holland & Wolfe, 2008). É necessário que sejam ingeridas elevadas quantidades de ovos para que se crie uma infeção significativa (Deplazes et al., 2011).

No que diz respeito à síndrome de LMO há várias apresentações clínicas, tais como, granuloma do polo posterior, granuloma periférico, endoftalmite nematóide e outras apresentações atípicas (Ahn, Ryoo & Woo, 2014). As lesões granulomatosas na retina, originadas pelas migrações da larva de *Toxocara* devem ser distinguidas a nível de diagnóstico com retinoblastoma (Glickman & Schantz, 1981). Geralmente, na presença de LMO, não há outros sinais noutros compartimentos orgânicos (Robertson & Thompson, 2002). Esta síndrome pode causar lesões irreversíveis como descolamento da retina ou formação de massas ou cicatrizes sub-retinianas que podem levar à perda permanente de visão (Woodhall, Eberhard & Parise, 2014) As larvas podem manter-se nos tecidos somáticos por um período de 10 anos (Bowman, 2014).

Foi descrito que existe relação entre seroprevalência de *Toxocara* spp. e a incidência de doença crônica das vias respiratórias, especificamente asma, aumento da concentração de IgE séricas, presença de IgE alérgico-específicas e eosinofilia. O aparecimento de asma ou bronquite recorrente foram, significativamente, relacionados com seroprevalência. Foi, deste modo, concluído que o fenômeno alérgico em crianças com predisposição para asma ocorre, mais frequentemente, após infecção por *Toxocara* spp. (Buijs et al., 1997).

## **1.2. *Toxascaris leonina***

### **1.2.1. Etiologia**

*Toxascaris leonina* é um parasita de cães e gatos que apresenta distribuição mundial (Ballweber, 2001). As fêmeas adultas podem ter um comprimento até 10 cm, sendo que os ovos de *T. leonina* desenvolvem-se muito rapidamente, atingindo o seu estágio infeccioso em cerca de uma semana.

### **1.2.2. Ciclo de vida**

Este parasita pode apresentar um ciclo de vida direto ou indireto, pela ingestão de um hospedeiro paraténico (Ballweber, 2001). No caso de os ovos serem ingeridos por roedores ou outros animais que não sejam o hospedeiro definitivo, a larva eclode e invade a parede do intestino, onde enquista e permanece por cerca de uma semana antes de migrar para outros tecidos onde volta a enquistar e permanece no estado infetante. Podemos assim concluir que, os hospedeiros definitivos, se infectam através da ingestão de ovos infetantes ou de roedores com larvas infetantes enquistadas nos seus tecidos (Bowman, 2014).

Quando o cão, gato ou outro hospedeiro definitivo ingerem o ovo infetante ou um roedor, a larva invade a mucosa do intestino delgado. O seu rápido desenvolvimento pode explicar a persistência de infecção por *T. leonina*, mesmo em locais higienizados, mas com colónias de cães (Bowman, 2014).

O seu ciclo de vida não apresenta via de transmissão transplacentária e transmamária, sendo que *T. leonina* é menos patogénico e também menos frequente, comparativamente a *T. canis* (Zajac & Conboy, 2012). Sendo assim, não ocorrem migrações extra-intestinais, sendo o seu período pré-patente de 7 a 11 semanas, se os ovos forem ingeridos. No entanto, no caso do hospedeiro definitivo ingerir o hospedeiro paraténico, o período pré-patente é reduzido em, aproximadamente, duas semanas (Ballweber, 2001).

### **1.2.3. Sinais clínicos**

No que se refere aos sinais clínicos gerais, estes podem incluir atrasos de crescimento, diarreia ligeira intermitente e abdómen dilatado (Ballweber, 2001).

### **1.2.4. Diagnóstico**

O diagnóstico de *T. leonina* é semelhante ao de *Toxocara* spp. sendo o método de flutuação muito utilizado. Os ovos destes parasitas distinguem-se pelo facto de apresentarem uma forma elíptica, terem uma parede externa e superfície interna da parede estriada, estando o tamanho compreendido entre 75–85 × 60–75 µm (Zajac & Conboy, 2012). Os ovos não apresentam coloração, sendo constituídos apenas por uma célula que não preenche o ovo. Os adultos são brancos, com mais de 10 cm de comprimento sendo encontrados no intestino delgado, podendo ser diferenciados de *Toxocara* spp. baseados na asa cervical, esófago e cauda nos machos (Ballweber, 2001).

### **1.2.3. Terapêutica e Profilaxia**

No que se refere ao tratamento desta parasitose utilizam-se antihelmínticos comuns, tendo como princípios ativos piperazina, febendazol, nitroscanato, ivermectina com pamoato de pirantel, milbemicima oxima, moxidectina com imidaclopride, mebendazol, febantel com praziquantel e pamoato de pirantel, emodepside com praziquantel, nitroscanato e dietilcarbamazina (Alho, Seixas, Rafael & Madeira de Carvalho, 2010).

## **1.3. *Ancylostoma* spp. e *Uncinaria stenocephala***

### **1.3.1. Etiologia**

Os parasitas pertencentes à família Ancylostomatidae são de extrema importância, tanto para a saúde animal, como para a saúde pública, tendo distribuição cosmopolita (Ballweber, 2001). Fazem parte da mesma família parasitas como *Ancylostoma caninum* (cães), *A. braziliense* (cães e gatos), *A. tubaeforme* (gatos), *A. ceylanicum* e *Uncinaria stenocephala* (cães e gatos). As espécies mais comuns do cão em zonas temperadas são *A. caninum* e *U. stenocephala* e *A. braziliense* é endémica em zonas tropicais e subtropicais (Barr & Bowman, 2012; Dhaliwal & Juyal, 2013).

### 1.3.2. Ciclo de vida

Estes parasitas encontram-se no intestino delgado dos hospedeiros definitivos, sendo os mesmos canídeos e felídeos domésticos e silvestres (Alho et al., 2010). O ciclo biológico destes parasitas pode ser direto, havendo a possibilidade de ser indireto na presença de hospedeiros paraténicos (Ballweber, 2001).

A transmissão de *Ancylostoma caninum* em cães ocorre pela via transmamária e por penetração direta da pele pelas larvas infetantes, sendo esta última de grande importância. Podem ainda infetar-se pela ingestão de larvas do terceiro estágio larvar que estejam presentes no ambiente ou em hospedeiros paraténicos, sendo a via transplacentária a menos importante na transmissão (Zajac & Conboy, 2012).

Os ovos não são logo infetantes mas podem embrionar em um ou dois dias, conseguindo as larvas penetrar a pele dos animais (Robertson et al., 2000). Os mesmos são expelidos através das fezes, sendo que as L1 eclodem e desenvolvem-se tornando-se L3 infetantes após duas mudas em cerca de cinco a oito dias em condições ideais, incluindo solos bem drenados, áreas de sombra, zonas quentes e húmidas. A via de infeção percutânea é a mais comum em que, após as larvas penetrarem a pele, entram no sistema circulatório passando para o coração e pulmões, penetrando os alvéolos e, quando o hospedeiro definitivo tosse, são aspiradas e deglutidas terminando o seu desenvolvimento no intestino delgado, realizando, desta forma, uma migração traqueo-pulmonar. Na via oral, os animais ingerem as larvas L3 que entram nas glândulas do estômago e criptas do intestino delgado mudando para L4, retornando ao lúmen do intestino delgado para terminar o seu desenvolvimento, mudando para L5, sendo que o mesmo acontece aquando da ingestão do hospedeiro paraténico (Ballweber, 2001).

A forma de transmissão transmamária ocorre na infeção por *A. caninum* (não acontecendo com *A. tubaeforme* ou *A. braziliense*). Após a exposição, em cães adultos infetados ou imunologicamente competentes, o desenvolvimento de larvas pode ser inibido durante a migração nos músculos esqueléticos ou na parede intestinal, ficando as mesmas em estado latente ou hipobiose. Porém, nas fêmeas, as larvas podem ser reativadas nas duas últimas semanas de gestação, migrando para a glândula mamária, infetando os cachorros, seguindo o mesmo ciclo de vida como na infeção pela via oral, sendo a forma de transmissão mais comum nos cachorros (Ballweber, 2001). A forma de transmissão transplacentária não ocorre no caso do parasita *Ancylostoma caninum* (Bowman, 2014). O período pré-patente é de duas a quatro semanas, podendo variar, dependendo da via de

infecção (Ballweber, 2001). No caso de *Ancylostoma caninum*, independentemente da via de infecção, o período pré-patente é de 14 a 21 dias (Bowman, 2014).

No caso do parasita *Uncinaria stenocephala*, a forma mais comum e importante de infecção é a oral, através da ingestão de larvas do estágio L3 ou de hospedeiros paratênicos contendo as L3 enquistadas nos seus tecidos, sendo que a penetração cutânea pode acontecer, mas raramente (Zajac & Conboy, 2012).

*Ancylostoma caninum* causa perda de grande quantidade de sangue pela hematofagia que realiza, ao passo que *Uncinaria stenocephala* não espolia quantidades tão elevadas de sangue, considerando-se um parasita histófago, sendo que a principal relevância destes parasitas concentra-se na sua capacidade de causar anemia nos animais (Bowman, 2014). *U. stenocephala* tende a ser responsável apenas por doença subclínica (Ballweber, 2001).

### **1.3.3. Sinais clínicos**

Os animais afetados com *Ancylostoma* spp. apresentam sinais clínicos que variam de acordo com a gravidade, desde infecções assintomáticas a anemias fatais que evoluem rapidamente, dependendo da quantidade e da virulência do parasita, assim como da resistência do hospedeiro. *A. caninum* é a espécie mais patogénica nos cães, devido à hematofagia que realiza (Bowman, 2014). Os cachorros gravemente infetados, apresentam sinais como anemia grave que leva à sua morte (Zajac & Conboy, 2012). Podem haver sinais como diarreia, inclusive com melena, podendo ocorrer síndromes hiperaguda, aguda, crónica compensada e crónica descompensada (Bowman, 2014; Dhaliwal & Juyal, 2013; Zajac & Conboy, 2012). A forma hiperaguda é típica da forma de transmissão transmamária, ocorrendo em cachorros que se encontram saudáveis e rapidamente ficam gravemente afetados. A forma aguda resulta de uma exposição de cães mais velhos susceptíveis ou adultos com elevados números de larvas, em que ocorre anemia grave. A forma crónica caracteriza-se por ser compensada, ocorrendo em animais imunocompetentes, não tendo sinais aparentes. A forma secundária (descompensada) ocorre em animais mais velhos com outros problemas (Ballweber, 2001).

A migração de larvas está associada a dermatite e pneumonia, sendo, no entanto incomuns. O problema mais associado a *Ancylostoma caninum* é anemia hipocrómica e normocítica, sendo que, pelo esgotamento das reservas de ferro, se pode tornar anemia hipocrómica microcítica. As fezes podem-se apresentar escuras, pelo sangue parcialmente digerido (Ballweber, 2001).

Os sinais variam tendo em conta a resistência do hospedeiro, sendo que a mesma pode estar relacionada com a capacidade que o hospedeiro tem de limitar o número de larvas que sofre o processo de maturação no intestino delgado, sendo influenciado por factores como a idade e imunidade adquirida. À medida que os animais envelhecem, tornam-se mais resistentes. Há animais que adquirem imunidade devido a uma infeção previamente adquirida que lhes confere um aumento de resistência (Bowman, 2014). A infeção por *Uncinaria stenocephala* é menos patogénica, comparativamente à de *A. caninum*, podendo originar quadros crónicos com presença de diarreia e hipoproteinémia (Zajac & Conboy, 2012).

#### **1.3.4. Diagnóstico**

O diagnóstico de *Ancylostoma caninum* é realizado através de métodos de flutuação, observando-se ovos do tipo ancilostomatídeo com parede fina, ovais, contendo uma mórula com dois a oito blastómeros (Figura 4) (Ballweber, 2001).

Os ovos de *Ancylostoma* spp. apresentam dimensões compreendidas entre 52–79 × 28–58 µm, enquanto que os ovos de *Uncinaria stenocephala* apresentam dimensões compreendidas entre 71–92 × 35–58 µm (Zajac & Conboy, 2012).

Os parasitas adultos de *Ancylostoma caninum* são os que apresentam maiores comprimentos, sendo que os machos medem 12mm e as fêmeas 15-20 mm, aproximadamente. Apresentam coloração avermelhada, com extremidade anterior voltada dorsalmente, resultando numa forma em gancho, sendo encontrados no intestino delgado, especialmente no jejuno (Ballweber, 2001).

Em relação ao parasita *Uncinaria stenocephala*, os adultos apresentam uma coloração esbranquiçada, tendo uma cápsula bucal de forma afunilada, que tem um par de membranas quitinosas, não apresentam dentes dorsais, mas têm um par de dentes subventrais na base. O cone dorsal não se projecta para o interior da cápsula bucal e os machos têm uma bolsa copuladora bem desenvolvida com um lobo dorsal pequeno e dois lobos laterais de maior tamanho que se encontram separados. As suas espículas são estreitas. São frequentemente encontrados no terço posterior do intestino delgado (Ballweber, 2001). Os ovos são semelhantes aos de *Ancylostoma* spp. mas são maiores, apresentam uma parede mais grossa e possuem pólos dissemelhantes (Taylor et al, 2016).

Figura 4 – Ovo do tipo ancilostomatídeo (original)



### 1.3.5. Terapêutica e Profilaxia

Para realização do tratamento nos animais afetados com parasitas da família Ancylostomatidae utilizam-se anti-helmínticos comuns, com substâncias ativas como pamoato de pirantel, febendazol, febantel com praziquantel, ivermectina em associação com pamoato de pirantel, milbemicima individual ou em associação com lufenuron ou praziquantel, moxidectina podendo ser associada a imidaclopride, mebendazol, emodepside com praziquantel, dietilcarbamazina e nitroscanato (Alho et al., 2010; Ballweber, 2001).

A fim de evitar a transmissão destes parasitas ao Homem, deve haver um controlo, prevenindo a infeção nos animais domésticos. Desparasitações mensais, com antihelmínticos, são um método bastante eficaz de prevenir a presença de ovos deste parasita no ambiente (Bowman, 2014). Outra acção de prevenção é impedir que os animais defequem em locais públicos ou recolher as suas fezes e, fundamentalmente, educar a população acerca desta potencial doença e modos de transmissão para que se consiga realizar um controlo eficaz da mesma (Ballweber, 2001).

### 1.3.6. Risco zoonótico

*Ancylostoma caninum* apresenta potencial zoonótico sendo capaz de provocar a síndrome da Larva Migrante Cutânea (LMC) e enterite eosinofílica e *U. stenocephala* provoca, igualmente LMC (Robertson & Thompson, 2002).

As larvas de *Ancylostoma caninum* e *Uncinaria stenocephala* apresentam risco para a saúde pública, podendo penetrar na pele, algo que pode acontecer quando as pessoas

contactam, descalças, com solo ou areia que se encontra contaminada pelas fezes de cães ou gatos contendo as respectivas larvas. Devido às migrações subcutâneas das larvas podem originar-se erupções lineares (Walker et al., 1995). Esta linha eritematosa que se forma torna-se visivelmente elevada e é, mais ou menos, contínua e vesicular. Ao nível da superfície da lesão a mesma fica seca, dando origem a uma fina crosta. O parasita move-se vários centímetros por dia, avançado mais rapidamente em período noturno (Bowman, 2014).

A síndrome da Larva Migrante Cutânea ocorre mais em zonas de maior humidade, como zonas tropicais e subtropicais. Podem revelar-se sintomas, tal como prurido durante algumas semanas (Walker et al., 1995). Porém, podem haver sintomas intestinais ou pulmonares, no caso da larva penetrar em tecidos mais profundos (Robertson et al., 2000).

No que diz respeito à enterite eosinofílica, esta pode provocar sintomas como dor abdominal, diarreia, distensão abdominal, perda de peso e sangramento retal, acreditando-se que esta condição tem sido subdiagnosticada (Landmann & Prociw, 2003; Walker et al., 1995). A gravidade e persistência das lesões encontram-se relacionadas, pelo menos em parte, com a hipersensibilidade, resultado de uma exposição anterior ao parasita (Bowman, 2014).

Na última década, tem havido um aumento de casos de LMC em turistas europeus após os mesmos regressarem de países tropicais (Herbinger, Siess, Nothdurft, von Sonnenburg & Löscher, 2011). Para evitar que a síndrome ocorra, é de extrema importância adotar medidas, tais como utilizar calçado fechado em áreas onde os animais defiquem (Robertson & Thompson, 2002).

## **1.4. *Trichuris vulpis***

### **1.4.1. Etiologia**

O parasita *Trichuris vulpis* pertence ao Filo Nematoda, superfamília Trichuroidea família Trichuridae e género *Trichuris* (Gosling, 2005; Taylor et al., 2016). Este parasita tem como hospedeiros definitivos animais como cães, gatos e carnívoros silvestres como raposas (Taylor et al., 2016). Caracteriza-se por ter uma distribuição global e o seu microbiótomo preferencial é o intestino grosso, principalmente a região do ceco (Taylor et al., 2016; Zajac & Conboy, 2012).

#### **1.4.2. Ciclo de vida**

Em relação ao ciclo de vida os cães infetam-se por via fecal-oral ingerindo ovos contendo larvas infetantes que se encontram presentes no meio ambiente, no solo ou água contaminados pelas fezes de animais infetados. Os ovos são produzidos pelas fêmeas presentes no intestino grosso. Depois de serem libertados pelo hospedeiro nas fezes, compostos apenas por uma única célula, não sendo ainda infetantes, desenvolvem-se até ao estado infetante no ambiente, sendo que se desenvolve uma larva de primeiro estágio dentro do ovo em cerca de 1 mês, só se libertando após ingestão pelo hospedeiro (Bowman, 2014; Dhaliwal & Juyal, 2013; Zajac & Conboy, 2012). O ovo infetante é extremamente resistente, por essa razão os animais podem reinfetar-se após tratamento no caso de estarem em contacto com ambientes contaminados (Bowman, 2014).

#### **1.4.3. Sinais Clínicos**

Normalmente, a maioria das infeções por *T. vulpis* nos cães é assintomática. No entanto, infeções com elevadas cargas parasitárias podem provocar diarreia profusa que pode ser sanguinolenta, originando perda de peso, tiflites, colites, cólicas e inapetência (Bowman, 2014; Ballweber, 2001; Zajac & Conboy, 2012).

#### **1.4.4. Diagnóstico**

O diagnóstico laboratorial é realizado através de métodos de flutuação, de preferência após centrifugação, em que é possível observarem-se os ovos com forma típica de ovo de tricurideos, simétricos, em forma de limão com um opérculo em cada extremidade e de coloração acastanhada, apresentando tamanhos aproximados de  $72 - 90 \times 32 - 40 \mu\text{m}$ . (Zajac & Conboy, 2012).

Em relação às formas adultas, estas têm uma aparência de chicote, esbranquiçados, com cerca de 4,5 a 7,5 cm de comprimento, encontrados presos à mucosa da superfície do ceco e cólon (Ballweber, 2001; Taylor et al., 2016). Os machos distinguem-se por possuírem apenas uma espícula (Zajac & Conboy, 2012).

#### **1.4.5. Terapêutica e Profilaxia**

Deve ser realizado tratamento utilizando anti-helmínticos com substâncias ativas como milbemicima oxima, moxidectina, febendazol, mebendazol, dietilcarbamazina, emodepside com praziquantel e febantel com praziquantel e pamoato de pirantel (Alho et al., 2010). Há estudos que demonstram algum grau de contaminação ambiental com ovos

de *Trichuris vulpis* em parques e jardins públicos e por isso é recomendado a remoção e eliminação dos dejetos (Stoj, Suši, & Lu, 2010; Núñez, Durán, Barrera, Barrera, & Gómez, 2014). Em locais com uma grande densidade populacional de cães, como canis, deve ser feita a higienização regular e correta (Taylor et al, 2016).

#### **1.4.6. Risco Zoonótico**

Apesar de já terem havido casos reportados de tricurirose por *T. vulpis* em humanos, a infecção é rara (Ballweber, 2001). A doença, normalmente, não causa sintomas nos humanos, mas, quando as infecções são graves, pode ocorrer diarreia, disenteria, prolapso retal, dor abdominal, vômitos, dores de cabeça, anemia, eosinofilia e tenesmo (Dhaliwal & Juyal, 2013; Márquez-Navarro et al., 2012).

Existe uma espécie, *Trichuris trichiura*, específica do Homem e outros Primatas, parasitando o intestino grosso (Márquez-Navarro et al., 2012). Foi reportado por Márquez-Navarro et al. (2012) um caso de uma criança de 9 anos com epistaxis severa, dores abdominais e eosinofilia que se concluiu tratar-se de infecção por *T. vulpis*. Esta infecção pode causar nos humanos síndrome da larva migrante visceral (Dhaliwal & Juyal, 2013).

### **1.5. *Strongyloides stercoralis***

#### **1.5.1. Etiologia**

Este nemátode pertencente à ordem Rhabditida, família Strongyloididae apresentando distribuição cosmopolita. Existe, principalmente, em regiões tropicais, estando relacionado com o aparecimento de LMC, enterite e pneumonia em humanos (Dhaliwal & Juyal, 2013; Ballweber, 2001). Apenas as fêmeas partenogênicas são parasitas (Bowman, 2014).

#### **1.5.2. Ciclo de vida**

Este parasita apresenta como hospedeiros o cão, o gato, a raposa, o lobo e o Homem, tendo um ciclo de vida direto. As vias de infecção incluem a via percutânea em que as larvas entram para a circulação sanguínea, passam pelos pulmões e terminam a migração no intestino, onde se fixam no duodeno e jejuno e a autoinfecção. Esta última ocorre quando a larva no estágio L1, presente no intestino, se desenvolve até ao estágio infetante L3, penetrando na mucosa retal ou na pele da região perianal e migra, como nas infecções percutâneas (Ballweber, 2001; Bowman, 2014; Taylor et al., 2016). Pode ocorrer

transmissão transmamária. O período pré-patente é de, aproximadamente, quinze dias (Bowman, 2014).

### **1.5.3. Sinais Clínicos**

A infecção é usualmente assintomática, na maioria dos casos, em todas as espécies domésticas. Quando a doença ocorre, é mais frequente em animais mais novos como cachorros neonatos ou lactentes. Igualmente, há casos de doença em animais que se encontram imunocomprometidos ou imunossuprimidos (Bowman, 2014).

Em cães, a infecção percutânea é mais comum, podendo assim ocorrer dermatite, enterite catarral necrótica e descamação da mucosa intestinal, diarreia moderada a grave, podendo ser mucóide ou sanguinolenta, desidratação e, por vezes, morte do animal (Ballweber, 2001). Em infecções graves, pode haver sinais como broncopneumonia, apresentando os pulmões hemorragias petequiais e equimoses, causadas pela migração das larvas ao saírem dos capilares alveolares (Bowman, 2014).

### **1.5.4. Diagnóstico**

A larva no primeiro estágio pode ser identificada em fezes frescas através da técnica de Baermann. Podem realizar-se coproculturas e proceder à identificação da larva num terceiro estágio, tendo um comprimento de 150–390 µm (Zajac & Conboy, 2012). Pode-se recorrer, igualmente, ao método de flutuação, no qual se observam os ovos com a L1 no seu interior (Alho et al., 2010).

### **1.5.5. Terapêutica e Profilaxia**

O anti-helmíntico de eleição é a ivermectina (Bowman, 2014). Podem ainda ser utilizadas substâncias ativas como mebendazol, selamectina, febendazol e associações de febantel com praziquantel e pirantel (Alho et al., 2010).

### **1.5.6. Risco Zoonótico**

Este parasita apresenta risco zoonótico por ser um agente de LMC enterite e pneumonia, principalmente quando o clima é quente e húmido, sendo o Verão uma estação de maior risco (Ballweber, 2001).

No Homem, a doença pode ser, inicialmente, assintomática, mas, posteriormente, pode originar sintomas tais como prurido, urticária, tosse, bronquite crónica, diarreia, obstipação e dor abdominal, podendo, em casos de indivíduos imunocomprometidos, levar a infecções fatais (Dhaliwal & Juyal, 2013; Zajac & Conboy, 2012).

## **1.6. *Angiostrongylus vasorum***

### **1.6.1. Etiologia**

*Angiostrongylus vasorum* é um nemátode pertencente à ordem Strongylida, superfamília Metastrongyloidea, família Angiostrongylidae estando presente em diversas regiões do mundo, tais como Canadá, África, Europa e América do Sul (Zajac & Conboy, 2012). É responsável por causar sintomas respiratórios como enfisema pulmonar e fibrose que pode levar a problemas cardíacos como insuficiência cardíaca congestiva, sendo pesquisado juntamente com parasitas gastrointestinais pois pode ser detectado em exames coprológicos (Gosling, 2005; Zajac & Conboy, 2012).

### **1.6.2. Ciclo de vida**

O ciclo de vida é indireto, sendo as larvas L1 eliminadas nas fezes dos hospedeiros definitivos, após serem deglutidas, sendo estes o cão, a raposa, o lobo, o coiote e o chacal. Tem como hospedeiros intermediários moluscos gastrópodes que são infetados pela larva L1, albergando a mesma até atingir o estágio L3 infetante, desenvolvendo-se num período de 16 a 18 dias. O cão infecta-se ao ingerir os hospedeiros intermediários, migrando as larvas para os linfonodos viscerais onde se desenvolvem em adultos imaturos após duas mudas, os quais migram para os pulmões e artérias pulmonares, onde completam o seu desenvolvimento. O período pré-patente é de, aproximadamente, sete semanas (Ballweber, 2012; Bowman, 2014; Gosling, 2005; Zajac & Conboy, 2012).

Normalmente, os casos de infecção ocorrem em animais jovens, especialmente com menos de um ano de vida (Ballweber, 2012).

### **1.6.3. Sinais clínicos**

A angiostrongilose é tipicamente assintomática ou associada a sinais leves e intermitentes, pelo menos numa fase inicial de infecção (Ballweber, 2012; Bourque, Conboy, Miller & Whitney, 2008). Normalmente a angiostrongilose canina é uma condição crônica, estendendo-se por meses ou anos, atribuindo-se a maioria dos seus sinais, à presença das formas adultas nos vasos sanguíneos de maiores dimensões e dos ovos e larvas nas arteríolas e capilares pulmonares, levando ao bloqueio dos mesmos, resultando num impedimento da circulação sanguínea, que resulta em insuficiência cardíaca congestiva. A superfície pulmonar apresenta-se com coloração avermelhada-púrpura. Já foi reportado o envolvimento deste parasita na cascata de coagulação do

sangue, daí advindo a possibilidade de estarem presentes hematomas subcutâneos. Nos vasos sanguíneos de maiores dimensões, pode existir endarterite e periarterite que evoluem para fibrose, sendo que as alterações vasculares se podem prolongar ao ventrículo direito, com endocardite com envolvimento da válvula tricúspide (Taylor et al., 2016). Pode causar, potencialmente, doença cardiopulmonar fatal, sendo que foram também reportados casos de doença ocular e do sistema nervoso central (Zajac & Conboy, 2012).

Os sinais clássicos são os de pneumonia, causada pela migração dos parasitas, apresentando, com frequência, sinais de tosse e dispneia. Em casos mais graves, pode-se auscultar, ao nível torácico, um sopro cardíaco sistólico devido à regurgitação da tricúspide. Podem haver ainda sinais gerais como intolerância ao exercício, vômito, diarreia e anorexia (Koch & Willesen, 2009).

As alterações bioquímicas mais comuns são: tempo de protrombina e de tromboplastina parcial ativada prolongados, trombocitopénia, presença de produtos de degradação da fibrina, hiperglobulinémia, anemia e deficiência do fator V (Conboy, 2011; Koch & Willesen, 2009).

#### **1.6.4. Diagnóstico**

O diagnóstico é realizado através dos sinais clínicos do animal, que foram referidos anteriormente, envolvendo igualmente diagnóstico imagiológico com recurso a radiografias torácicas, em que aparecem padrões difusos e intersticiais com pequenas áreas de padrão alveolar, sendo que, com o decorrer da infeção, múltiplas densidades alveolares e intersticiais podem ser visualizadas, principalmente, na zona periférica e caudal dos pulmões, sendo que, em casos crónicos, os padrões são do tipo brônquico e intersticial (Koch & Willesen, 2009). Deve fazer-se diagnóstico diferencial com outros parasitas cardiopulmonares tais como *Dirofilaria immitis* e *Eucoleus aerophilus*, assim como com outras doenças que não sejam parasitárias (Koch & Willesen, 2009).

O método de diagnóstico de eleição é a pesquisa de L1 pela técnica de Baermann ou através de esfregaços fecais diretos ou pela observação de lavados traqueais ou broncoalveolares (Figura 5) (Ballweber, 2012; Denk et al., 2009).

As larvas L1 apresentam um botão cefálico na extremidade anterior e curvatura em forma de 'S' na extremidade posterior, com tamanho de  $340\text{--}399 \times 13\text{--}17 \mu\text{m}$  (Figura 5) (Zajac & Conboy, 2012).

Figura 5 – Larva de primeiro estágio de *Angiostrongylus vasorum* (original)



### 1.6.5. Terapêutica e Profilaxia

Para a terapêutica da infecção podem ser administrados um dos seguintes princípios ativos ou associações: moxidectina, milbemicina, febendazol, imidaclopride-moxidectina, febantel com praziquantel e pirantel, emodepside com praziquantel (Alho et al., 2010; Ballweber, 2012; Conboy, 2004). Três a sete dias após o tratamento, devem ser realizados exames coprológicos de controlo, executando a técnica de Baermann após três meses e, posteriormente, duas vezes por ano (Ballweber, 2012).

Como medidas de prevenção deve-se administrar, mensalmente, um anti-helmíntico nas regiões endémicas e remover de forma adequada as fezes dos animais que estão infetados (Ballweber, 2012; Koch & Willeesen, 2009).

## 2. Céstodes

### 2.1. *Dipylidium caninum*

#### 2.1.1. Etiologia

Este parasita pertence à família Dipylidiidae, é o céstode mais comum dos cães e gatos domésticos, sendo mais pequeno comparativamente a *Taenia* sp., podendo ter um comprimento de mais de 50 cm (Gosling, 2005; Taylor et al., 2016).

Esta espécie tem distribuição cosmopolita, apresentado como hospedeiros o cão, o gato, a raposa e, raramente, o Homem (Taylor et al., 2016; Zajac & Conboy, 2012).

### **2.1.2. Ciclo de vida**

Apresenta um ciclo de vida indireto, tendo como hospedeiros intermediários larvas de pulgas (*Ctenocephalides felis*, *Ctenocephalides canis* e *Pulex irritans*) e piolhos (*Trichodectes canis*) (Ballweber, 2001). A larva cisticercóide de *D. caninum* desenvolve-se nos respectivos hospedeiros intermediários e o cão adquire este céstode ao ingerir estes ectoparasitas. As crianças também se podem infectar desta forma. Pode haver a existência de hospedeiros paraténicos secundários como répteis e pequenos mamíferos. O tempo que *D. caninum* necessita para se desenvolver, de larva cisticercóide até ao parasita adulto, é de duas a três semanas, no intestino delgado. Foi demonstrado que a forma cisticercóide demora aproximadamente um dia, a temperaturas e condições adequadas, a terminar o seu desenvolvimento e tornar-se infetante (Bowman, 2014; Ballweber, 2001; Taylor et al., 2016; Zajac & Conboy, 2012).

Os próglotes grávidos são expelidos nas fezes do animal infetado, acabando por se roturar e libertar os ovos contidos nas cápsulas ovíferas, sendo, posteriormente, ingeridos pelos hospedeiros intermediários, nos quais as oncosferas, presentes nas cápsulas (cada uma com cerca de 20 ovos) dirigem-se para a cavidade geral onde se desenvolvem em formas larvares cisticercóides (Dhaliwal & Juyal, 2013; Taylor et al., 2016).

### **2.1.3. Sinais clínicos**

Normalmente, este parasita não origina sinais, porém a infeção pode causar sinais típicos nos cães tais como rastejar e esfregar em redor da zona anal devido ao prurido existente, conhecido como “sinal do trenó” (Ballweber, 2001; Dantas-Torres, 2008).

### **2.1.4. Diagnóstico**

Normalmente, os tutores conseguem visualizar os segmentos de *D. caninum* na zona perianal ou nas fezes. Apesar disso, o diagnóstico específico é realizado pela identificação dos ovos presentes nas cápsulas ovíferas, através do método de flutuação de Willis, sendo que as mesmas contêm 2 a 63 ovos, com uma média de 25 a 30 ovos, com tamanho de 120–200 µm e os ovos com 35–60 µm (Zajac & Conboy, 2012). Os ovos agrupam-se em cápsulas ovíferas, o que facilita o seu diagnóstico após flutuação e visualização ao microscópio, sendo que quando se encontram individuais é difícil distinguir dos ovos de *Taenia* spp. (Ballweber, 2001).

O céstode adulto apresenta um pequeno escólex com quatro ventosas e um rostro retráctil que contém três ou quatro fileiras de ganchos. Os próglotes grávidos são facilmente

reconhecidos pela sua forma alongada, oval como um bago de arroz, apresentando dois conjuntos de órgãos genitais com um poro que se abre em cada bordo lateral devido à duplicação genital (Taylor et al., 2016).

### **2.1.5. Terapêutica e Profilaxia**

A terapêutica desta parasitose pode ser realizada com recurso a praziquantel e epsiprantel, podendo associar-se pirantel com febantel e praziquantel (Nelson & Couto, 2009). Para prevenir a doença nos humanos, deve-se realizar a desparasitação interna do cão corretamente e controlar os vetores, sendo importante, não só a higiene pessoal como a recolha e eliminação adequada das fezes dos animais (Bowman, 2014; Dhaliwal & Juyal, 2013).

### **2.1.6. Risco zoonótico**

*D. caninum* é um parasita zoonótico, sendo o Homem um hospedeiro acidental, principalmente, existindo um risco acrescido em crianças pequenas pois podem infetar-se ao ingerir a pulga ou piolho infetados (Turner, 1962; Zajac & Conboy, 2012).

Podem apresentar como sinais dor abdominal, prurido na região perianal ou diarreia, sendo os mesmos sinais inespecíficos. Porém, a maioria das vezes, a infeção é autolimitante e assintomática (Dhaliwal & Juyal, 2013; Robertson & Thompson, 2002). Outro sinal evidente de infeção é a presença de proglotes nas fezes (Cabello et al., 2011).

## **2.2. *Echinococcus* spp.**

### **2.2.1. Etiologia**

O género *Echinococcus* engloba duas espécies relevantes na Europa, *Echinococcus granulosus* e *Echinococcus multilocularis*, tendo uma importância maior no que se refere à saúde pública (Ballweber, 2001). Pertencem à ordem Cyclophyllidea e família Taeniidae (Dhaliwal & Juyal, 2013). As formas adultas destes parasitas são muito pequenas com cerca de dois a oito milímetros de comprimento, contendo apenas quatro ou cinco segmentos em que apenas o segmento terminal se denomina de segmento grávido (Bowman, 2014). *E. multilocularis* ocorre nas zonas centrais dos Estados Unidos, Canadá, Alaska e em certas zonas da Ásia e Europa do Norte e Central (Ballweber, 2001; Zajac & Conboy, 2012). No caso de *E. granulosus*, este é endémico na América do Norte e do Sul, Inglaterra, África, Austrália, Nova Zelândia, Médio Oriente e Europa, principalmente países mediterrâneos (Ballweber, 2001).

### **2.2.2. Ciclo de vida**

Este parasita apresenta um ciclo de vida indireto. Os hospedeiros intermediários são herbívoros domésticos e o Homem que é hospedeiro acidental, os quais são infetados através da ingestão de ovos dos parasitas que se encontram nas fezes dos hospedeiros definitivos contendo o metacéstode (Ballweber, 2001; Zajac & Conboy, 2012). Os ovos dão origem às formas larvares que se denominam de *Echinococcus polymorphus* e se alojam nas vísceras do hospedeiro intermediário (Bowman, 2014). No caso de *E. granulosus*, nos hospedeiros intermediários a oncosfera é libertada no intestino delgado indo pela circulação sanguínea para diversos órgãos, estando na forma de quisto hidático ou hidátide em órgãos como fígado e pulmões. O hospedeiro definitivo infeta-se ao ingerir o hospedeiro intermediário com os quistos hidáticos nos seus tecidos. A forma adulta do parasita permanece na mucosa do intestino delgado libertando, posteriormente, os proglotes grávidos nas fezes (Dhaliwal & Juyal, 2013). No caso do parasita *E. multilocularis*, o ciclo de vida é semelhante, alterando apenas os hospedeiros definitivos (raposa, cão, gato, canídeos selvagens e Homem) e intermediários (roedores e porco) (Taylor et al., 2016).

Os quistos hidáticos são uniloculares no caso de *E. granulosus* e multiloculares em *E. multilocularis*, sendo que cada um dos quistos pode levar ao aparecimento de mais do que um parasita no estado adulto. O quisto hidático desenvolve-se em aproximadamente cinco meses para *E. granulosus* e dois a três meses para *E. multilocularis*. Em relação ao período pré-patente é de aproximadamente sete semanas para *E. granulosus* e quatro semanas para *E. multilocularis* (Ballweber, 2001).

### **2.2.3. Sinais clínicos**

Geralmente estes parasitas não provocam sinais clínicos nos hospedeiros definitivos carnívoros. Os quistos hidáticos, nos hospedeiros intermediários, aparentam ser bem tolerados pelos mesmos, aparecendo sinais apenas nos animais mais velhos (Ballweber, 2001).

### **2.2.4. Diagnóstico**

Os ovos de *Echinococcus* spp. têm uma parede espessa com estriações radiais, apresentando no seu interior um embrião hexacanto que permite distinguir o mesmo de grãos de pólen ou outros detritos. Os ovos de *Taenia* spp. e *Echinococcus* spp. são

morfologicamente idênticos, sendo que os ovos de *Echinococcus* apresentam um diâmetro de 25-40 µm (Zajac & Conboy, 2012).

A identificação dos ovos deste parasita pode ser conseguida através de métodos de flutuação, seguidos de observação ao microscópio ótico, podendo apenas identificar-se como ovos de Taeniidae. Pode-se recorrer a outras técnicas como as serológicas, com recurso a coproantígenos, ou moleculares para identificar e confirmar o diagnóstico (Dhaliwal & Juyal, 2013).

Nos hospedeiros definitivos os adultos são pequenos, apresentando comprimentos de apenas 2 a 7mm, tendo um escólex com quatro ventosas, com um rostelo composto por duas fileiras de ganchos, habitando o intestino delgado (Ballweber, 2001).

### **2.2.5. Terapêutica e Profilaxia**

Na terapêutica de equinococose canina utilizam-se substâncias como praziquantel para as duas espécies de *Echinococcus* (Conboy, 2009; Ballweber, 2001). Outra substância ativa que também revela efeitos é epsiprantel (Conboy, 2009). Nas zonas endémicas a desparasitação é realizada a cada mês e meio a fim de prevenir o aparecimento desta parasitose (ESCCAP, 2017).

Deve-se realizar o controlo de animais errantes, prevenir os abates ilegais de ruminantes para consumo humano, evitar que os cães tenham acesso às vísceras e realizar tratamento antihelmíntico aos cães que estejam infetados (Bowman, 2014; Dhaliwal & Juyal, 2013). Deve-se sempre evitar que cães e gatos se alimentem das vísceras cruas de animais (Bowman, 2014). Outra medida, extremamente importante, que se deve adotar é a educação da população para que tenham consciência dos riscos associados (Deplazes et al., 2011). Nos últimos anos têm sido criadas vacinas, que estão disponíveis e têm sido bem sucedidas na prevenção do desenvolvimento de quisto hidático em ovelhas, sendo que as mesmas são submetidas a testes de campo em diversas partes do mundo e que pode ser, em alguns anos, um novo meio de erradicação deste parasita em certos locais. (Bowman, 2014). Num ensaio realizado na Roménia, os resultados foram bastante positivos, em que a vacina conferiu aos animais grandes níveis de imunidade (Morariu et al., 2010).

### **2.2.6. Risco Zoonótico**

O ser humano pode infectar-se com a ingestão de ovos de *Echinococcus* spp. daí ser de extrema importância a utilização de luvas ou a higienização correta das mãos quando se contacta com as fezes dos animais que possam potencialmente estar infectados, assim como a correta lavagem de produtos hortícolas (Bowman, 2014).

O Homem pode sofrer de equinococose alveolar ou equinococose quística, sendo que a primeira é causada pela presença de *E. multilocularis* e a segunda é originada pela presença de *E. granulosus* (Dhaliwal & Juyal, 2013). A transmissão de ovos de *E. granulosus* é bastante grave, principalmente em meios rurais, em que a população não está devidamente informada e existe pouco controlo veterinário (Deplazes et al., 2011; Zajac & Conboy, 2012).

No que se refere aos sinais clínicos, estes variam consoante os órgãos que possam estar envolvidos, sendo que os que estão mais frequentemente afetados são pulmões e fígado (Dhaliwal & Juyal, 2013). Podem surgir sinais como disfunção hepática ou doença respiratória e, se o quisto rebentar, um possível resultado é anafilaxia (Ballweber, 2001).

A infeção no Homem pode levar a casos graves de doença ou até mesmo fatais, sendo mais comum nos casos de infeção por *E. multilocularis* visto que hidátides conseguem proliferar e metastizar, invadindo órgãos vitais, o que pode levar à morte (Deplazes & Eckert, 2001; Deplazes et al., 2011; Zajac & Conboy, 2012).

## **2.3. *Taenia* spp.**

### **2.3.1. Etiologia**

Estes parasitas pertencem à ordem Cyclophyllidea, família Taeniidae (Dhaliwal & Juyal, 2013). Existem numerosas espécies que infetam os pequenos animais, tais como *T. taeniaeformis* em gatos e *T. pisiformis*, *T. multiceps*, *T. hydatigena*, *T. ovis* em cães (Ballweber, 2001).

### **2.3.2. Ciclo de vida**

Apresentam uma distribuição mundial, estando presentes no intestino delgado dos hospedeiros definitivos que adquirem a infeção pela ingestão de metacéstodes, que incluem as formas de cisticerco, coenuros e estrobilocerco, presentes nos tecidos dos hospedeiros intermediários, tendo assim um ciclo de vida heteroxeno. Os hospedeiros intermediários infetam-se, com a forma de metacéstode, através da ingestão de ovos que

foram expulsos nas fezes de carnívoros infetados. O período pré-patente é de um a dois meses, dependendo da espécie (Ballweber, 2001; Zajac & Conboy, 2012).

### **2.3.3. Sinais clínicos**

As infecções no hospedeiro definitivo, geralmente, são assintomáticas, havendo sinais nos hospedeiros intermediários que variam consoante a espécie de parasita (Ballweber, 2001). Normalmente, os únicos sinais que estão associados à presença de formas adultas deste parasita no cão são prurido e irritação anal, podendo, no entanto, apresentar sintomatologia mais grave (Conboy, 2009).

### **2.3.4. Diagnóstico**

O diagnóstico nos hospedeiros definitivos pode ser realizado por observação de proglotes grávidos nas fezes, no pêlo dos animais ou nos locais que habitam. Quando se encontram no estado fresco ou são rehidratados apresentam-se numa forma semelhante á retangular, com um único poro lateral, podendo encontrar-se os ovos com o método da flutuação, sendo os mesmos de coloração acastanhada, ligeiramente ovais, medindo até 49 µm, dependendo da espécie, apresentando estriações radiais na sua camada externa, não conseguindo ser diferenciados dos ovos de *Echinococcus* spp. (Ballweber, 2001).

Os adultos podem medir 2 cm de comprimento, o escólex tem quatro ventosas, um rostelo com duas fileiras de ganchos, proglotes com apenas um poro, estando presentes no intestino delgado (Ballweber, 2001)

### **2.3.5. Terapêutica e Profilaxia**

Para a terapêutica desta parasitose recorre-se ao uso de praziquantel, epsiprantel e febendazol, seguindo as recomendações do fabricante. Para um controlo eficaz é de extrema importância evitar a caça e predação por parte dos cães e gatos sempre que possível, não os alimentando com carne crua, nem com vísceras (Ballweber, 2001).

## **2.4. *Mesocestoides* spp.**

### **2.4.1. Etiologia**

Este parasita é um céstode pertencente à família Mesocestoididae que pode incluir várias espécies como *Mesocestoides corti*, *M. lineatus* e *M. variabilis*, que podem ser encontrados no intestino delgado de carnívoros como cão, raposa, gato mas também em humanos e aves (Gosling, 2005; Zajac & Conboy, 2012).

#### **2.4.2. Ciclo de vida**

O ciclo de vida deste parasita não está totalmente esclarecido. A larva infetante nos hospedeiros definitivos denomina-se *Tetrathiridium bailablei*, equivalente a L3, sendo encontrada na cavidade peritoneal de mamíferos e répteis e nos pulmões de aves (Bowman, 2014; Taylor et al., 2016).

As infecções por *Mesocestoides* spp. em cães e gatos resulta da predação de répteis, aves e mamíferos pequenos. Sendo assim, os hospedeiros definitivos infetam-se pela ingestão do tetrathiridio situada nos tecidos de vários répteis, anfíbios, aves e mamíferos que são os hospedeiros intermediários. Os hospedeiros definitivos libertam os ovos do parasita nas fezes. A maioria dos céstodes tem um período pré-patente de dois meses mas este parasita pode começar a ser libertado após duas semanas de infecção, dando a noção que os antihelmínticos não produziram efeito. *M.corti* desenvolve-se de forma assexuada no intestino dos cães (Bowman, 2014; Zajac & Conboy, 2012)

#### **2.4.3. Sinais clínicos**

Pelo facto do seu ciclo de vida possuir uma fase invasora de tecidos, pode causar peritonite (Gosling, 2005). Já foram reportados casos de peritonite fatal devido a uma infecção causada por um vasto número de tetrathirídios em cães (Zajac & Conboy, 2012).

#### **2.4.4. Diagnóstico**

Em relação ao diagnóstico, o mesmo pode ser feito através da visualização de ovos nas fezes dos hospedeiros definitivos (apesar de ser raro) ou através de métodos de flutuação. Os ovos encontram-se contidos num órgão parauterino de forma redonda, presente na extremidade larga do segmento. Apresentam um diâmetro médio de 30 a 40 µm. O escólex das espécies deste parasita apresenta quatro ventosas, porém não revela a presença de ganchos. Os seus segmentos maduros têm um poro genital mediodorsal. Os segmentos grávidos destacam-se e levam as suas oncosferas para o exterior (Bowman, 2014).

#### **2.4.5. Terapêutica e Profilaxia**

Para a terapêutica desta parasitose, nos casos de peritonite, destaca-se o uso de praziquantel como sendo mais eficaz que febendazol (Papini, Matteini, Bandinelli, Pampurini & Mancianti, 2010).

#### **2.4.6. Risco zoonótico**

No Homem, apesar de bastante raros, já foram reportados casos de parasitose por *M. lineatus* e *M. variabilis*, estando a infecção relacionada com a ingestão acidental ou deliberada de vísceras cruas ou sangue contendo tetratirídios infetantes, presentes nos hospedeiros intermediários. Por vezes o único sinal encontrado é diarreia e observação de parasitas nas fezes (Fuentes, Galán-Puchades & Malone, 2003). Outros sintomas foram descritos como dores abdominais e tonturas (Eom, Kim & Rim, 1992).

### **3. Protozoários**

#### **3.1. *Giardia* spp.**

##### **3.1.1. Etiologia**

*Giardia duodenalis* caracteriza-se por ser um protozoário intestinal flagelado e patogénico, encontrando-se no intestino delgado de cães, gatos e maior parte dos mamíferos incluindo o Homem (Taylor et al., 2016; Zajac & Conboy, 2012). Em relação ao número e nomenclatura corrente das espécies, as mesmas estão sob investigação, sendo que se utiliza a análise molecular para definir os genótipos ou assemblages, aceitando-se que *Giardia duodenalis* se divide em oito (de A a H) (Bowman, 2014). A maioria dos isolados nos cães pertence aos genótipos C e D (Zajac & Conboy, 2012). No caso do ser humano, os isolados pertencem aos genótipos A e B (Bowman, 2014).

##### **3.1.2. Ciclo de vida**

O ciclo de vida deste parasita é simples e direto. O trofozoíto divide-se por divisão binária para produzir mais trofozoítos, que vão enquistar, intermitentemente, produzindo quistos resistentes que saem do hospedeiro, nas suas fezes, para o exterior (Taylor et al., 2016). Estes quistos aparecem nas fezes cerca de uma semana a duas após a infecção (Bowman, 2014). Sendo assim, os cães infetam-se ao ingerir quistos que se encontram presentes no ambiente (Zajac & Conboy, 2012). Cada quisto contém dois trofozoítos que, após serem ingeridos, são libertados fixando-se e multiplicando-se por reprodução assexuada, sendo que cada trofozoíto forma um quisto que resulta, após reprodução, em dois trofozoítos no interior do quisto. Os trofozoítos podem ser libertados nas fezes, principalmente nas infeções agudas, sendo menos resistentes que os quistos. O período pré-patente é de cerca de 5-16 dias, sendo as infeções mais comuns em animais mais jovens, considerados como a mais provável fonte de contaminação ambiental (Ballweber, 2001).

### 3.1.3. Sinais clínicos

As infecções causadas por este parasita podem ser assintomáticas, no entanto pode causar diarreia aguda, crónica ou intermitente, principalmente no caso de cães jovens (Zajac & Conboy, 2012). Pode ocorrer atrofia das vilosidades intestinais e hiperplasia das criptas intestinais, o que resulta numa diminuição da superfície de absorção do intestino delgado, fazendo com que a absorção de água, glucose e sódio fiquem prejudicadas. Ocorre ainda uma diminuição da atividade da dissacaridase, o que, por sua vez, prejudica o processo de digestão. Nos cães, podem ainda existir sinais como diarreia com odor pútrido intenso, esteatorreia, vômitos, anorexia e desidratação (Ballweber, 2001).

### 3.1.4. Diagnóstico

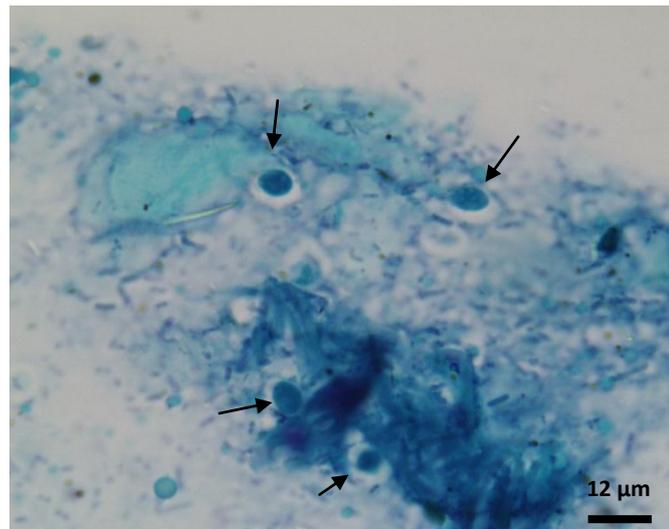
A técnica microscópica mais sensível é a observação de quistos nas fezes. Um método bastante eficaz para detetar os quistos é a flutuação com centrifugação com sulfato de zinco a 33%, visto que outras soluções utilizadas na flutuação causam a sua distorção muito rapidamente. Trofozoítos que apresentam movimento podem ser vistos num esfregaço salino direto em fezes diarreicas frescas ou podem, ainda, ser aspirados por duodenoscopia. Os trofozoítos provavelmente vão aparecer mortos ou irreconhecíveis se a examinação fecal durar mais do que 30 minutos após a colheita da amostra ou se a amostra tiver sofrido processo de refrigeração. Para que seja possível excluir este diagnóstico são necessários vários exames fecais ao longo de cinco a sete dias. O tamanho médio aproximado do quisto é de  $9-13 \times 7-9 \mu\text{m}$  e do trofozoíto é de  $12-17 \times 7-10 \mu\text{m}$  (Zajac & Conboy, 2012).

Os trofozoítos caracterizam-se por apresentarem uma forma de lágrima, com dois núcleos no seu interior, cada um com um grande endossoma, o que faz com que o organismo se assemelhe a uma raquete de ténis com olhos, quando vista ao contrário no microscópio composto (Bowman, 2014). Apresentam, ainda, quatro pares de flagelos, sendo simétricos, bilateralmente, (Ballweber, 2001). Os quistos apresentam forma oval, com dois a quatro núcleos no seu interior e outros elementos próprios dos trofozoítos que os mesmos contêm (Figura 6) (Ballweber, 2001).

A microscopia de contraste de fase é útil para fazer a identificação de trofozoítos e quistos de *Giardia* spp. No caso desta não estar disponível, uma solução possível é colocar uma gota de Lugol no bordo da lâmina que vai corar os trofozoítos e quistos, tornando a sua identificação mais fácil pelo aumento de contraste dos núcleos dentro dos organismos (Bowman, 2014).

Encontram-se, ainda, disponíveis testes como o método de ELISA e IFAT (Zajac & Conboy, 2012). O teste SNAP Giardia<sup>®</sup> como o IDEXX SNAP<sup>®</sup> oferece vantagens por ser preciso e fácil de utilizar, tendo uma metodologia consistente que elimina possíveis erros técnicos (Dryden, Payne & Smith, 2006).

Figura 6 – Quistos de *Giardia* spp. num esfregado fecal (original)



### 3.1.5. Terapêutica e Profilaxia

O tratamento que pode ser realizado em cães baseia-se no uso de febendazol e metronidazole (Ballweber, 2001). Foi reportado, igualmente, tratamento com combinação de febantel, pirantel e praziquantel, podendo também ser utilizado albendazol, com precaução pois pode causar toxicidade na medula óssea (Bowman, 2014).

A prevenção e controlo faz-se ao evitar a contaminação de água e alimentos com matéria fecal (Dhaliwal & Juyal, 2013). Devido ao seu potencial zoonótico é de extrema importância o tratamento dos animais de estimação, visto que os quistos sobrevivem melhor a temperaturas baixas e com humidade, devendo-se manter as áreas secas, lavando com soluções de amónio quaternário e removendo todas as fezes (Ballweber, 2001).

### 3.1.6. Risco Zoonótico

Este parasita apresenta potencial zoonótico sendo de extrema importância pela possível transmissão que pode ocorrer dos animais de companhia para o Homem (Zajac & Conboy, 2012).

As pessoas podem apresentar sintomas como diarreia, inchaço e dor abdominal e a diarreia e flatulência podem persistir em alguns pacientes (Dhaliwal & Juyal, 2013).

Evidências epidemiológicas revelam que os humanos são o principal reservatório de *Giardia* spp. e que a transmissão entre pessoas é mais relevante que a transmissão zoonótica (Schantz, 1991). Pelo facto de cães e gatos possuírem assemblages de *Giardia* spp., que podem ter potencial infetante para o Homem, deve-se considerar o seu potencial zoonótico, principalmente nas pessoas que se encontram imunocomprometidas (Bowman, 2014; Robertson & Thompson, 2002).

A parasitose afecta especialmente crianças, sendo que, rapidamente, a parasitose atinge a família das mesmas e quem contacta com estas, desenvolvendo sintomas. As transmissões mais comuns são fecal-oral e através de água e alimentos (Schantz, 1991).

Os sintomas dependem de fatores inerentes ao parasita, assim como de fatores como a quantidade de inóculo, duração da infeção, idade, entre outros (Wolfe, 1992).

A diminuição de casos de *Giardia* spp. nos humanos, pode estar relacionada com a melhoria das condições sanitárias e seu nível sócio-económico (Haque et al., 2016).

### **3.2. *Cryptosporidium* spp.**

#### **3.2.1. Etiologia**

*Cryptosporidium* spp. é um protozoário da subclasse Coccidea, pertencente à família Cryptosporidiidae (Dhaliwal & Juyal, 2013). Caracteriza-se por ter distribuição cosmopolita, estando presente no Homem, peixes, répteis e aves, tendo uma importância significativa tanto para medicina veterinária como para saúde pública (Ballweber, 2001). São pequenos parasitas que infetam a bordadura em escova das células epiteliais, principalmente, no trato gastrointestinal (Taylor et al., 2016). *Cryptosporidium canis* parece ser a principal espécie que infeta o cão (Zajac & Conboy, 2012). Outra espécie de grande interesse é *Cryptosporidium parvum* que infecta mamíferos incluindo o Homem e bovinos, em especial os vitelos (Ballweber, 2001). Raramente, *Cryptosporidium meleagridis* pode infetar o cão e também o Homem (Taylor et al., 2016).

#### **3.2.2. Ciclo de vida**

Os parasitas pertencentes a este género, apresentam um ciclo de vida monoxeno, mas algumas espécies são capazes de infetar um vasto número de hospedeiros vertebrados (Taylor et al., 2016). A infeção dá-se por via fecal-oral após a ingestão dos oocistos que se encontram no estágio infetante assim que saem nas fezes do animal parasitado (Zajac

& Conboy, 2012). Os oocistos contêm quatro esporozoítos que são libertados nas fezes (Taylor et al., 2016). Estes oocistos infetantes apresentam uma dimensão de 5 a 8 µm de diâmetro, dependendo da espécie (Bowman, 2014). Após a ingestão, os esporozoítos invadem as microvilosidades das glândulas gástricas, a porção inferior do intestino delgado, o ducto biliar ou o trato respiratório, ficando num vacúolo, imediatamente abaixo da membrana da célula hospedeira, estando intracelular mas extracitoplasmático, passando por duas ou três gerações de merontes. Ocorre desenvolvimento assexuado com produção de oocistos em 72 horas. Quando abandonam as células encontram-se esporulados. Existem dois tipos de oocistos que são produzidos, os de parede fina que rompem e reinfetam o hospedeiro e os de parede espessa que passam através das fezes. O período pré-patente pode ser inferior a três dias. Os oocistos são extremamente resistentes às condições existentes no meio ambiente e a vários agentes químicos (Ballweber, 2001).

### **3.2.3. Sinais clínicos**

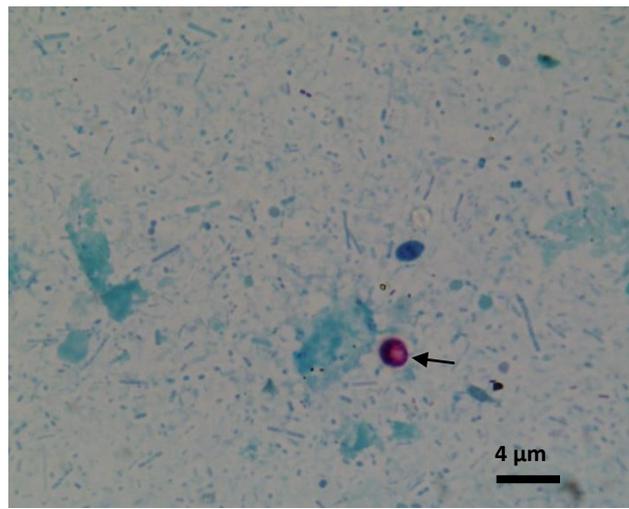
É comum haver infeções inaparentes na maioria dos animais afetados (Bowman, 2014). A infeção pode acontecer em qualquer idade mas é mais comum nos animais com menos de três semanas de vida ou que estejam imunocomprometidos (Bowman, 2014; Ballweber, 2001). Podem ocorrer pequenas reacções nos tecidos, como resposta à presença do parasita, sendo que este diminui a atividade da dissacaridase, resultando na diminuição da degradação de açúcares que leva a um supercrescimento bacteriano, formação de ácidos gordos e alterações na pressão osmótica. Todas estas alterações podem levar ao aparecimento de diarreia aquosa grave (Ballweber, 2001). Pode haver casos, principalmente aquando de infeção por *C. parvum*, de lesões com atrofia das vilosidades, alterações na superfície epitelial e diminuição do tamanho das microvilosidades. Porém, nos animais saudáveis, a doença é autolimitante, resolvendo-se num período aproximado de uma a três semanas (Ballweber, 2001).

### **3.2.4. Diagnóstico**

Para o diagnóstico deste parasita podem realizar-se várias técnicas laboratoriais, tais como a flutuação, simples ou após centrifugação utilizando solução de sacarose saturada. Pode ainda recorrer-se ao teste ELISA, estando vários *kits* comerciais disponíveis para humanos, podendo ser úteis para outros mamíferos, e detectam os antigénios do parasita na amostra fecal. Há igualmente, vários *kits* para Imunofluorescência direta, tendo uma melhor sensibilidade e especificidade, mas requer um microscópio de

Imunofluorescência. Os oocistos podem ser detetados num simples esfregaço fecal corado pela técnica de Ziehl-Neelson, apresentando cor magenta que facilita a sua identificação (Bowman, 2014; Ballweber, 2001; Zajac & Conboy, 2012). Os oocistos são difíceis de identificar pois são bastante pequenos com apenas 3 a 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro (Figura 7) (Ballweber, 2001).

Figura 7 – Oocisto de *Cryptosporidium* spp. (original)



### 3.2.5. Terapêutica e Profilaxia

Não existe nenhum tratamento efectivo específico para infeção por *Cryptosporidium* spp. em animais. A nível de tratamento humano a FDA (Food and Drug Administration) aprovou o uso de nitazonaxide. A substância ativa paromomicina é usada no tratamento de cães e gatos (Bowman, 2014). Utilizam-se ainda fármacos como tilosina e azitromicina (Scorza & Tangtrongsup, 2010).

A nível de prevenção e controlo devem-se tomar medidas como o uso de água fervida, filtrada ou engarrafada, manter higiene pessoal e lavar as mãos após qualquer tipo de contacto com as fezes. As pessoas que têm qualquer tipo de problema que comprometa a sua imunidade devem tomar medidas reforçadas (Dhaliwal & Juyal, 2013).

### 3.2.6. Risco zoonótico

Em relação ao Homem, este infeta-se pelo contacto com pessoas infetadas, animais ou ingestão de alimentos ou água contaminados, havendo cinco espécies de *Cryptosporidium* que o podem infetar, sendo os mais comuns *C. hominis* e *C. parvum*, especialmente em

países industrializados (Xiao, 2010). Os sintomas em humanos incluem diarreia aquosa, dores abdominais e febres ligeiras (Angus, 1983). Nas pessoas imunodeficientes, este parasita pode causar diarreia crónica que pode ameaçar a própria vida (Dhaliwal & Juyal, 2013).

### **3.3. *Cystoisospora* spp.**

#### **3.3.1. Etiologia**

Este parasita pertence ao Filo Apicomplexa, Família Eimeriidae e género *Cystoisospora* (Taylor et al., 2016). É caracterizado por ser um género de parasita relativamente novo que inclui muitas coccídias, anteriormente, classificadas como *Isospora* spp. (Gosling, 2005).

Em relação aos cães, as espécies mais comuns capazes de causar coccidiose, são *Cystoisospora canis*, *C. ohioensis*, e *C. burrowsi*, sendo que a espécie com o maior oocisto é *C. canis* (Bowman, 2014). Estes parasitas localizam-se no intestino delgado, ceco e cólon do seu hospedeiro.

#### **3.3.2. Ciclo de vida**

Este parasita tem como principais hospedeiros definitivos os canídeos domésticos e como hospedeiros paraténicos roedores e pequenas aves (Bowman, 2014; Taylor et al., 2016). Os cães infetam-se pela ingestão de oocistos que se encontram esporulados no ambiente ou por quistos existentes nos tecidos dos hospedeiros paraténicos (Ballweber, 2001; Zajac & Conboy, 2012). A esporulação ocorre no exterior sendo que os oocistos esporulados contendo dois esporocistos que no seu interior contêm quatro esporozoítos (Taylor et al., 2016).

Após os esporozoítos penetrarem nos enterócitos, ocorre a reprodução assexuada, em que são produzidas três gerações. No que se refere à reprodução sexuada produzem-se gâmetas (macrogâmetas femininos e microgâmetas masculinos), sendo que estes últimos se libertam por rotura da célula hospedeira e penetram no macrogâmeta dando-se a fusão de ambos os núcleos. De seguida, forma-se uma parede dando origem ao oocisto não havendo mais desenvolvimento até ser libertado nas fezes do hospedeiro (Taylor et al., 2016). O período pré-patente é de 4 a 11 dias, dependendo da espécie (Ballweber, 2001).

### 3.3.3. Sinais clínicos

Estes parasitas podem levar à destruição das células do hospedeiro, no entanto as infecções tendem a ser auto-limitantes. No caso específico dos cães, normalmente a infecção é inaparente, sendo reportados, ocasionalmente, sinais como diarreia, dor abdominal, desidratação, anorexia e perda de peso. Estes sinais de doença ocorrem mais em animais jovens sob stress ou em animais que estejam debilitados, que tenham infecções maciças ou infetados por uma estirpe de parasita particularmente patogénica (Ballweber, 2001; Zajac & Conboy, 2012). Nos casos mais graves, pode haver diarreia sanguinolenta ou anemia (Zajac & Conboy, 2012). A diarreia caracteriza-se por ser copiosa e aquosa, podendo persistir por várias semanas (Bowman, 2014). Foram, ainda, reportados, em alguns animais, sinais respiratórios e neurológicos (Zajac & Conboy, 2012).

### 3.3.4. Diagnóstico

Para a realização do diagnóstico pode-se recorrer à observação de oocistos não esporulados utilizando o método de flutuação. É de notar que a presença ou ausência de oocistos não se correlaciona, necessariamente, com a presença de doença (Ballweber, 2001). Os oocistos possuem uma parede clara e suave, com formato elíptico, contendo no seu interior uma única célula redonda. Os oocistos de *Cystoisospora* spp. têm tamanho aproximado de  $17 - 27 \times 15 - 24 \mu\text{m}$ , sendo que, mais especificamente, os de *C. canis* têm tamanho aproximado de  $38-51 \times 27-39 \mu\text{m}$  (Zajac & Conboy, 2012).

Após a esporulação, pode visualizar-se em cada oocisto, dois esporocistos contendo quatro esporozoítos (Figura 8) (Ballweber, 2001).

Figura 8 – Oocisto de *Cystoisospora* spp. esporulado (original)



### **3.3.5. Terapêutica e Profilaxia**

Usualmente, as coccídioses, nos cães e gatos, envolvendo as espécies de *Cystoisospora* spp., podem ser controladas utilizando princípios ativos com sulfonamidas como a sulfadimetoxina. No entanto, a maioria dos cachorros saudáveis resolve esta infecção naturalmente, sem ser necessário recorrer a tratamento. A sulfadimetoxina pode ajudar a que o tratamento tenha uma resolução mais acelerada, diminuindo a contaminação ambiental e o potencial de infecção (Lappin, 2010).

Recomenda-se, ainda, o uso de trimetropim-sulfonamida, amprólio em monoterapia ou em combinação com sulfadimetoxina, toltrazuril ou ponazuril, podendo recorrer-se ao uso combinado de toltrazuril com emodepside (Bowman, 2014; Lappin, 2010).

Esta infecção é um problema em áreas com más condições sanitárias, os animais devem ser alojados de forma a evitar a contaminação de alimentos e água com oocistos presentes no solo ou fezes infetadas. As fezes devem ser removidas diariamente e incineradas, a jaula deve ser desinfectada com limpeza a vapor à pressão ou água fervente com solução de amónia a 10%. Deve-se evitar o contacto dos cães com os hospedeiros paraténicos e não devem ser alimentados com comida crua (Dubey, Lindsay & Lappin, 2009).

Em ambientes com infecções graves, deve-se realizar o tratamento de todos os animais, particularmente cachorros (Lappin, 2010)

## **IV. Pesquisa de parasitas em fezes de cão colhidas em espaços públicos de várias localidades da freguesia de Mafra.**

### **1. Objetivos**

O presente estudo teve como principais objetivos:

- Identificar as espécies de parasitas intestinais e as de carácter zoonótico que são observados nas amostras de fezes colhidas em espaços públicos de várias localidades da freguesia de Mafra.
- Determinar as prevalências dos principais parasitas gastrointestinais presentes nas fezes colhidas;
- Procurar identificar se há relação entre a presença de parasitismo nas fezes e a exposição à luz solar.
- Tentar relacionar a consistência das amostras fecais com a presença de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

## **2. Material e métodos**

### **2.1. Caracterização da área geográfica em estudo**

Segundo os censos realizados em 2011, Mafra foi um dos concelhos onde se verificou aumento significativo de população, com crescimento de 41,1% entre 2001 e 2011, apresentando um número total de 17 986 habitantes residentes e 17 318 presentes (INE, 2012). A freguesia de Mafra é sede do concelho de Mafra, que pertence à Área Metropolitana de Lisboa, tendo uma extensão de 291,66 km<sup>2</sup>, compreendendo um total de 11 freguesias: Azueira e Sobral da Abelheira, Carvoeira, Encarnação, Enxara do Bispo, Gradil e Vila Franca do Rosário, Ericeira, Igreja Nova e Cheleiros, Mafra, Malveira e São Miguel de Alcainça, Milharado, Santo Isidoro, Venda do Pinheiro e Santo Estêvão das Galés (Câmara Municipal de Mafra, comunicação pessoal, 2019).

A freguesia de Mafra é constituída por 38 localidades (Freguesia de Mafra, 2019), sendo que foram seleccionadas algumas das mesmas como consideradas mais relevantes pela presença de mais cães e mais espaços públicos em que há mútuo contacto dos animais de companhia com as pessoas e que tivessem um maior número de população residente para a recolha das amostras de fezes.

### **2.2. Caracterização da população canina da freguesia de Mafra**

De acordo com dados recolhidos, o número de cães registados na freguesia de Mafra ativos regularizados era de 2176 cães, sendo que, no total, os cães registados ativos eram 5181, porém nem todos os animais se encontram regularizados (Junta de Freguesia de Mafra, comunicação pessoal, 2019).

### **2.3. Locais de colheita**

As amostras analisadas no âmbito deste estudo foram colhidas na freguesia de Mafra, em diferentes localidades da mesma, em parques de lazer, jardins públicos e zonas habitacionais que englobam espaços verdes utilizados para passear os animais de estimação.

As amostras foram colhidas de forma aleatória, não se conhecendo qualquer tipo de característica do animal a que pertenciam, objetivando-se assim, com este estudo, entender e caracterizar o grau de parasitismo existente nos espaços públicos na região de Mafra.

Os jardins e parques públicos escolhidos têm uma grande variabilidade no que se refere às suas dimensões, reconhecendo-se 13 locais de recolha de amostras, sendo que os mesmos

foram identificados por letras, por ordem alfabética e, dentro de cada zona, as amostras individuais foram identificadas por números, pela ordem em que foram colhidas.

- A: bairro habitacional composto por pequenos espaços verdes e pavimento de calçada, localizado na vila de Mafra.
- B: Zona habitacional, que compreende tanto pavimento de calçada como um parque público que tem o propósito de passear os cães, funcionando como um parque para cães, na vila de Mafra.
- C: Jardim relvado com parque de merendas localizado em zona habitacional composta por prédios, no centro de Mafra.
- D: Zona residencial com pequenas áreas de jardim entre os vários edifícios que a compõem, com pavimento de calçada e ainda composto por vários trilhos, na zona norte de Mafra.
- E: Localidade da Paz, na saída norte do centro de Mafra, com zonas de mata e estradas por onde foram colhidas as fezes.
- F: Praça do centro da aldeia do Sobreiro, e algumas zonas de relvado na mesma região.
- G: Conjunto de várias ruas com zonas de relvado na localidade de Salgados.
- H: Ruas na zona habitacional na localidade da A- da – Perra.
- I: Ruas em zona habitacional na localidade de Pinhal dos Frades.
- J: Zona Residencial, com conjuntos de ruas de calçada e pequenos relvados na zona da Quinta das Pevides, zona oeste de Mafra.
- L: Localidade de Almada, num bairro residencial, junto a parque infantil.
- M: Localidade da Carapineira, na saída este de Mafra, em zonas habitacionais, estradas e caminhos por onde se recolheram as fezes.
- N: Zona centro de Mafra, bairro residencial com jardim central.

#### **2.4. Período de recolha**

As amostras, presentes no ambiente, foram colhidas ao longo das várias semanas de trabalho laboratorial, que teve início dia 28 de Janeiro de 2019. A recolha era realizada aos fins-de-semana e a análise das mesmas efectuada no decorrer da semana seguinte. As temperaturas médias rondavam os valores de 16,6°C, com valor máximo de 21°C e mínimo de 12°C evitando-se os períodos em que ocorria precipitação.

## **2.5. Amostras**

Durante o período referido anteriormente, recolheram-se 130 amostras que se encontravam em bom estado de conservação e que aparentavam ser frescas. Não foram colhidas fezes de aspecto ressequido ou que mostravam sinais de degradação. As fezes foram colhidas para o interior de sacos de plástico, previamente identificados com a letra correspondente ao local e o número da amostra, e foram imediatamente colocadas numa mala térmica para refrigeração, com temperatura que rondavam os 8°C, ficando guardadas até ao momento da análise laboratorial, no máximo até dois dias. Foram ainda identificadas com a data da colheita, local em que se encontravam (como, por exemplo, perto de bancos ou zonas de arvoredos) e ainda se estavam expostas ao sol ou se estavam em zonas de sombra. No momento da colheita foi avaliada e anotada a consistência das fezes.

## **2.6. Técnicas laboratoriais**

### **2.6.1. Exame macroscópico**

Todas as amostras foram observadas macroscopicamente, para possível visualização de parasitas adultos como, por exemplo, nemátodes ou céstodes.

### **2.6.2 Técnica de flutuação de Willis (Willis, 1921)**

Esta técnica é um método qualitativo, na qual se recolhem 3 a 4 gramas da amostra de fezes e se colocam dentro de um copo de plástico contendo cerca de 15 ml de solução saturada de açúcar, homogeneizando-se com uma vareta de vidro. Após ficar completamente dissolvido, filtra-se através de um passador e com a ajuda de um funil, vertendo-se para um tubo de ensaio até criar no topo um pequeno menisco convexo, no qual se aplica de imediato uma lamela após remoção dos detritos de maiores dimensões, tendo o cuidado de não criar bolhas de ar. Deixa-se repousar por um período mínimo de 15 minutos para que os ovos flutuem, aderindo à lamela. Passado este tempo, retira-se a lamela do tubo de ensaio e coloca-se sobre uma lâmina, previamente identificada com o número respetivo da amostra, para a mesma ser observada ao microscópio ótico em ampliação de 40x, 100x e 400x. Esta técnica é utilizada para a pesquisa de ovos de nemátodes e céstodes, assim como de oocistos de protozoários, sendo possível graças às diferenças de densidade entre a solução saturada de açúcar e a dos ovos ou oocistos, sendo que determinados ovos de parasitas gastrointestinais flutuam enquanto que outros, com densidade superior à da solução saturada, vão sedimentar no fundo do tubo de

ensaio. Todos os ovos foram observados ao microscópio ótico Olympus DP10, modelo BX50F, que continha ocular métrica que permitiu a medição dos ovos para identificar a espécie dos mesmos (Anexo 5). Foram utilizadas as tabelas de Thienpont, Rochette & Vanparijs (1979) na identificação dos ovos encontrados.

### **2.6.3. Técnica de Sedimentação natural (Hoffman, Pons e Janer, 1934)**

A Técnica de Sedimentação Natural foi realizada em simultâneo com a Técnica da Flutuação de Willis, pelo facto de os primeiros passos serem, respetivamente, os passos referidos, anteriormente, para a realização da Técnica de Flutuação de Willis, utilizando-se, devido a isso, os mesmos tubos de ensaio. Elimina-se o sobrenadante e coloca-se 1 a 2 gotas de Azul de Metileno no sedimento observando-se, posteriormente, entre lâmina e lamela ao microscópio ótico numa ampliação de 40x, 100x e 400x (ocular 10x e objetivas x4, x10 e x40, respetivamente) (Anexo 6).

### **2.6.4. Técnica de Baermann (Baermann, 1917)**

De cada amostra, foi recolhida uma porção de fezes para a realização da Técnica de Baermann, a qual consiste num método de concentração de larvas de parasitas pulmonares a partir de fezes frescas. A amostra colhida foi envolvida no centro de uma compressa de gaze a qual foi colocada, seguidamente, num copo cónico, contendo água morna, pousando a bolsa formada no interior do copo e mergulhando a totalidade da amostra fecal na água. Deixa-se a amostra repousar durante 24 horas e, após esse período, a amostra é retirada do copo, esperando-se cerca de 15 minutos para que as partículas em suspensão possam sedimentar. De seguida, elimina-se o sobrenadante e com uma pipeta, recolhe-se parte do sedimento que é colocado entre lâmina e lamela, observando-se em microscópio ótico numa ampliação de 100x e 400x (Anexo 7).

### **2.6.5. Esfregaço Fecal corado pela técnica de Ziehl-Neelsen (Casemore, Armstrong & Sands, 1985)**

Uma das técnicas igualmente realizadas foi a do esfregaço fecal, na qual se retira uma pequena porção de fezes com uma vareta de vidro e distribui-se a mesma numa lâmina de vidro, de modo a se criar uma fina camada. As lâminas ficam a secar ao ar e, após esse período, procedeu-se à coloração pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada. Inicialmente, os esfregaços foram fixados com metanol durante 1 minuto, no fim do qual, sem se lavar, procedeu-se à coloração com fucsina durante 10 minutos e, por fim, lavadas com água

corrente. Seguidamente, as lâminas foram lavadas com ácido clorídrico a 1% para se retirar o excesso de fucsina, realizando-se, novamente, a lavagem com água corrente. Posteriormente, as lâminas foram cobertas com verde malaquite a 0,4% por cerca de 30 segundos a 1 minuto e novamente lavadas com água corrente. Após as lâminas estarem secas, foram observadas numa ampliação de 1000x (ocular x10 e objetiva x100), utilizando-se óleo de imersão para a visualização do esfregaço, percorrendo um mínimo de 30 campos. A realização desta técnica teve como objetivo a pesquisa de oocistos de *Cryptosporidium* spp. e de quistos de *Giardia* spp. (Anexo 8).

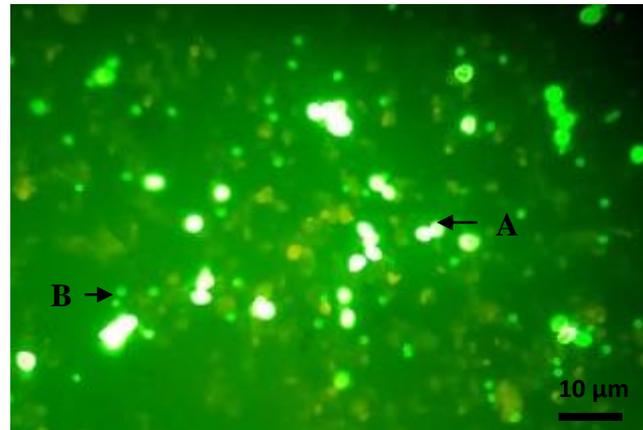
#### **2.6.6. Método de Sedimentação Difásica de Ritchie Modificado (Casemore *et al.*, 1985)**

Este método foi utilizado com o intuito de realizar a concentração de oocistos. Inicialmente pesam-se 2 mL de fezes e adicionam-se a 2 mL de éter sulfúrico num tubo de ensaio devidamente identificado, agitando vigorosamente, para que seja possível a dissolução das gorduras fecais. De seguida, adicionam-se 5 a 6 mL de água destilada e filtra-se por um passador de rede com apenas uma camada de compressa de gaze. Seguidamente, junta-se água destilada até obter um volume total de 10 mL e centrifuga-se por 5 minutos a 1000 xg. Elimina-se a fase contendo o éter e recolhe-se o sobrenadante para um tubo limpo, corretamente identificado e guarda-se o sedimento no tubo utilizado anteriormente. No tubo que contém o sobrenadante, perfaz-se com água destilada um volume de 10 mL, agitando-se e levando a centrifugar a 1200 xg, durante 10 minutos. Despreza-se o sobrenadante e junta-se o sedimento ao obtido anteriormente. Lava-se o sedimento uma vez com água destilada centrifugando a 1200 xg por 10 minutos. Finalmente, ressuspende-se o sedimento final em 1 mL de água destilada e coloca-se uma gota numa lâmina de vidro para ser corada pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada, colocando-se o restante num tubo “eppendorf” de 1,5 mL (Anexo 9).

#### **2.6.7. Técnica da Imunofluorescência Direta (*kit* Crypto/*Giardia* Cell IF)**

As amostras que foram consideradas como duvidosas para *Giardia* spp. ou *Cryptosporidium* spp. nas técnicas de esfregaço fecal direto ou após concentração, corados pelo método de Ziehl-Neelsen, foram submetidas à técnica de Imunofluorescência Direta (*kit* Crypto/*Giardia* Cell IF Cellabs<sup>®</sup>), para que se pudesse confirmar o diagnóstico. O protocolo da técnica encontra-se descrito no Anexo 2.

Figura 9 – Observação de quistos de *Giardia* spp. (A) e oocistos de *Cryptosporidium* spp. (B) em controlo positivo do *kit* de IF (original)



### 2.6.8. Análise Estatística

Os dados, obtidos nas análises coprológicas, foram introduzidos num ficheiro do programa Microsoft Excel 2007<sup>®</sup> e, posteriormente, importados para o programa estatístico R versão 3.5.3. com a extensão RCommander. Foi determinada a prevalência dos parasitas nas amostras fecais e os intervalos de confiança, recorrendo-se à plataforma EpiTools (<http://epitools.ausvet.com.au>), utilizando um nível de confiança de 95%, segundo os Limites de Wilson. Com o programa R, conseguiu-se analisar os dados através do teste Qui-quadrado e tabelas de contingência. Os resultados foram considerados como sendo estatisticamente significativos quando o valor de p era inferior a 0,05. O teste exato de Fischer foi utilizado para tentar analisar a possível associação entre a presença de parasitas em fezes à sombra ou expostas ou sol e para associar a presença de parasitas com o local onde as amostras foram colhidas.

## 3. Resultados

### 3.1. Caracterização das amostras

No total, foram colhidas 130 amostras, 10 em cada um dos 13 locais de recolha. As amostras foram analisadas com os métodos anteriormente referidos para a respetiva identificação parasitológica, estando os resultados obtidos esquematizados na Tabela 2 e no Anexo 1 (Tabela 21).

Tabela 2 – Síntese dos resultados gerais obtidos (n=130)

| Parasita                                 | Frequência absoluta | Prevalência | IC 95%       |
|--|---------------------|-------------|--------------|
| <i>Giardia</i> sp.                       | 11                  | 8,5%        | 4,3% - 14,6% |
| <i>Uncinaria</i><br><i>stenocephala</i>  | 4                   | 3,1%        | 0,8% - 7,7%  |
| <i>Toxocara canis</i>                    | 3                   | 2,3%        | 0,5% - 6,6%  |
| <i>Cryptosporidium</i><br>spp.           | 3                   | 2,3%        | 0,5% - 6,6%  |
| <i>Cystoisospora</i> spp.                | 1                   | 0,8%        | 0% - 4,2%    |
| <i>Angiostrongylus</i><br><i>vasorum</i> | 1                   | 0,8%        | 0% - 4,2%    |

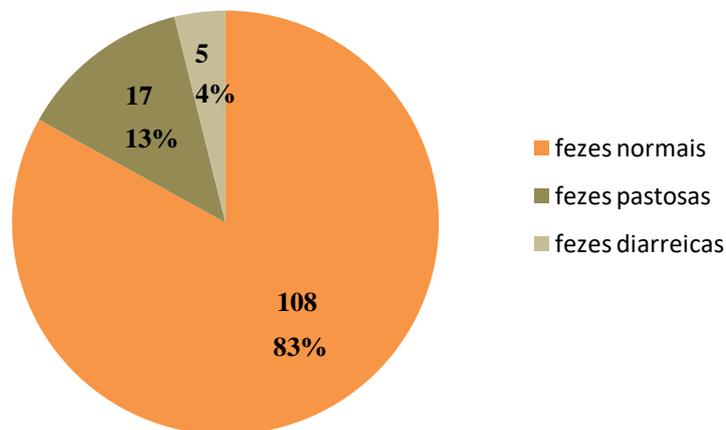
Na Tabela 3 encontram-se registados os resultados gerais dos parasitas encontrados nesta pesquisa, com indicação da prevalência dos mesmos, considerando um intervalo de confiança de 95% [IC 95%].

Das 130 amostras analisadas, 19 revelaram a presença de, pelo menos, um parasita sendo, desta forma, a prevalência global de 14,6% [IC 95%: 9% - 22%]. Destas 19 amostras positivas, 15 eram infecções simples com apenas um género de parasita e quatro apresentavam coinfeções com pelo menos dois parasitas. Os parasitas mais comuns foram os protozoários, detetados em 14 amostras, seguidos pelos nemátodes encontrados em cinco amostras.

### 3.2. Observação Macroscópica

Através da observação macroscópica das amostras de fezes não foram observados parasitas adultos em nenhuma das amostras (n=130). Estas foram analisadas macroscopicamente para avaliação do seu aspeto em que 83% (108/130) foram consideradas normais, 13% (17/130) de consistência pastosa e 4% (5/130) foram consideradas diarreicas (Gráfico 1).

Gráfico 1 – Distribuição das amostras segundo a consistência das fezes (n=130)



### 3.3. Método de Flutuação pela Técnica de Willis

Através deste método, duas amostras apresentaram ovos do tipo ancilostomatídeo e ovos de *Toxocara canis*, uma amostra revelou a presença de ovos de *Cystoisospora* spp. e duas amostras revelaram a presença de ovos do tipo ancilostomatídeo. Os ovos presentes na amostra C3 apresentavam comprimentos entre 60 e 75  $\mu\text{m}$  (média: 61  $\mu\text{m}$ ) e largura entre 35 e 45  $\mu\text{m}$  (média: 39,5  $\mu\text{m}$ ). Na amostra C7, a média de comprimento foi de 65,7  $\mu\text{m}$  e de largura de 39,7  $\mu\text{m}$ , na amostra G1 a média foi de 65  $\mu\text{m}$  de comprimento e 37,5  $\mu\text{m}$  de largura, sendo assim classificadas, segundo a espécie a que pertencem, como ovos de *Uncinaria stenocephala*. No caso, dos ovos encontrados em G5, a média de valores de comprimento era de 50  $\mu\text{m}$  e de largura 28,33  $\mu\text{m}$ , não se conseguindo chegar a uma conclusão da espécie pertencente, apresentando forma típica de ovo de ancilostomatídeo, mais concretamente de *Uncinaria stenocephala* pelos pólos dissemelhantes que apresenta e camada externa mais espessa.

### 3.4. Técnica de Sedimentação Natural

Nesta técnica foram observados parasitas em duas amostras, na amostra C7 e H10. Na primeira identificaram-se ovos de *Toxocara canis* e na segunda constatou-se coinfeção com a presença de *Toxocara canis* e larvas de *Angiostrongylus vasorum*.

### **3.5. Técnica de Baermann**

Com recurso a esta técnica, conseguiu-se identificar larvas de *Angiostrongylus vasorum*, um parasita pulmonar, na amostra H10 e ovos de *Toxocara canis* na amostra C3, não sendo, contudo, esta técnica habitualmente utilizada para a pesquisa destes ovos. Foram, igualmente identificados nemátodes de vida livre em seis amostras.

### **3.6. Parasitas observados em esfregaços fecais**

#### **3.6.1. Esfregaços fecais corados pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada**

Na observação dos esfregaços das 130 amostras, foram observados quistos de *Giardia* spp. em 11 amostras, nomeadamente A5, B2, F6, G6, H1, H8, L9, M9, N2, N5 e N8 oocistos de *Cryptosporidium* spp. em três amostras, G1, J3 e M8. Para além destas amostras referidas, foram consideradas como duvidosas seis amostras em relação a quistos de *Giardia* spp. e uma amostra em relação a oocistos de *Cryptosporidium* spp.

#### **3.6.2. Método da Sedimentação Difásica de Ritchie Modificado**

Nesta técnica foram observados quistos de *Giardia* spp. nas 11 referidas anteriormente nos resultados dos esfregaços fecais corados pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada e oocistos de *Cryptosporidium* spp. em duas amostra, G1 e J3.

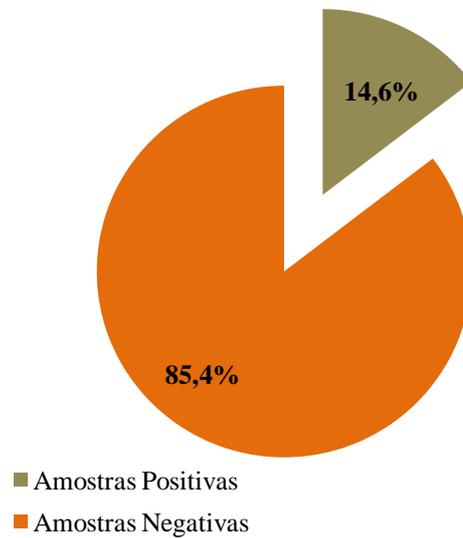
#### **3.6.3. Técnica de Imunofluorescência Direta**

Utilizou-se esta técnica em sete amostras, cujos resultados foram considerados duvidosos aquando da observação dos esfregaços fecais quer pela técnica de esfregaço fecal simples quer após a técnica da sedimentação difásica de Ritchie Modificado. Dessas amostras, seis foram consideradas negativas para ambos os parasitas, tendo a G1 sido considerada positiva para oocistos de *Cryptosporidium* spp.

### **3.7. Resultados gerais**

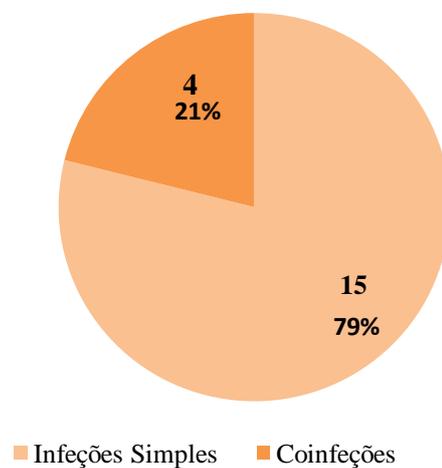
As amostras nas quais se identificaram parasitas, considerando-as como positivas, foram colhidas dos locais A, B, C, F, G, H, J, L, M, com um total de 19 amostras positivas correspondendo a uma proporção de 14,6% (19/130). Os locais nos quais não se encontraram nenhuma amostras parasitadas foram o D, E e I. Os resultados gerais da proporção de amostras positivas e negativas encontram-se no Gráfico 2.

Gráfico 2 – Proporção geral de amostras positivas e negativas



Relativamente às infeções simples estas ocorreram na grande maioria dos locais onde se recolheram as amostras positivas. As coinfeções apenas se identificaram nos locais C, H e G, existindo apenas quatro amostras em que se verificou coinfeção. Os resultados referentes encontram-se no Gráfico 3 e na Tabela 21.

Gráfico 3 – Proporção de infeções simples e coinfeções nas amostras consideradas positivas



Em relação, especificamente, à zona em que as amostras foram colhidas, determinou-se uma maior prevalência geral de parasitismo na região G, H, M e N, respetivamente na localidade dos Salgados, A-da-Perra, Carapineira e Mafra (oeste), tendo em conta que a prevalência de cada zona foi calculada fazendo a relação entre o número de animais infetados pelo número de amostras colhidas em cada localidade (n=10), estando os resultados presentes na Tabela 4. As menores prevalências foram constatadas nas zonas D, E e I, que registaram prevalências nulas, sendo, respetivamente as localidade de Mafra (zona norte), Paz e Pinhal dos Frades. Foi constatado que nas zonas A, B, L e N o único parasita encontrado nas amostras analisadas foi *Giardia* spp., na zona C verificou-se coinfeção entre *Toxocara canis* e *Uncinaria stenocephala* nas duas amostras que se revelaram positivas, na zona F uma das amostras foi positiva para *Cystoisospora* spp. e outra para *Giardia* spp, na zona G das três amostras positivas uma apresentava *Giardia* spp., outra *Uncinaria stenocephala* e outra apresentava coinfeção entre *Uncinaria stenocephala* e *Cryptosporidium* spp. Na zona H verificaram-se duas amostras positivas a *Giardia* spp. e uma amostra positiva com coinfeção entre *Toxocara canis* e *Angiostrongylus vasorum*. Na zona J constatou-se uma amostra positiva para *Cryptosporidium* spp. e na zona L houve uma amostra positiva para *Giardia* spp. Por fim, na zona M constatou-se a presença de duas amostras positivas a *Giardia* spp. e uma amostra positiva a *Cryptosporidium* spp. e na zona N, três amostras positivas a *Giardia* spp. como está explícito na Tabela 4, estando os locais de recolha, igualmente, especificados no Anexo 10.

Tabela 3 – Prevalências de parasitismo determinadas em cada zona de colheita (n=10)

| Local de Recolha | Animais Parasitados | Prevalência | IC 95%        |
|------------------|---------------------|-------------|---------------|
| A                | 1                   | 10%         | 0,25% - 44,5% |
| B                | 1                   | 10%         | 0,25%-44,5%   |
| C                | 2                   | 20%         | 2,5%-55,6%    |
| D                | 0                   | 0%          | -             |
| E                | 0                   | 0%          | -             |
| F                | 2                   | 20%         | 2,5%-55,6%    |
| G                | 3                   | 30%         | 6,7%-65,2%    |
| H                | 3                   | 30%         | 6,7%-65,2%    |

| Local de Recolha | Animais Parasitados | Prevalência | IC 95%        |
|------------------|---------------------|-------------|---------------|
| I                | 0                   | 0%          | -             |
| J                | 1                   | 10%         | 0,25% - 44,5% |
| L                | 1                   | 10%         | 0,25% - 44,5% |
| M                | 3                   | 30%         | 6,7%-65,2%    |
| N                | 3                   | 30%         | 6,7%-65,2%    |

Tabela 4 – Locais de colheita e identificação dos parasitas identificados.

| Local de Recolha | <i>Giardia</i> spp. | <i>Toxocara canis</i> | <i>Uncinaria stenocephala</i> | <i>Cryptosporidium</i> spp. | <i>Angiostrongylus vasorum</i> | <i>Cystoisospora</i> spp. |
|------------------|---------------------|-----------------------|-------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|---------------------------|
| A                | +                   | -                     | -                             | -                           | -                              | -                         |
| B                | +                   | -                     | -                             | -                           | -                              | -                         |
| C                | -                   | +                     | +                             | -                           | -                              | -                         |
| D                | -                   | -                     | -                             | -                           | -                              | -                         |
| E                | -                   | -                     | -                             | -                           | -                              | -                         |
| F                | +                   | -                     | -                             | -                           | -                              | +                         |
| G                | +                   | -                     | +                             | +                           | -                              | -                         |
| H                | +                   | +                     | -                             | -                           | +                              | -                         |
| I                | -                   | -                     | -                             | -                           | -                              | -                         |
| J                | -                   | -                     | -                             | +                           | -                              | -                         |
| L                | +                   | -                     | -                             | -                           | -                              | -                         |
| M                | +                   | -                     | -                             | +                           | -                              | -                         |
| N                | +                   | -                     | -                             | -                           | -                              | -                         |

Legenda:

+ : Presença do parasita no local de recolha

- : Ausência do parasita no local de recolha

Na Tabela 5 podemos constatar, recorrendo ao teste exato de Fisher e ao teste de Qui-quadrado, que não existe associação estatisticamente significativa para um nível de significância de 0,05, entre a amostra ser colhida longe de Mafra e apresentar parasitas, visto o valor de p ter sido, respetivamente de 1 no teste exato de Fisher e 0,835 no teste de Qui-quadrado ( $p > 0,05$ ). Para realizar o teste, caracterizou-se inicialmente, a proximidade entre as 13 localidades ao centro de Mafra, sendo que as classificadas como estando perto encontravam-se na localidade de Mafra ou a aproximadamente 5 km do centro da mesma estando os restantes locais de recolha mais distantes, sendo assim classificados como estando longe.

Tabela 5 – Relação entre a proximidade à Vila de Mafra e a presença de parasitas (n=13)

|       | Presença de parasitas<br>N (%) | Ausência de parasitas<br>N (%) | Total<br>N (%) |
|-------|--------------------------------|--------------------------------|----------------|
| Perto | 6 (75)                         | 2 (25)                         | 8 (100)        |
| Longe | 4 (80)                         | 1 (20)                         | 5 (100)        |

### 3.8. Relação entre a presença de *Giardia* spp. e os locais de colheita

Recorrendo ao teste exato de Fisher, verifica-se que existe associação estatisticamente significativa para um nível de significância de 0,05, entre a amostra ser colhida na localidade N (zona centro de Mafra) e apresentar parasitas, visto o valor de p ter sido, respetivamente de 0,039 no teste de Fisher ( $p < 0,05$ ). Nas restantes zonas onde se verificaram amostras positivas para *Giardia* spp. (Tabela 6), os resultados de ambos os testes efetuados não mostraram correlações estatisticamente significativas ( $p > 0,05$ ), estando as tabelas referentes a essa análise em Anexo 3, sendo que nas localidades A, B, F, G e L se verificou-se valor de p no teste de Fisher de 1 ( $p > 0,05$ ). Nas localidades L e M observou-se valor de p de 0,201 no teste exato de Fisher ( $p > 0,05$ ).

Tabela 6 - Distribuição da presença ou ausência de *Giardia* spp. em relação à localidade  
N (n=130)

|                 | Presença de <i>Giardia</i> spp.<br>N(%) | Ausência de <i>Giardia</i> spp.<br>N(%) |
|-----------------|---|---|
| Zona N          | 3 (27,3)                                | 7 (5,9)                                 |
| Restantes Zonas | 8 (72,7)                                | 112 (94,1)                              |
| Total           | 11 (100)                                | 119 (100)                               |

### 3.9. Relação entre a presença de coinfeção por *Toxocara canis* e *Uncinaria stenocephala* e os locais de recolha

Para tentar compreender a possível existência de relação entre a presença de coinfeção por *Toxocara canis* e *Uncinaria stenocephala* e a zona C (zona centro de Mafra), realizou-se o teste exato de Fischer, verificando-se a existência de associação estatisticamente significativa através do mesmo, com o valor de p de 0,005 ( $p < 0,05$ ) (Tabela 7).

Tabela 7 - Distribuição da presença ou ausência de coinfeção por *Toxocara canis* e *Uncinaria stenocephala* em relação à localidade C (n=130)

|                 | Presença de coinfeção<br><i>Toxocara canis</i> e <i>Uncinaria stenocephala</i><br>N(%) | Ausência de coinfeção<br><i>Toxocara canis</i> e <i>Uncinaria stenocephala</i><br>N(%) |
|-----------------|--|--|
| Zona C          | 2 (100)  | 8 (6,2)  |
| Restantes Zonas | 0 (0)  | 120 (93,8)   |
| Total           | 2 (100)  | 128 (100)  |

### 3.10. Relação entre a presença de *Cystoisospora* spp. com o local de recolha F

Através da análise, com recurso teste exato de Fisher, compreendeu-se que não existe associação estatisticamente significativa entre a presença de *Cystoisospora* spp. e o local de recolha F, com valor de p de 0,07 ( $p > 0,05$ ) (Tabela 8).

Tabela 8 - Distribuição da presença ou ausência de *Cystoisospora* spp. em relação à localidade F (n=130)

|                 | Presença de <i>Cystoisospora</i><br>spp. N(%) | Ausência de <i>Cystoisospora</i><br>spp. N(%) |
|-----------------|---|---|
| Zona F          | 1 (100)                                       | 9 (7)   |
| Restantes Zonas | 0 (0)   | 120 (93)                                      |
| Total           | 1 (100)                                       | 129 (100)                                     |

### 3.11. Relação entre a presença de coinfeção por *Uncinaria stenocephala* e *Cryptosporidium* spp. e o local de recolha G

Na análise de relação entre a presença de coinfeção por *Uncinaria stenocephala* e *Cryptosporidium* spp. e o local de recolha G (aldeia dos Salgados), verificou-se não existir associação estatisticamente significativa com valor de p no teste exato de Fisher de 0,071 ( $p > 0,05$ ) (Tabela 9).

Tabela 9 - Distribuição da presença ou ausência de coinfeção por *U. stenocephala* e *Cryptosporidium* spp. em relação à localidade G (n=130)

|                 | Presença de coinfeção por<br><i>U. stenocephala</i> e<br><i>Cryptosporidium</i> spp. N(%) | Ausência de <i>U.</i><br><i>stenocephala</i> e<br><i>Cryptosporidium</i> spp. N(%) |
|-----------------|---|--|
| Zona G          | 1 (100)   | 9 (7)  |
| Restantes Zonas | 0 (0)   | 120 (93)   |
| Total           | 1 (100)   | 129 (100)  |

### 3.12. Relação entre a presença de coinfeção por *A. vasorum* e *T. canis* e o local de recolha H

Com a análise estatística, utilizando o teste exato de Fisher, verificou-se não existir relação estatisticamente significativa entre a presença de coinfeção por *T. canis* e *A. vasorum* e a zona de recolha H, com valor p de 0,07 ( $p > 0,05$ ).

Tabela 10 - Distribuição da presença ou ausência de coinfeção por *Toxocara canis* e *Angiostrongylus vasorum* em relação à localidade H (n=130)

|                 | Presença de coinfeção por<br><i>T. canis</i> e <i>A. vasorum</i> N(%) | Ausência de coinfeção por<br><i>T. canis</i> e <i>A. vasorum</i> N(%) |
|-----------------|---|---|
| Zona H          | 1 (100)   | 9 (7)   |
| Restantes Zonas | 0 (0)   | 120 (93)  |
| Total           | 1 (100)   | 129 (100)   |

### 3.13. Relação entre a presença de *Cryptosporidium* spp. e os vários locais de colheita

Com o teste exato de Fisher, não se constatou uma associação estatisticamente significativa entre a presença de *Cryptosporidium* spp. e a zona de recolha G, com o valor de p de 0,215 ( $p > 0,05$ ) (Tabela 11). Nas zonas J e M não se verificou, igualmente, relação estatisticamente significativa, com iguais valores de p, estando as tabelas no Anexo 4.

Tabela 11 - Distribuição da presença ou ausência de *Cryptosporidium* spp. em relação à localidade G (n=130)

|                 | Presença de<br><i>Cryptosporidium</i> spp. N(%) | Ausência de<br><i>Cryptosporidium</i> spp. N(%) |
|-----------------|---|---|
| Zona G          | 1 (33,3)  | 9 (7,1)   |
| Restantes Zonas | 2 (66,7)  | 118 (92,9)                                      |
| Total           | 3 (100)   | 127 (100)                                       |

### 3.14. Relação entre a presença de *U. stenocephala* e o local de colheita

A fim de testar a possível associação entre a presença de *U. stenocephala* e a zona G, realizou-se o teste exato de Fisher, constatando-se uma associação estatisticamente significativa com o valor de p de 0,029 ( $p < 0,05$ ) (Tabela 12).

Tabela 12 - Distribuição da presença ou ausência de *U. stenocephala* em relação à localidade G (n=130)

|                 | Presença de <i>U. stenocephala</i> N(%) | Ausência de <i>U. stenocephala</i> N(%) |
|-----------------|---|---|
| Zona G          | 2 (50)                                  | 8 (6,3)                                 |
| Restantes Zonas | 2 (50)                                  | 118 (93,7)                              |
| Total           | 4 (100)                                 | 126 (100)                               |

Verificou-se, igualmente, uma associação estatisticamente significativa entre a presença de *Uncinaria stenocephala* e a zona C, apresentando valor de p de 0,029 no teste exato de Fisher (Tabela 13).

Tabela 13 - Distribuição da presença ou ausência de *U. stenocephala* em relação à localidade C (n=130)

|                 | Presença de <i>U. stenocephala</i> N(%) | Ausência de <i>U. stenocephala</i> N(%) |
|-----------------|---|---|
| Zona C          | 2 (50)                                  | 8 (6,3)                                 |
| Restantes Zonas | 2 (50)                                  | 118 (93,7)                              |
| Total           | 4 (100)                                 | 126 (100)                               |

### 3.15. Relação entre a presença de *Toxocara canis* e o local de colheita

Na análise entre a presença de *T. canis* e os dois locais de colheita, constatou-se que na zona C se verifica associação estatisticamente significativa, realizando-se o teste exato de Fisher com o valor de p de 0,015 ( $p < 0,05$ ). (Tabela 14).

Tabela 14 - Distribuição da presença ou ausência de *T. canis* em relação à localidade C (n=130)

|                 | Presença de <i>T. canis</i> N(%) | Ausência de <i>T. canis</i> N(%) |
|-----------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Zona C          | 2 (66,7)                         | 8 (6,3)                          |
| Restantes Zonas | 1 (33,3)                         | 119 (93,7)                       |
| Total           | 3 (100)                          | 127 (100)                        |

No entanto, realizando os mesmos testes estatísticos não se verificou relação estatisticamente significativa entre a presença de *T. canis* e a zona de recolha H, com o valor de p 0,215 no teste exato de Fisher ( $p > 0,05$ ) (Tabela 15).

Tabela 15 - Distribuição da presença ou ausência de *T. canis* em relação à localidade H (n=130)

|                 | Presença de <i>T. canis</i> N(%) | Ausência de <i>T. canis</i> N(%) |
|-----------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Zona H          | 1 (33,3)                         | 9 (7,1)                          |
| Restantes Zonas | 2 (66,7)                         | 118 (92,9)                       |
| Total           | 3 (100)                          | 127 (100)                        |

### 3.16. Relação entre a exposição solar e a presença de parasitas nas amostras fecais

No intuito de se tentar estabelecer uma relação entre a presença de parasitas e a exposição solar realizou-se o teste exato de Fisher, sendo que, a partir do mesmo, se conclui que não existe uma relação estatisticamente significativa para um nível de significância de 0,05 ( $p > 0,05$ ), tendo-se constatado um valor de o valor de p de 0,0625 (Tabela 16).

Tabela 16 – Distribuição da presença ou ausência de parasitas de acordo com a presença de sol ou sombra no local de recolha das amostras (n=130)

|        | Presença de parasitas<br>N (%) | Ausência de parasitas<br>N (%) | Total<br>N (%) |
|--------|--------------------------------|--------------------------------|----------------|
| Sol    | 12 (11,5)                      | 92 (88,5)                      | 104 (100)      |
| Sombra | 7 (26,9)                       | 19 (73,1)                      | 26 (100)       |

### 3.17. Relação entre presença de *Giardia* spp. e a consistência pastosa das fezes

A fim de se averiguar se havia relação entre a presença de *Giardia* spp. e fezes pastosas, realizou-se o teste exato de Fisher, no qual se verificou não haver relação estatisticamente significativa para um nível de significância de 0,05 ( $p > 0,05$ ), tendo-se constatado um valor de o valor de p de 1. A prevalência de *Giardia* nas fezes pastosas era de 5,9% (1/17) (Tabela 17).

Tabela 17- Distribuição da presença ou ausência de *Giardia* em relação a fezes pastosas ou não pastosas (n=130)

|   | Pastosas  | Não pastosas | Total     |
|---|-----------|--------------|-----------|
| Presença de <i>Giardia</i><br>spp. N(%) | 1 (9,1)   | 10 (90,9)    | 11 (100)  |
| Ausência de <i>Giardia</i><br>spp. N(%) | 16 (13,4) | 103 (86,6)   | 119 (100) |

### 3.18. Relação entre presença de *Giardia* spp. e a consistência diarreica das fezes

Com o intuito de averiguar se havia relação entre a presença de *Giardia* spp. e fezes diarreicas, realizou-se o teste exato de Fisher, no qual se constatou não haver relação estatisticamente significativa para um nível de significância de 0,05 ( $p > 0,05$ ), tendo-se observado um valor de o valor de p de 1. A prevalência de *Giardia* spp. em fezes diarreicas foi de 0% (0/5) (Tabela 18).

Tabela 18 – Distribuição da presença ou ausência de *Giardia* spp. em relação a fezes diarreicas ou não diarreicas (n=130)

|   | Diarreica | Não diarreica | Total     |
|---|-----------|---------------|-----------|
| Presença de <i>Giardia</i><br>spp. N(%) | 0 (0)     | 11 (100)      | 11 (100)  |
| Ausência de <i>Giardia</i><br>spp. N(%) | 5 (4,2)   | 114 (95,8)    | 119 (100) |

### 3.19. Relação entre presença de *Cryptosporidium* spp. e a consistência pastosa das fezes

Para que se conseguisse averiguar se havia relação entre a presença de *Cryptosporidium* spp. e fezes pastosas, realizou-se o teste exato de Fisher, no qual se constatou não haver relação estatisticamente significativa para um nível de significância de 0,05 ( $p > 0,05$ ), tendo-se observado um valor de p de 0,346. A prevalência de *Cryptosporidium* spp. nas fezes pastosas foi de 5,9% (1/17) (Tabela 19).

Tabela 19 - Distribuição da presença ou ausência de *Cryptosporidium* spp. em relação a fezes pastosas ou não pastosas (n=130)

|  | Pastosa   | Não pastosa | Total     |
|--|-----------|-------------|-----------|
| Presença de<br><i>Cryptosporidium</i> spp.<br>N(%) | 1 (33,3)  | 2 (66,7)    | 3 (100)   |
| Ausência de<br><i>Cryptosporidium</i> spp.<br>N(%) | 16 (12,6) | 111 (87,4)  | 127 (100) |

### 3.20. Relação entre presença de *Cryptosporidium* spp. e a consistência diarreica das fezes

A fim de se conseguir averiguar se havia relação entre a presença de *Cryptosporidium* spp. e fezes diarreicas, realizou-se o teste exato de Fisher, no qual se constatou não haver relação estatisticamente significativa para um nível de significância de 0,05 ( $p > 0,05$ ), tendo-se observado um valor de p de 1. A prevalência de *Cryptosporidium* spp. em fezes diarreicas foi de 0% (0/5) (Tabela 20).

Tabela 20 - Distribuição da presença ou ausência de *Cryptosporidium* spp. em relação a fezes diarreicas ou não diarreicas (n=130)

|  | Diarreica | Não diarreica | Total     |
|--|-----------|---------------|-----------|
| Presença de<br><i>Cryptosporidium</i> spp.<br>N(%) | 0 (0)     | 3 (100)       | 3 (100)   |
| Ausência de<br><i>Cryptosporidium</i> spp.<br>N(%) | 5 (3,9)   | 122 (96,1)    | 127 (100) |

#### 4. Discussão

Os principais objetivos deste estudo foram conseguir determinar a presença de infecções parasitárias gastrointestinais existentes em cães de várias localidades da freguesia de Mafra e, com isso, determinar as suas prevalências e possível associação dos parasitas encontrados com o local de recolha, assim como a sua relevância em termos de Saúde Pública. Entendeu-se ser importante realizar um estudo nesta zona particular pois, apenas foram realizados estudos na zona oeste por Melo (2017) e no concelho de Peniche por Crespo, Rosa & Silva (2006) e em Lisboa por Nabais (2012).

A prevalência de parasitismo no global foi de 14,6% (19/130). O parasita mais encontrado nas amostras analisadas foi *Giardia* spp., encontrado em 11 amostras das 130 (8,5%), seguido de *Uncinaria stenocephala* 3,1% (4/130), *Toxocara canis* 2,3% (3/130), *Cryptosporidium* spp 2,3% (3/130) e *Angiostrongylus vasorum* 0,8% (1/130). Há que referir que existiam casos de coinfeção como dois casos com *Toxocara canis* e *Uncinaria stenocephala*, um caso de *Cryptosporidium* spp com *Uncinaria stenocephala* e um caso de *Angiostrongylus vasorum* com *Toxocara canis*, sendo a maioria das infecções parasitárias simples (78,9%), o que vai ao encontro de outros estudos realizados como em Santarém com valores de 73,58% (Crespo, Fradinho & Rosa, 2013), na Azambuja com valores de 86,11% registados para infecções simples (Maurício, Rosa & Crespo, 2006), podendo-se concluir que há uma predisposição para existirem mais infecções simples em detrimento de infecções múltiplas (Torres-Chablé et al., 2015).

Das 130 amostras existentes, 111 apresentaram-se como sendo negativas (85,4%). A prevalência de amostras positivas (14,6%) neste estudo foi relativamente baixa, quando comparada com outros estudos semelhantes, noutras regiões, tais como: Castelo Branco (36,6%), Portalegre (33%), Guarda (33%), Beja (27,6%), Bragança (26,9%), Évora (25%) (Félix, 2015), 23% em Bombarral, 9% em Cadaval, 16% na Lourinhã, 6% em Peniche e 18% em Torres Vedras (Melo, 2017). No entanto, a prevalência deste estudo foi superior à prevalência obtida num estudo realizado em Faro (8,7%) e Lisboa (10,3%) (Félix, 2015). No Porto foram observadas prevalências de 20,3%, utilizando o método de flutuação com sulfato de zinco com recurso à centrifugação (Neves et al., 2014). Na zona de Ponte de Lima foram registadas prevalências de 63,17% (Mateus et al., 2014), em Cantanhede 58,8% (Cardoso et al., 2014), 50% em Óbidos (Crespo, Rosa, & Almeida, 2010), bastantes mais elevadas do que a do presente estudo. Foram relatadas prevalências 26,6% em cães domésticos de diferentes localidades no Brasil (Lorenzini, Tasca, & Carli, 2007). Em Espanha, mais especificamente em Córdova, observaram-se prevalências de

71,33% em cães de abrigo e de casa (Martínez-Moreno et al., 2007) e na Roménia foram registadas prevalências de 88,53% (Amfim, Pârvu, Cescu & Simion, 2011).

Verificaram-se associações estatisticamente significativas entre a presença de *Giardia* spp. e a zona N, uma zona habitacional com jardim no centro de Mafra, composta por bairros ao seu redor com a função de servir para passeio de animais de estimação. Observou-se, igualmente, associação entre a presença de coinfeção por *Toxocara canis* e *Uncinaria stenocephala* e a zona C, uma zona habitacional no centro de Mafra, com parque de merendas junto a prédios. Houve, ainda, associação entre *Uncinaria stenocephala* e a zona G, uma aldeia perto de Mafra denominada Salgados, e a zona C. A zona C revelou, igualmente, associação estatisticamente significativa com o parasita *Toxocara canis*. Assim se depreende que as zonas N, C e G revelam um maior risco de infeção parasitária, especificamente pelos parasitas referidos.

Em relação às prevalências de cada localidade de recolha, determinou-se que os locais com maior prevalência de parasitismo foram G, H, M e N, na localidade dos Salgados, A-da-Perra, Carapinheira e Mafra (oeste), respetivamente, tendo em conta que a prevalência de cada zona foi calculada através da relação entre o número de animais infetados e o número de amostras colhidas em cada localidade (n=10). Estas localidades são, na maioria, aldeias que rodeiam a vila de Mafra, podendo o parasitismo ser mais acentuado pelo facto de os animais terem um maior contacto com a rua, estando mais tempo ao ar livre em maiores terrenos, sendo um meio rural, juntando ao facto das pessoas, por norma, nestas localidades, não estarem tão informadas acerca do método de desparasitação que deve ser efetuado e da sua frequência aconselhada. A zona N é um bairro na zona centro de Mafra composto por prédios com jardim central, constatando-se a presença de vários cães no decorrer da recolha, sendo o contacto entre os mesmos grande pelo facto de andarem sem trela. Devido ao facto de haver um grande número de animais a utilizar o mesmo espaço exterior pode levar ao desenvolvimento de mais casos de parasitose ao contactarem com as fezes dos demais. A ausência de formas parasitárias nas amostras foi constatada nas zonas D, E e I, respetivamente as localidades de Mafra (zona norte), Paz e Pinhal dos Frades.

Não foram detetadas formas de céstodes em nenhuma das amostras analisadas. Vários estudos foram realizados em Portugal e os mesmos revelaram, igualmente, prevalências baixas de céstodes, comparativamente a outros parasitas gastrointestinais, tais como Gravata, Rosa e Crespo (2007) em Setúbal, Crespo *et al.* (2013) em Santarém, Maurício, Rosa e Crespo (2006) na Azambuja. As prevalências de ovos da família Taeniidae dos

mesmos estudos foram, respetivamente, 0,15%, 0,3% e 0,2%. Estes estudos foram realizados no decorrer das várias estações do ano, sendo que no presente trabalho a recolha foi realizada num único mês eliminando esse fator edafoclimático. Num estudo realizado em Vila Franca de Xira, observaram-se ovos de *Taenia* spp. em 11,25% dos 80 cães errantes (Santos, 2014). Num estudo realizado em Lisboa, *Dipylidium caninum*, tal como *Taenia* spp, apresentaram prevalências bastante reduzidas, com valores de 0,8% nas 124 amostras de canis da zona (Lebre, 2011). No que se refere a casos de hidatidose em Portugal, estes são mais comuns na zona do Alentejo, principalmente Beja e Évora (Morais, 2010). Num estudo realizado na região oeste, observou-se uma prevalência de 1% de infeções por céstodes (Melo, 2017). Em estudos realizados noutras regiões obtiveram-se valores um pouco mais elevados para parasitismo por céstodes, como em Espanha valores de 13,22% (Martínez-Moreno et al., 2007) e Roménia de 25% (Amfim et al, 2011).

Poderão ter ocorrido falsos negativos pois o melhor método para a deteção de céstodes seria pela necrópsia (Villeneuve et al., 2015), o que não poderia acontecer neste estudo pois pretendia-se uma amostra aleatória de fezes de cães colhidas em parques públicos considerando o possível impacto zoonótico. Falsos negativos podem ocorrer ao recorrer-se a técnicas que não sejam as mais indicadas para o seu diagnóstico, determos uma amostra que não seja suficiente ou manusear erradamente as mesmas. Há a considerar ainda que a excreção dos ovos é intermitente (Robertson et al., 2000).

No presente estudo, 26% (5/19) das amostras apresentavam ovos de nemátodes, tendo sido estes os mais comuns, o que revela que existe um risco de transmissão ao Homem. Será então necessário ter especial atenção à desparasitação para que estes helmintes zoonóticos não constituam perigo. Existem vários estudos que, a nível dos nemátodes, revelam outras prevalências, tais como um estudo na Roménia no qual a prevalência de nemátodes é de 34%, equivalente, nesse estudo, à prevalência de protozoários. Segundo Bowman (2014), é esperado que os nemátodes sejam os parasitas mais encontrados visto serem a classe de parasitas com maior prevalência nos cães, o que se explica pelo facto da maioria, ter um ciclo de vida monoxeno e fácil transmissão. Vários estudos comprovam que os nemátodes são a espécie com maior prevalência, como um efetuado na região oeste de Portugal em que se registaram valores de prevalência de nemátodes de 100% com todas as amostras positivas (Melo, 2017).

Neste presente estudo, *Toxocara canis* apresentou uma prevalência de 2,3%, superior a um estudo realizado por Lebre (2011) em canis de Lisboa no qual a prevalência foi de

1,6% utilizando a técnica de flutuação com sulfato de zinco. Um estudo realizado em Lisboa constatou uma prevalência de *Toxocara* spp. de 0,5%, sendo que apesar de apenas haver uma espécie de *Toxocara* no cão, devido ao facto dos cães poderem libertar ovos de *Toxocara cati* pela coprofagia e pelos ovos serem difíceis de distinguir, apenas se indicou o género (Ferreira et al., 2017). Otero et al., (2018) realizaram um estudo em parques públicos contemplando apenas ovos de *Toxocara* spp., sendo que constataram uma elevada prevalência dos mesmos em caixas de areia (85,7%) e nos parques analisados (50%), tendo sido realizada análise molecular que revelou que 85,5% das caixas de areia e 34,4% dos parques estavam contaminados com ovos de *Toxocara* spp., concluindo-se que, no total, 53,0% das amostras do solo e 5,9% das amostras fecais eram positivas para *Toxocara* spp., considerando-se que os parques estavam seriamente contaminados por ovos de *Toxocara cati* o que representa um sério risco para saúde pública. *Toxocara canis* foi, igualmente, o mais prevalente num estudo realizado em Praga, na República Checa com valores de 6,2% (Dubná et al., 2007). No México 2,3% dos cães tinham infeção por *Toxocara canis* (Torres-Chablé et al., 2015). Em Espanha registou-se prevalência de 17,72% (Martínez-Moreno et al., 2007) e 17% na Roménia (Amfim et al., 2011). Em relação a estudos realizados em Portugal, Félix (2015) registou prevalências de 7,7% em Bragança, 10,3% em Beja, 3,45% em Lisboa, 4,3% em Faro, 5% em Évora e 13,3% na Guarda. Na região oeste de Portugal foram registados valores de 7% (Melo, 2017). Santos (2014) observou prevalência deste parasita em Vila Franca de Xira em cães errantes de 15% e, nessa mesma localidade, Morgado (2016) obteve prevalências bastante mais reduzidas com valor de 1,3% em cães com proprietário. Apesar de ser comum haver algum grau de contaminação ambiental com ovos de ascarídeos, os animais mais propensos a infeções por *Toxocara* spp. são os mais jovens (Robertson et al., 2000) e, como estes normalmente não têm o plano vacinal completo, não passeiam tanto na rua o que pode explicar os valores mais reduzidos neste estudo. Temos ainda que ter em conta que nos animais adultos, este tipo de parasitas pode estar em período de latência e não estar a realizar ovopostura, no momento da recolha da amostra fecal (Nunes, 2014). Embora, no caso do presente estudo, os valores de prevalência de *Toxocara canis* serem reduzidos, é importante relembrar a sua importância pelo potencial zoonótico inerente ao mesmo, originando casos de Toxocarose humana. Há, ainda, a considerar a grande capacidade de sobrevivência dos seus ovos que conseguem manter-se infetantes no ambiente por muitos anos (Bowman, 2014).

Na cidade de Praga, na República Checa, amostras do solo foram analisadas por flutuação revelando presença de ovos de *Toxocara* spp. em 20,4% das amostras de parques públicos e 11,9% das amostras provenientes de caixas de areia (Dubná et al., 2007).

Em Espanha, na região de Córdoba foram colhidas amostras de solo de jardins e parques públicos, tendo sido encontrados ovos de *Toxocara* spp. 13 (3,8%) das 342 amostras analisadas da cidade em oito parques diferentes (Martínez-Moreno et al., 2007). No estudo realizado em Portugal, na cidade de Beja, com recolha de fezes em parques e jardins públicos não foram observados nem ovos de *Toxocara canis* nem de *Toxascaris leonina* (Nunes, 2014).

A prevalência de *Toxocara canis* tem vindo, nos últimos anos, a decrescer pelo uso de anti-helmínticos de forma rotineira aconselhado pelos médicos veterinários (Robertson & Thompson, 2002).

O parasita com a segunda maior prevalência no presente estudo foi *Uncinaria stenocephala*, 3,1 % (4/130), sendo que em dois dos casos aparece coinfeção com *Toxocara canis*. *Uncinaria stenocephala* apresenta menor patogenicidade para o cão que *Ancylostoma caninum* devido à sua menor hematofagia. No entanto, é capaz de provocar LMC no Homem (Ballweber, 2001; Bowman, 2014). Existem vários estudos em Portugal em que as prevalências são maiores como em canis de Lisboa com valor de 9,5% (Lebre, 2011), na região oeste de Portugal com 7% (Melo, 2017), 20% em Castelo Branco, 13,3% na Guarda, 9,1% em Portalegre, 17,2% em Beja, 7,7% em Bragança, 20% em Évora (Félix, 2015), 16,25% em Vila Franca de Xira (Santos, 2014) e 16,5% em parques caninos da Grande Lisboa, no qual os ancilostomatídeos foram os parasitas com maior prevalência (Ferreira et al., 2017). Verificam-se valores de 8.2% na Roménia (Amfim et al., 2011) e 33.27% em Córdoba (Martínez-Moreno et al., 2007). Há ainda estudos, nos quais as prevalências são mais baixas como 0.4% em Praga, na República Checa (Dubná et al., 2007), 0,3% no México (Torres-Chablé et al., 2015), 1,25% em Itália (Riggio et al., 2013), 0,8% na cidade de Beja, em Portugal (Nunes, 2014).

Os ancilostomatídeos são, geralmente, os parasitas que apresentam os maiores valores de prevalência, como no estudo realizado na Azambuja com valores de 58,33% (Maurício et al., 2006) e de 64,15% na cidade de Santarém (Crespo et al., 2013). Contudo, tal não se verificou no presente neste estudo uma vez que não foi observado nenhum parasita ou ovo desta espécie. Neste contexto, os nossos resultados divergem de outros estudos como nos de Torres-Chablé et al., (2015), realizado no México onde se verificaram taxas de infeção de 15,9%, Vila Franca de Xira com valor de 15% (Santos, 2014) e 3,1% no Brasil

(Lorenzini et al., 2007). Estes parasitas apresentam maior relevância em países tropicais e menos desenvolvidos, pelo seu potencial zoonótico aquando do contacto das pessoas, sobretudo a andarem descalças em solos contaminados com ovos libertados nas fezes dos cães infetados (Walker et al., 1995).

O parasita *Toxascaris leonina* não foi observado, porém seria de esperar que a prevalência fosse reduzida como revelam vários estudos dos quais se especificam seguintes estudos 1% na região oeste de Portugal (Melo, 2017) e 0,3% no Brasil (Lorenzini et al., 2007). Contudo, há estudos em que as prevalências foram mais elevadas como 4% na Roménia (Amfim et al., 2011) e 14,94% em Córdova (Martínez-Moreno et al., 2007).

Em relação a nemátodes pulmonares, foram encontradas larvas L1 de *Angiostrongylus vasorum* numa única amostra, sujeita à técnica de Baermann, considerado o melhor método para as detetar, revelando uma prevalência de 0,8% (1/130). Em Portugal foram detetadas prevalências de 2% na zona de Grande Lisboa numa amostra de 50 cães (Nabais et al., 2014) e 0,66% num estudo que recolheu amostras em toda extensão do território de Portugal provenientes de cães de abrigo (Alho et al., 2016). Foi, ainda, realizado um estudo para deteção de *Angiostrongylus vasorum* recorrendo ao método de ELISA, no qual se pretendia detetar antigénios circulantes do parasita referente e anticorpos específicos contra este parasita, observando-se um total de 0,7% de cães positivos dispersos por todo o país, o que indica que existem infeções ativas distribuídas pelo país (Alho, 2017). Comparativamente a outros países, Portugal apresenta prevalências ligeiramente superiores. Na Alemanha foi observada uma prevalência de 0,3% (Schnyder, Schaper, Bilbrough, Morgan & Deplazes, 2013a), na Polónia 0,51% (Schnyder et al., 2013b) e Itália 0,4% (Riggio et al, 2013). No Reino Unido foi registada uma prevalência de 0,97% (Schnyder et al., 2013a) e na Hungria 1,36% (Schnyder, Schaper, Lukács, Hornok & Farkas, 2015).

Há que ter em conta a possibilidade de existência de falsos negativos, dependentes da experiência do técnico, do uso de matéria fecal insuficiente, análise realizada com fezes emitidas num único dia, infeções pré-patentes e excreção intermitente das L1 nas fezes (Traversa & Di Cesare, 2016; Zajac & Conboy, 2012). Poderiam obter-se resultados mais fiáveis no seu diagnóstico se alguns destes fatores fossem corrigidos, porém isso não seria possível pois as amostras foram colhidas aleatoriamente e num único momento.

Apesar das espécies *Trichuris vulpis* e *Strongyloides stercoralis* não terem sido observadas, é importante referir os resultados de alguns estudos realizados. No que se

refere a *Strongyloides stercoralis* é um parasita com carácter zoonótico, todavia não é alvo de grande pesquisa por parte de vários estudos. Santos (2014) observou uma prevalência de 7,5% em 80 amostras colhidas provenientes de cães errantes no concelho de Vila Franca de Xira. Em outros países como em Itália a prevalência foi de 2,2% (Paradies et al., 2017).

Em relação a *Trichuris vulpis*, Santos (2014) registou taxas de infeção de 11,25% em 80 amostras de cães errantes no concelho de Vila Franca de Xira. Em Évora as prevalências registadas foram de 0,7% (Ferreira et al., 2011). Em relação a outros países, na Roménia registaram-se valores de 1,66% (Amfim et al., 2011), tal como em Espanha (Martínez-Moreno et al., 2007).

A presença de protozoários neste estudo foi muito marcante, tendo sido os mais prevalentes no geral dos parasitas. Estes parasitas, de acordo com a espécie e genótipo, podem constituir risco para a saúde pública principalmente para crianças, idosos e pessoas imunossuprimidas (Zajac & Conboy, 2012). A deteção de parasitas como *Giardia* spp. tem aumentado nas últimas décadas devido a métodos mais sofisticados de diagnóstico, mas também pelo uso recorrente de desparasitantes o que induz resistências, resultando numa colonização do intestino por parte dos protozoários que aproveitam o nicho libertado aquando da remoção de parasitas como *T. canis* e *D. caninum* (Bugg et al., 1999; Robertson & Thompson, 2002). O estudo de Buggs et al (1999) revelou uma associação positiva entre a prevalência de *Giardia* spp. e o uso de anti-helmínticos. O presente estudo corrobora essa informação, visto ter-se registado prevalências mais baixas de helmintes quando comparadas à prevalência de quistos de *Giardia* spp. com prevalência de 8,5% (11/130). Num estudo realizado em Beja verificaram-se prevalências semelhantes com valor de 8,5% de quistos de *Giardia* spp. nas amostras colhidas (Nunes, 2014). Em Lisboa observaram-se prevalências de 61,1% num estudo realizado em canis por Lebre (2011). Este resultado é facilmente explicado pelo facto de *Giardia* spp. se disseminar mais facilmente em locais com sobredensidade populacional, com menos condições de higiene (Robertson & Thompson, 2002). Um estudo realizado em Espanha, mais concretamente na Catalunha, comparou as prevalências de *Giardia* spp. entre cães de caça e cães de canis, sendo que a prevalência foi maior nos cães de canis, que atingiu valores de 63%, enquanto nos cães de caça se registaram valores de 15,5%, ressalvando-se que o método de diagnóstico utilizado foi a flutuação com sulfato de zinco, um método bastante sensível (Ortuño, Scorza, Castellà & Lappin, 2014). Santos (2014) analisou amostras de 80 cães errantes, chegando a valores de prevalência de 32,5%, utilizando a

técnica de Ziehl-Neelsen modificada. Em relação a outros países, na Roménia os valores de prevalência foram mais reduzidos (3%) (Amfim et al., 2011), 1% em Espanha (Martínez-Moreno et al., 2007), 4,5% no Brasil (Lorenzini et al., 2007) e 11,4% na Alemanha (Becker et al., 2012).

Tendo em conta a consistência das fezes poderemos constatar no presente estudo que a prevalência diminui para 5,9% (1/17) se considerarmos as fezes pastosas apenas, não se encontrando *Giardia* spp. nas cinco fezes diarreicas colhidas, contrastando, desta forma com outros estudos realizados como em Beja em que ambas as prevalências subiram respetivamente para 14,3% (1/7) nas fezes pastosas e 25% (1/4) nas fezes diarreicas (Melo, 2014). Segundo o estudo de Neves *et al.*,(2014) verificou-se uma prevalência de 7,4% de *Giardia* spp. em animais aparentemente saudáveis, aumentando para 15,5% em animais com sinais gastrointestinais, sendo que, igualmente num estudo realizado na Grande Lisboa constatou prevalências de *Giardia* spp. de 11,4% (Ferreira et al., 2017). É de salientar que, no presente trabalho, as amostras de consistência pastosa continham, unicamente, quistos de *Giardia* spp. e, pela realização do teste exato de Fisher, não se verificou uma relação estatisticamente significativa para um nível de significância de 0,05, com o valor de p de 1. Os valores do teste Qui-quadrado não revelaram, igualmente, valor significativo descartando, desta forma, a hipótese por completo, com valor de 0,682. No que se refere às fezes diarreicas, não foi, da mesma maneira, encontrada relação entre a presença de *Giardia* spp. e fezes com consistência diarreica, tendo-se obtido um o valor de p igual a 1 no teste exato de Fisher e no teste de Qui-quadrado um o valor de p de valor igual a 0,488, sendo ambos os valores acima de 0,05, não revelando, desta forma, relações estatisticamente significativas.

Alguns dos genótipos de *Giardia* spp. têm extrema importância pelo potencial zoonótico que comportam, sendo o parasita entérico mais comum em todo o mundo com prevalências entre 2-7% (Schantz, 1991). Foi realizado um estudo em escolas pré-primárias de Lisboa, no qual se constatou que 2,5% das 316 crianças em estudo tinham quistos de *Giardia* spp. presentes nas suas fezes, correspondendo aos *assemblages* A e B, que podem ter sido transmitidos por outros humanos, mas não se pode excluir a hipótese de terem sido transmitido por animais como o cão (Ferreira et al., 2013). Um estudo realizado na Catalunha não revelou presença de *assemblage* zoonótico, nas 6 amostras que foram analisadas geneticamente (Ortuño et al., 2014). Em Itália, das 42 amostras analisadas, duas pertenciam ao *assemblage* A (4,7%), 17 ao C e 23 ao D (Pipia *et al.*, 2014).

Para identificação de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. recorreu-se ao esfregaço fecal direto com coloração de Ziehl-Neelsen e ao método de Ritchie sendo que, este último, se revelou mais fácil para identificar os respetivos parasitas, comparativamente ao esfregaço fecal corado pela técnica de Ziehl-Neelsen modificada, pois o sedimento apresenta-se mais clarificado, conseguindo-se observar melhor o esfregaço e conseguir, desta forma, uma melhor identificação de possíveis parasitas que possam existir no mesmo.

Em relação a oocistos de *Cryptosporidium* spp. estes apresentaram uma prevalência de 2,3% (3/130), sendo que aumenta se contabilizarmos apenas as fezes pastosas para 5,9% (1/17), não havendo coinfeção com outros parasitas nesse caso e só um dos casos de infeção por *Cryptosporidium* apresentava coinfeção com *Uncinaria stenocephala*. Este parasita não relevou relação estatisticamente significativa ( $p>0,05$ ) quando relacionado com a consistência das fezes pastosas e diarreicas, tendo revelado valor de  $p$  iguais a 0,3456 e de 1, respetivamente, no teste exato de Fisher. O teste de Qui-quadrado foi, igualmente realizado e corroborou a inexistência de relação estatisticamente significativa revelando valores de 0,292 e 0,726, respetivamente para fezes pastosas e diarreicas, com  $p>0,05$ .

No que se refere a *Cryptosporidium* spp. é um protozoário oportunista que tende a aumentar também com a ausência de helmintes (Bugg *et al.*, 1999). Em estudos realizados em Portugal constatamos que as prevalências deste parasita são menores quando comparadas às de *Giardia* spp., como descrito num estudo em Beja no qual não foram encontrados oocistos de *Cryptosporidium* spp. (Melo, 2014). Em Vila Franca de Xira registou-se uma prevalência de 11,25% comparativamente menor a *Giardia* spp. com 32,5%, justificando-se a diferença pela origem das amostras, visto que os animais podem não excretar oocistos deste parasita (Robertson *et al.*, 2000). No entanto, na Grande Lisboa constataram-se prevalências de *Cryptosporidium* spp. de 11,9%, bastante mais elevadas que a da presente dissertação.

Para diagnóstico de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. recorreu-se à técnica de coloração de esfregaço por Ziehl-Neelsen, que tem uma sensibilidade de 73,3% e especificidade de 95%, enquanto que o teste rápido revela para *Cryptosporidium* spp. uma sensibilidade de 86,7% e especificidade de 100%, revelando-se, desta forma bastante melhor a nível do seu diagnóstico (Zaglool, Mohamed, Khodari & Farooq, 2013). Relativamente ao método de Ritchie modificado para a deteção de protozoários, este é bastante eficaz, é mais fácil a observação ao microscópio pois a preparação fica mais limpa de detritos e de artefactos, diminuindo as falhas técnicas na identificação

microscópica. Num estudo realizado em crianças em Marrocos, comprovou-se que esta técnica era a mais eficaz para a deteção de protozoários, especialmente em casos de baixa carga parasitária (Fatni, Fatni, Romero, Olmo & Rosales, 2014).

Encontraram-se protozoários de *Cystoisospora spp.* em apenas uma amostra, revelando, desta forma, uma prevalência de 0,8% (1/130). Por outro lado, Ferreira *et al.*, (2011) detetaram oocistos de *Cystoisospora spp.* em 5% em 126 cães. Na região de Lisboa, foi identificada uma prevalência de 12,1% (15/124) em canis de recolha (Lebre, 2011) e em Lisboa de 1,1% no ambiente (Ferreira *et al.*, 2017). No Porto, foi identificada em 8% dos 175 animais analisados que se encontravam saudáveis e em 13,5% dos 193 animais que apresentavam sinais gastrointestinais (Neves *et al.*, 2014). Registaram-se, ainda, prevalências de 13,3% na Guarda, 21,2% em Portalegre, 13,8% em Beja e 4,3% em Faro (Félix, 2015). Noutros países observaram-se prevalências superiores ao presente estudo como 22% na Roménia (Amfim *et al.*, 2011), 22% em Córdova, Espanha (Martínez-Moreno *et al.*, 2007), Catalunha, Espanha 4,8% (Ortuño *et al.*, 2014), 7,5% em Itália (Riggio *et al.*, 2013), 2,4% na República Checa (Dubná *et al.*, 2007).

Na presente dissertação não se observou uma relação estatisticamente significativa entre a presença de parasitas nas amostras fecais analisadas e a proximidade ou o afastamento da vila de Mafra, onde prevalece um estilo de vida mais urbano, comparativamente ao modo de vida rural nas aldeias circundantes. Apesar do constatado anteriormente, nas zonas rurais, por norma, existe uma maior probabilidade dos animais sofrerem parasitismo pelo facto de haver um maior contacto com outros animais, água, solo e uma alimentação muitas vezes diferente da realizada em meios urbanos (Curi *et al.*, 2017).

Com os resultados apresentados, pode-se supor que a desparasitação anti-helmíntica nos animais da vila e das várias localidades circundantes de Mafra está a ser eficaz, ou então que os animais mesmo que não sejam desparasitados, não têm oportunidade de se infetarem porque os tutores não os deixam comer nada na rua ou porque os alimentam com rações comerciais ou com comida devidamente cozinhada. Embora se tenham observado neste estudo baixas prevalências dos parasitas analisados, não se pode excluir risco de transmissão zoonótica, ainda que baixo. Dever-se-á considerar, sempre, a possibilidade de contágio por animais errantes, que mantêm a pressão de infeção aos animais domésticos e que ao não receberem tratamento podem perpetuar a infeção nos vários locais (Deplazes *et al.*, 2011).

#### **IV. Conclusão**

A presente dissertação teve como principal objetivo, compreender a prevalência parasitária dos animais de companhia de várias localidades da freguesia de Mafra e determinar possível associação entre o parasita encontrado e o local de recolha, com recurso a técnicas de análise coprológica, tendo sido os objetivos atingidos conseguindo compreender-se que a carga parasitária nesta região apresenta valores relativamente baixos, oferecendo, deste modo, uma certa segurança à população aí residente.

A reduzida carga parasitária registada pode-se atribuir, essencialmente, ao cada vez mais recorrente, uso de desparasitantes de largo espectro na clínica de animais de companhia e cuidado que os tutores têm com os seus animais de estimação, o que diminui o risco de infeção dos animais e, por conseguinte, diminui o risco de possíveis transmissões de parasitas com potencial zoonótico. Esta informação consegue auxiliar as várias associações de protecção animal existentes e clínicas da zona em estudo permitindo-lhes compreender a prevalência de parasitismo da região e a eficácia das medidas de desparasitação realizadas.

No total, foram analisadas 130 amostras fecais, das quais, aproximadamente, 15% foram positivas a, pelo menos, uma espécie parasitária. O parasita que teve maiores valores de prevalência foi *Giardia* spp. com um valor de 8,5%. Seria interessante, em estudos futuros, analisar quais os genótipos implicados para avaliar o possível potencial zoonótico.

Em termos de saúde pública e considerando a presença de infeção por *Toxocara canis* e *Uncinaria stenocephala*, é de extrema importância sensibilizar a população para os possíveis riscos existentes em locais frequentados por animais e alertar, igualmente, os tutores para a importância da desparasitação e adopção de medidas higio-sanitárias para controlo da contaminação ambiental em locais públicos.

## V. Bibliografia

- Ahn, S.J., Ryoo, N.K. & Woo, S.J. (2014). Ocular toxocariasis: clinical features, diagnosis, treatment, and prevention. *Asia Pacific Allergy*, 4(3), 134-141.
- Alho, A. M., Seixas, R., Rafael, T. & Madeira de Carvalho, L. (2010). Formas larvares dos helmintas: o elo mais forte na desparasitação do cão e do gato. *Veterinary Medicine*, 12(71), 33–46.
- Alho, A.M., Nabais, J. & Madeira de Carvalho, L. (2013). A importância da Técnica de Baermann na clínica de pequenos animais. *Clínica Animal*, 1(3), 28-31.
- Alho, A.M., Schnyder, M., Schaper, R., Meireles, J., Belo, S., Deplazes, P. & Madeira de Carvalho, L. (2016). Seroprevalence of circulating *Angiostrongylus vasorum* antigen and parasite-specific antibodies in dogs from Portugal. *Parasitology Research*, 115(7), 2567–2572.
- Alho, A.M. (2017). *Dirofilaria immitis* and *Angiostrongylus vasorum*: Epidemiology and Impact of Major Heartworms in Carnivores in Portugal. Tese de Doutoramento em Ciências Veterinárias na Especialidade de Sanidade Animal. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.
- Amaral, H.L., Rassier, G.L., Pepe, M.S., Gallina, T., Villela, M.M., Nobre, M.O., Scaini, C.J. & Berne, M.E.A. (2010). Presence of *Toxocara canis* eggs on the hair of dogs: A risk factor for Visceral Larva Migrans. *Veterinary Parasitology*, 174(1–2), 115–118.
- Amfim, A., Pârvu, M., Cescu, B. B. Ǻ. & Simion, V.-E. (2011). Estimation of Canine Intestinal Parasites in Bucharest and Their Risk to Public Health. *Veterinary Medicine* 68(2), 26–30.
- Angus, K. W. (1983). Cryptosporidiosis in Man, Domestic Animals and Birds: A Review. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 76(1), 62–70.
- Ballweber, L. R. (2001). *The Practical Veterinarian - Veterinary Parasitology* (1st ed.). Woburn.
- Ballweber L.R (2012). The expanding universe of three parasites. In: *Vet Med – US*. 107(1), 40-45. Massachusetts, USA: Butterworth-Heinemann.
- Barr, S. C. & Bowman, D. D. (2012). *Canine and Feline Infectious Diseases and Parasitology*. (I. John Wiley & Sons, Ed.) (2nd ed.).

- Becker, A. C., Rohen, M., Epe, C. & Schnieder, T. (2012). Prevalence of endoparasites in stray and fostered dogs and cats in Northern Germany. *Parasitology Research*, 111(2), 849–857.
- Bourque, A. C., Conboy, G., Miller, L. M. & Whitney, H. (2008). Pathological findings in dogs naturally infected with *Angiostrongylus vasorum* in Newfoundland and Labrador, Canada. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 20(1), 11–20.
- Bowman, D. (2014). *Georgis' Parasitology for Veterinarians 10th Edition* (10th ed.). Saunders.
- Bugg, R. J., Robertson, I. D., Elliot, A. D. & Thompson, R. C. A. (1999). Gastrointestinal parasites of urban dogs in Perth, Western Australia. *The Veterinary Journal*, 157(3), 295–301.
- Buijs, J., Borsboom, G., Renting, M., Hilgersom, W. J. A., Van Wieringen, J. C., Jansen, G. & Neijens, J. (1997). Relationship between allergic manifestations and *Toxocara* seropositivity: A cross-sectional study among elementary school children. *European Respiratory Journal*, 10(7), 1467–1475.
- Cardoso, A., Costa, I., Figueiredo, C., Castro, A., & Conceição, M. (2014). The occurrence of zoonotic parasites in rural dog populations from northern Portugal. *Journal of Helminthology*, 88(2), 203-209.
- Conboy, G. (2004). Natural infections of *Crenosoma vulpis* and *Angiostrongylus vasorum* in dogs in Atlantic Canada and their treatment with milbemycin oxime. *Veterinary Record*, 155(1), 16–18.
- Conboy, G. (2009). Cestodes of Dogs and Cats in North America. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 39(6), 1075–1090.
- Conboy, G. (2011). Canine angiostrongylosis: The French heartworm: An emerging threat in North America. *Veterinary Parasitology*, 176(4), 382–389.
- Conduto, A.M.S. (2017). Parasitoses Gastrointestinais em cães de Macau, China. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. . Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.
- Crespo, M.V., Rosa, F., Silva, A.E. (2006). Contaminação Parasitária por Fezes de Canídeos no Concelho de Peniche – Dados Preliminares. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 13(1-2), 53-57.
- Crespo, M.V., Rosa, F., Almeida, J.P. (2010). Eliminação Parasitária em Fezes de Canídeos no Concelho de Óbidos – Estudo por Freguesias. *Research gate*.
- Crespo, M. V., Fradinho, A. R., & Rosa, F. (2013). Contaminação ambiental e parasitária

- por fezes de cães na cidade de Santarém. *Revista Da Unidade de Investigação Do Instituto Politécnico de Santarém*, 2(1), 132–150.
- Curi, N. H. A., Paschoal, A. M. O., Massara, R. L. ., Santos, H. A., Guimarães, M. P., Passamani, M. & Chiarello, A. G. (2017). Risk factors for gastrointestinal parasite infections of dogs living around protected areas of the Atlantic Forest: implications for human and wildlife health. *Braz. J. Biol.* 77(2), 388-395.
- Dantas-Torres, F. (2008). Canine vector-borne diseases in Brazil. *Parasites and Vectors*, 1(25), 1–17.
- Denk, D., Matiasek, K., Just, F. T., Hermanns, W., Baiker, K., Herbach, N., Steinberg, T. & Fischer, A. (2009). Disseminated angiostrongylosis with fatal cerebral haemorrhages in two dogs in Germany: A clinical case study. *Veterinary Parasitology*, 160(1–2), 100–108.
- Deplazes, P. & Eckert, J. (2001). Veterinary aspects of alveolar echinococcosis - A zoonosis of public health significance. *Veterinary Parasitology*, 98(1–3), 65–87.
- Deplazes, P., van Knapen, F., Schweiger, A. & Overgaauw, P. A. M. (2011). Role of pet dogs and cats in the transmission of helminthic zoonoses in Europe, with a focus on echinococcosis and toxocarosis. *Veterinary Parasitology*, 182(1), 41–53.
- Despommier, D. (2003). Toxocariasis: Clinical Aspects , Epidemiology , Medical Ecology , and Molecular Aspects. *American Society for Microbiology*, 16(2), 265–272.
- Deutz, A., Fuchs, K., Auer, H., Kerbl, U., Aspöck, H. & Köfer, J. (2005). Toxocara-infestations in Austria: A study on the risk of infection of farmers, slaughterhouse staff, hunters and veterinarians. *Parasitology Research*, 97(5), 390–394.
- Dhaliwal, B. B. S. & Juyal, P. D. (2013). Parasitic Zoonoses. Springer.
- Dryden, M. W., Payne, P. A. & Smith, V. (2006). Accurate diagnosis of *Giardia* spp. and proper fecal examination procedures. *Veterinary Therapeutics : Research in Applied Veterinary Medicine*, 7(1), 4–14.
- Dubey, J. P., Lindsay, D. S. & Lappin, M. R. (2009). Toxoplasmosis and Other Intestinal Coccidial Infections in Cats and Dogs. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 39(6), 1009–1034.
- Dubná, S., Langrová, I., Nápravník, J., Jankovská, I., Vadlejch, J., Pekár, S. & Fechtner, J. (2007). The prevalence of intestinal parasites in dogs from Prague, rural areas, and shelters of the Czech Republic. *Veterinary Parasitology*, 145(1–2), 120–128.
- Eom, K. S., Kim, S. H., & Rim, H. J. (1992). Second case of human infection with

- Mesocestoides lineatus* in Korea. Kisaengch'unghak Chapchi. *The Korean Journal of Parasitology*, 30(2), 147–150.
- European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (ESCCAP)(2017). Endoparasites. Acedido em 14 de Junho de 2017, disponível em <http://www.esccap.org/parasites/Endoparasites/1/>
- Fahrion, A. S., Schnyder, M., Wichert, B. & Deplazes, P. (2011). *Toxocara* eggs shed by dogs and cats and their molecular and morphometric species-specific identification: Is the finding of *T. cati* eggs shed by dogs of epidemiological relevance? *Veterinary Parasitology*, 177(1–2), 186–189.
- Fatni, C. El, Fatni, H. El, Romero, D., Olmo, F. & Rosales, M. J. (2014). Intestinal parasitism in Moroccan children : comparative quantitative study of the Faust ' s and Ritchie ' s coprologic methods. *International Journal of Innovation and Scientific Research*, 11(1), 53–64.
- Félix, L. B. (2015). Parasitoses gastrointestinais e cardiopulmonares em cães. Estudo epidemiológico em canis de Portugal Continental. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa.
- Ferreira, F., Pereira-Baltasar, P., Parreira, R., Padre, L., Vilhena, M., Tavira, L., Atouguia, J. & Centeno-Lima, S. (2011). Intestinal parasites in dogs and cats from the district of Évora, Portugal. *Veterinary Parasitology*, 179, 242–245.
- Ferreira, F. S., Machado Sá Da Bandeira, R. A. D. S. S. D. B., Constantino, C. A. C. D. S. F., Fonseca, A. M. T. D. C. Da, Gomes, J. D. G. M., Rodrigues, R. M. L., Atouguia, R.M.L., Centeno-Lima, J.L.M.S. & Ferreira, S. C.A. (2013). Molecular and clinical characterization of *Giardia duodenalis* infection in preschool children from Lisbon, Portugal. *Journal of Parasitology Research*.
- Ferreira, A., Alho, A.M., Otero, D., Gomes, L., Nijssse, R., Overgaauw, P.A.M., Madeira de Carvalho, L. (2017). Urban Dog Parks as Sources of Canine Parasites: Contamination Rates and Pet Owner Behaviours in Lisbon, Portugal. *Research gate*. 1-7.
- Foreyt, W. J. (2001). Parasites of Dogs. In Iowa State University Press (Ed.), *Veterinary Parasitology Reference Manual*. (5º edition, pp. 21; 22; 24; 34) Blackwell Publishing
- Fuentes, M. V., Galán-Puchades, M. T. & Malone, J. B. (2003). Short report: A new case report of human *Mesocestoides* infection in the United States. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 68(5), 566–567.

- Glickman, L. T. & Schantz, P. M. (1981). Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis. *Epidemiologic Reviews*, 3(1), 230–250.
- Gosling, P. J. (2005). Dictionary of Parasitology (Vol. 12).
- Gravata, A. S., Rosa, F. & Crespo, M. V. (2007). Parasitas de canídeos no concelho de Setúbal (Portugal). Dados preliminares. *Congreso Ibérico de Parasitología*. Madrid.
- Habluetzel, A., Traldi, G., Ruggieri, S., Attili, A. R., Scuppa, P., Marchetti, R., Menghini, G. Esposito, F. (2003). An estimation of *Toxocara canis* prevalence in dogs, environmental egg contamination and risk of human infection in the Marche region of Italy. *Veterinary Parasitology*, 113(3–4), 243–252.
- Haque, U., Vera-Polania, F., Escobedo, A. A., Rodríguez-Morales, A. J., Granados-Álvarez, S., Díaz-Quijano, F. A., Liseth, O., Escudero-Quintero, H., Mondragon-Cardona, A., Lozada-Riascos, C. & Sosa-Valencia, L. (2016). Estimating and mapping the incidence of giardiasis in Colombia, 2009–2013. *International Journal of Infectious Diseases*, 49, 204–209.
- Herbinger, K. H., Siess, C., Nothdurft, H. D., von Sonnenburg, F. & Löscher, T. (2011). Skin disorders among travellers returning from tropical and non-tropical countries consulting a travel medicine clinic. *Tropical Medicine and International Health*, 16(11), 1457–1464.
- Instituto Nacional de Estatística (INE) (2012). Censos 2011 Resultados Definitivos - Região Lisboa. 96-100.
- Junta freguesia de Mafra (2019): Localidades. Disponível em <http://jfmafra.pt/a-freguesia/localidades/> acessado a 22 de Março de 2019.
- Katagiri, S. & Oliveira-Sequeira, T. C. (2007). Zoonoses causadas por parasitas intestinais de cães e o problema do diagnóstico. *Arquivos do Instituto Biológico*, 74(2), 175-184.
- Koch, J. & Willesen, J. L. (2009). Canine pulmonary angiostrongylosis: An update. *Veterinary Journal*, 179(3), 348–359.
- Lappin, M.R. (2010). Update on the Diagnosis and Management of *Isospora* spp. Infections in Dogs and Cats. *Topics in Companion Animal Medicine*, 25(3), 133–135.
- Lebre, F. (2011). Rastreio de Parasitas Gastrointestinais e seu Impacto Zoonótico em Cães de Canil na Cidade de Lisboa. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina

- Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.
- Lorenzini, G., Tasca, T. & Carli, G.A. (2007). Prevalence of intestinal parasites in dogs and cats under veterinary care in Porto Alegre , Rio Grande do Sul , Brazil. *Braz.J.Vet.Anim.Sci*, 44(2), 137–145.
- Magnaval, J.F. & Glickman, L.T., 2006. Management and treatment options for human toxocariasis. In: Holland, C.V., Smith, H.V. (Eds.), *Toxocara*, the Enigmatic Parasite. *CABI Publishing*, CAB International, Wallingford, Oxfordshire UK, pp. 113–126.
- Márquez-Navarro, A., García-Bracamontes, G., Álvarez-Fernández, B. E., Ávila-Caballero, L. P., Santos-Aranda, I., Díaz-Chiguer, D. L., Sánchez-Manzano ,R.M., Rodríguez-Bataz, E., Noguera-Torres, B. (2012). *Trichuris vulpis* (Froelich, 1789) infection in a child: A case report. *Korean Journal of Parasitology*, 50(1), 69–71.
- Martínez-Moreno, F. J., Hernández, S., López-Cobos, E., Becerra, C., Acosta, I. & Martínez-Moreno, A. (2007). Estimation of canine intestinal parasites in Córdoba (Spain) and their risk to public health. *Veterinary Parasitology*, 143(1), 7–13.
- 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), 9050–9067
- Matos, M., Alho, A. M., Owen, S. P., Nunes, T. & Madeira de Carvalho, L. (2015). Parasite control practices and public perception of parasitic diseases: A survey of dog and cat owners. *Preventive Veterinary Medicine*, 122(1–2), 174–180.
- Maurício, C., Rosa, F. & Crespo, M. V. (2006). Contaminação Fecal Por Parasitas De Canídeos Da Vila De Azambuja. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 13(1–2), 47–51.
- Melo, A. (2017). Parasitoses Gastrointestinais e Pulmonares em canídeos e felídeos da região oeste de Portugal Continental. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.
- Morais, J. A. (2010). Progressão e declínio da hidatidose humana em Portugal: análise histórico-epidemiológica. *Revista da Sociedade Portuguesa de Medicina Interna*, 17(4), 274-285
- Morariu, S., Lightowlers, M. W., Cosoroaba, I., Darabus, G., Bart, J. M., Ilie, M., Morar, D., Morariu, F., Oprescu, I., Mederle, N., Imre,K. & Belean, M. (2010). Utilization

- of EG95 vaccine for sheep immunization against cystic echinococcosis in Romania. *Sci. Parasitol.*, 11(June 2014), 29–34.
- Moreira, G. M. S. G., Telmo, P. de L., Mendonça, M., Moreira, Â. N., McBride, A. J. A., Scaini, C. J. & Conceição, F. R. (2014). Human toxocariasis: Current advances in diagnostics, treatment, and interventions. *Trends in Parasitology*, 30(9), 456–464.
- Morgado, G. (2016). Parasitoses Internas e Frequência de Desparasitação em Cães do Concelho de Vila Franca de Xira, Portugal. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.
- Nabais, J. (2012). Infecção por *Aelurostrongylus abstrusus* e *Angiostrongylus vasorum* (nematoda: angiostrongylidae), em gatos e cães no distrito de Lisboa, Portugal. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.
- Nabais, J., Alho, A. M., Gomes, L., Ferreira da Silva, J., Nunes, T., Vicente, G. & Madeira de Carvalho, L. (2014). *Aelurostrongylus abstrusus* in cats and *Angiostrongylus vasorum* in dogs from Lisbon, Portugal. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 20 (1/2), 35-40.
- Nelson, R. W. & Couto, C. G. (2009). *Small Animal Internal Medicine*. St. Louis, Missouri: Mosby Elsevier.
- Neves, D., Lobo, L., Simões, P. B. & Cardoso, L. (2014). Frequency of intestinal parasites in pet dogs from an urban area (Greater Oporto, northern Portugal). *Veterinary Parasitology*, 200, 295-298.
- Nunes, M.R.F (2014). Rastreio de formas parasitárias em fezes de cães colhidas em espaços públicos na cidade de Beja. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.
- Núñez, C. R., Durán, N. R., Barrera, G. E. M., Barrera, E. M., & Gómez, L. G. B. (2014). *Dipylidium caninum*, *Ancylostoma spp.*, and *Trichuris spp.* contamination in public parks in Mexico. *Acta Scientiae Veterinariae*, 42(1).
- Ortuño, A., Scorza, V., Castellà, J. & Lappin, M. (2014). Prevalence of intestinal parasites in shelter and hunting dogs in Catalonia, Northeastern Spain. *Veterinary Journal*, 199(3), 465–467.
- Otero, D., Ferreira, A., Cruz, R., Alho, A. M. & Carvalho, L. M. (2015). *Toxocara spp.*: a lombriga de estimação dos carnívoros domésticos e silvestres em Portugal. *Clínica*

- Animal*, 3, 30–35.
- Otero, D., Alho, A.M., Nijse, R., Roelfsema, J., Overgaauw, P., Madeira de Carvalho, L.M. (2018). Environmental contamination with *Toxocara* spp. eggs in public parks and playground sandpits of Greater Lisbon, Portugal. *Journal of Infection and Public Health*, 11(1), 94-98.
- Overgaauw, P. A. M. (1997). Aspects of *Toxocara* epidemiology: Toxocarosis in dogs and cats. *Critical Reviews in Microbiology*, 23(3), 215–231.
- Overgaauw, P.A.M. & van Knapen, F. (2008). Toxocarosis, an important zoonosis. *European Journal of Companion Animal Practice*, 18 (3), 260-266.
- Overgaauw, P. A. M. & Knapen, F. (2013). Veterinary and public health aspects of *Toxocara* spp. *Veterinary Parasitology*, 193(4), 398–403.
- Papini, R., Matteini, A., Bandinelli, P., Pampurini, F. & Mancianti, F. (2010). Effectiveness of praziquantel for treatment of peritoneal larval cestodiasis in dogs: a case report. *Veterinary Parasitology*, 170(1–2), 158–161.
- Paradies, P., Iarussi, F., Sasanelli, M., Capogna, A., Lia, R. P., Zucca, D., Greco, B., Cantacessi, C. & Otranto, D. (2017). Occurrence of strongyloidiasis in privately owned and sheltered dogs: Clinical presentation and treatment outcome. *Parasites and Vectors*, 10(1), 1–9.
- Pearson, R. (2015). Toxocaríase (larva migrans visceral). *Manual MSD*. Acedido a Jun. 14, 2019, disponível em <https://www.msmanuals.com/pt/casa/infecções/infecções-parasitárias/toxocaríase>.
- Pipia, A. P., Varcasia, A., Tamponi, C., Sanna, G., Soda, M., Paoletti, B., Traversa, D. & Scala, A. (2014). Canine giardiasis in Sardinia Island, Italy: prevalence, molecular characterization and risk factors. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 8(5), 655-660.
- Pirão, T.(2018). Prevalência de Parasitas Intestinais em Cães na Cidade de Amora, Concelho do Seixal – Distrito de Setúbal. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.
- Radwan, N. A., Khalil, A. I. & El Mahi, R. A. (2009). Morphology and Occurrence of Species of *Toxocara* in Wild Mammal Populations from Egypt. *Comparative Parasitology*, 76(2), 273–282.
- Riggio, F., Mannella, R., Ariti, G. & Perrucci, S. (2013). Intestinal and lung parasites in owned dogs and cats from central Italy. *Veterinary parasitology*, 193, 78-84.

- 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, 1369–1377.
- Robertson, I. D. & Thompson, R. C. (2002). Enteric parasitic zoonoses of domesticated dogs and cats. *Microbes and Infection*, 4, 867–873.
- Roddie, G., Stafford, P., Holland, C. & Wolfe, A. (2008). Contamination of dog hair with eggs of *Toxocara canis*. *Veterinary Parasitology*, 152(1–2), 85–93.
- Santos, J. (2014). Estudo observacional transversal de parasitas em cães errantes no concelho de Vila Franca de Xira, Portugal. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina de Veterinária da Universidade de Lisboa.
- Schantz, P. M. (1991). Parasitic Zoonoses in Perspective. *International Journal for Parasitology*, 21(2), 161–170.
- Schmidt, G. & Roberts, L. (2008). *Foundations of Parasitology* (8th ed.). New York: McGraw Hill.
- Schnieder, T., Laabs, E. M. & Welz, C. (2011). Larval development of *Toxocara canis* in dogs. *Veterinary Parasitology*, 175(3–4), 193–206.
- Schnyder, M., Schaper, R., Bilbrough, G., Morgan, E.R. & Deplazes, P. (2013a). Seroepidemiological survey for canine angiostrongylosis in dogs from Germany and the UK using combined detection of *Angiostrongylus vasorum* antigen and specific antibodies. *Parasitology* 140, 1442–1450.
- Schnyder, M., Schaper, R., Pantchev, N., Kowalska, D., Szwedko, A. & Deplazes, P. (2013b). Serological detection of circulating *Angiostrongylus vasorum* antigen and parasite-specific antibodies in dogs from Poland. *Parasitology Research*, 112(1 SUPPL.), 109–117.
- Schnyder, M., Schaper, R., Lukács, Z., Hornok, S. & Farkas, R. (2015). Combined Serological Detection of Circulating *Angiostrongylus vasorum* Antigen and Parasite-specific Antibodies in Dogs from Hungary. *Parasitology Research*, 114, 145–154.
- Scorza, V. & Tangtrongsup, S. (2010). Update on the Diagnosis and Management of *Cryptosporidium* spp. Infections in Dogs and Cats. *Topics in Companion Animal Medicine*, 25(3), 163–169.
- Stoj, D., Suši, V., & Lu, S. (2010). Contamination of soil and sand with parasite elements as a risk factor for human health in public parks and playgrounds in Pula, Croatia. *Veterinarski Arhiv*, 80(6), 733–742.

- Taylor, M. A., Coop, R. L. & Wall, R. L. (2016). *Veterinary Parasitology* (4. Ed).
- Torres-Chablé, O. M., García-Herrera, R. A., Hernández-Hernández, M., Peralta-Torres, J. A., Ojeda-Robertos, N. F., Blitvich, B. J., Baak-Baak, C.M., García-Rejón, J.E. & Machain-Wiliams, C.I. (2015). Prevalence of gastrointestinal parasites in domestic dogs in Tabasco, southeastern Mexico. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 24(4), 432–437.
- Traversa, D. & Di Cesare, A. (2016). Diagnosis and management of lungworm infections in cats. Cornerstones, dilemmas and new avenues. *Journal of feline medicine and surgery*, 18, 7-20.
- Turner, J. A. (1962). Human dipylidiasis (dog tapeworm infection) in the United States. *The Journal of Pediatrics*, 61(5), 763–768.
- Villeneuve, A., Polley, L., Jenkins, E., Schurer, J., Gilleard, J., Kutz, S., Conboy, G., Benoit, D., Seewald, W. & Gagné, F. (2015). Parasite prevalence in fecal samples from shelter dogs and cats across the Canadian provinces. *Parasites & vectors*, 8 (1), 2–10.
- Walker, N., Croese, J., Clouston, A., Parry, M., Loukas, A. & Prociw, P. (1995). Eosinophilic enteritis in northeastern Australia—Pathology, association with *Ancylostoma caninum* and implications. *The American Journal of Surgical Pathology*, 19(3), 328–337.
- Wiśniewska-Ligier, M., Woźniakowska-Gęścicka, T., Sobolewska-Dryjańska, J., Markiewicz-Józwiak, A., & Wieczorek, M. (2012). Analysis of the course and treatment of toxocariasis in children - A long-term observation. *Parasitology Research*, 110(6), 2363–2371.
- Wolfe, M. S. (1992). Giardiasis. *American Society for Microbiology*, 5(1), 93–100.
- Wolfe, A. & Wright, I. P. (2003). Human toxocariasis and direct contact with dogs. *Veterinary Record*, 152(14), 419–422.
- Woodhall, D. M., Eberhard, M. L. & Parise, M. E. (2014). Neglected parasitic infections in the United States: Toxocariasis. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 90(5), 810–813.
- Xiao, L. (2010). Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: An update. *Experimental Parasitology*, 124(1), 80–89.

- Zagloul, D. A., Mohamed, A., Khodari, Y. A. & Farooq, M. U. (2013). *Crypto-Giardia* antigen rapid test versus conventional modified Ziehl-Neelsen acid fast staining method for diagnosis of cryptosporidiosis. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 212-215.
- Zajac, A. M. & Conboy, G. A. (2012). *Veterinary Clinical Parasitology* (8th ed.). Chichester, West Sussex, UK: Willey-Blackwell.

## VII. Anexos

### Anexo 1- Resultados obtidos nas análises das amostras em estudo

Tabela 21 - Resultados obtidos no total das amostras analisadas

| Amostra | Data Recolha | Data Análise | Consistência das fezes | Exposição a luz solar | Exame Macroscópico | Técnica de Willis | Sedimentação Natural | Técnica de Baermann | Técnica de Ritchie | Coloração Ziehl-Neelsen | IFD (G/C) |
|---------|--------------|--------------|------------------------|-----------------------|--------------------|-------------------|----------------------|---------------------|--------------------|-------------------------|-----------|
| A1      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| A2      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| A3      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| A4      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| A5      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | <i>Giardia</i>     | <i>Giardia</i>          |           |
| A6      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| A7      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| A8      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| A9      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Diarreica              | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| A10     | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| B1      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| B2      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | <i>Giardia</i>     | <i>Giardia</i>          |           |
| B3      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| B4      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| B5      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| B6      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| B7      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Pastosa                | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| B8      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | <i>Giardia</i>     | Neg                     | Neg.      |
| B9      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| B10     | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |

Tabela 21 - Resultados obtidos no total das amostras analisadas (continuação)

| Amostra | Data Recolha | Data Análise | Consistência das fezes | Exposição a luz solar | Exame Macroscópico | Técnica de Willis  | Sedimentação Natural          | Técnica de Baermann           | Técnica de Ritchie | Coloração Ziehl-Neelsen | IFD (G/C) |
|---------|--------------|--------------|------------------------|-----------------------|--------------------|--|-------------------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------------|-----------|
| C1      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Neg.   | Neg.                          | Neg.                          | Neg.               | Neg.                    |           |
| C2      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Neg.   | Neg.                          | Neg.                          | Neg.               | Neg.                    |           |
| C3      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Ovos de <i>Toxocara canis</i> e do tipo Ancilostomatídeo | Neg.                          | Ovos de <i>Toxocara canis</i> | Neg.               | Neg.                    |           |
| C4      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Pastosa                | Não                   | Neg.               | Neg.   | Neg.                          | Neg.                          | Neg.               | Neg.                    |           |
| C5      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Neg.   | Neg.                          | Neg.                          | Neg.               | Neg.                    |           |
| C6      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Neg.   | Neg.                          | Neg.                          | Neg.               | Neg.                    |           |
| C7      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Ovos de <i>Toxocara canis</i> e do tipo Ancilostomatídeo | Ovos de <i>Toxocara canis</i> | Neg.                          | Neg.               | Neg.                    |           |
| C8      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Neg.   | Neg.                          | Neg.                          | Neg.               | Neg.                    |           |
| C9      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Diarreica              | Não                   | Neg.               | Neg.   | Neg.                          | Neg.                          | Neg.               | Neg.                    |           |
| C10     | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Neg.   | Neg.                          | Neg.                          | Neg.               | Neg.                    |           |
| D1      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.   | Neg.                          | Neg.                          | Neg.               | Neg.                    |           |
| D2      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.   | Neg.                          | Neg.                          | Neg.               | Neg.                    |           |
| D3      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.   | Neg.                          | Neg.                          | <i>Giardia</i>     | Neg.                    | Neg.      |
| D4      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.   | Neg.                          | Neg.                          | Neg.               | Neg.                    |           |
| D5      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Neg.   | Neg.                          | Neg.                          | Neg.               | Neg.                    |           |
| D6      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.   | Neg.                          | Neg.                          | Neg.               | Neg.                    |           |
| D7      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Pastosa                | Sim                   | Neg.               | Neg.   | Neg.                          | Neg.                          | Neg.               | Neg.                    |           |
| D8      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.   | Neg.                          | Neg.                          | Neg.               | Neg.                    |           |
| D9      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.   | Neg.                          | Neg.                          | Neg.               | Neg.                    |           |
| D10     | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.   | Neg.                          | Neg.                          | Neg.               | Neg.                    |           |

Tabela 21 - Resultados obtidos no total das amostras analisadas (continuação)

| Amostra | Data Recolha | Data Análise | Consistência das fezes | Exposição a luz solar | Exame Macroscópico | Técnica de Willis                | Sedimentação Natural | Técnica de Baermann | Técnica de Ritchie | Coloração Ziehl-Neelsen | IFD (G/C)           |
|---------|--------------|--------------|------------------------|-----------------------|--------------------|----------------------------------|----------------------|---------------------|--------------------|-------------------------|---------------------|
| E1      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Pastosa                | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |                     |
| E2      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |                     |
| E3      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |                     |
| E4      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |                     |
| E5      | 26/01/2019   | 28/01/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |                     |
| E6      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |                     |
| E7      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |                     |
| E8      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |                     |
| E9      | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Pastosa                | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |                     |
| E10     | 9/02/2019    | 11/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |                     |
| F1      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |                     |
| F2      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |                     |
| F3      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Pastosa                | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | Duvidoso.          | Neg.                    | Neg.                |
| F4      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Pastosa                | Sim                   | Neg.               | Ovo de <i>Cystoisospora</i> spp. | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |                     |
| F5      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |                     |
| F6      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | <i>Giardia</i>     | <i>Giardia</i>          | Pos. <i>Giardia</i> |
| F7      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |                     |
| F8      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Pastosa                | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |                     |
| F9      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Pastosa                | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |                     |
| F10     | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                             | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |                     |

Tabela 21 - Resultados obtidos no total das amostras analisadas (continuação)

| Amostra | Data Recolha | Data Análise | Consistência das fezes | Exposição a luz solar | Exame Macroscópico | Técnica de Willis             | Sedimentação Natural   | Técnica de Baermann                      | Técnica de Ritchie | Coloração Ziehl-Neelsen | IFD (G/C)            |
|---------|--------------|--------------|------------------------|-----------------------|--------------------|-------------------------------|--|--|--------------------|-------------------------|----------------------|
| G1      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Ovo de Ancilostomatídeo       | Neg.   | Neg.                                     | Cryptosporidium    | Cryptosporidium         | Pos. Cryptosporidium |
| G2      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Neg.                          | Neg.   | Neg.                                     | Neg.               | Neg.                    |                      |
| G3      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                          | Neg.   | Neg.                                     | Neg.               | Neg.                    |                      |
| G4      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                          | Neg.   | Neg.                                     | Neg.               | Neg.                    |                      |
| G5      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Ovo de Ancilostomatídeo       | Neg.   | Neg.                                     | Duvidoso           | Neg.                    | Neg.                 |
| G6      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                          | Neg.   | Neg.                                     | <i>Giardia</i>     | <i>Giardia</i>          |                      |
| G7      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Diarreica              | Sim                   | Neg.               | Neg.                          | Neg.   | Neg.                                     | Neg.               | Neg.                    |                      |
| G8      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                          | Neg.   | Neg.                                     | Neg.               | Neg.                    |                      |
| G9      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                          | Neg.   | Neg.                                     | Neg.               | Neg.                    |                      |
| G10     | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Pastosa                | Sim                   | Neg.               | Neg.                          | Neg.   | Neg.                                     | Neg.               | Neg.                    |                      |
| H1      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                          | Neg.   | Neg.                                     | <i>Giardia</i>     | <i>Giardia</i>          | Pos. <i>Giardia</i>  |
| H2      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                          | Neg.   | Neg.                                     | Neg.               | Neg.                    |                      |
| H3      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Diarreica              | Sim                   | Neg.               | Neg.                          | Neg.   | Neg.                                     | Neg.               | Neg.                    |                      |
| H4      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                          | Neg.   | Neg.                                     | Neg.               | Neg.                    |                      |
| H5      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                          | Neg.   | Neg.                                     | Neg.               | Neg.                    |                      |
| H6      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Pastosa                | Sim                   | Neg.               | Neg.                          | Neg.   | Neg.                                     | Neg.               | Neg.                    |                      |
| H7      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                          | Neg.   | Neg.                                     | Neg.               | Neg.                    |                      |
| H8      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                          | Neg.   | Neg.                                     | <i>Giardia</i>     | <i>Giardia</i>          |                      |
| H9      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.                          | Neg.   | Neg.                                     | Neg.               | Neg.                    |                      |
| H10     | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Ovos de <i>Toxocara canis</i> | Ovos de <i>Toxocara canis</i> e larvas de <i>Angiostrongylus vasorum</i> | Larvas de <i>Angiostrongylus vasorum</i> | Neg.               | Neg.                    |                      |

Tabela 21 - Resultados obtidos no total das amostras analisadas (continuação)

| Amostra | Data Recolha | Data Análise | Consistência das fezes | Exposição a luz solar | Exame Macroscópico | Técnica de Willis | Sedimentação Natural | Técnica de Baermann | Técnica de Ritchie     | Coloração Ziehl-Neelsen | IFD (G/C) |
|---------|--------------|--------------|------------------------|-----------------------|--------------------|-------------------|----------------------|---------------------|------------------------|-------------------------|-----------|
| I1      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |
| I2      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |
| I3      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |
| I4      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |
| I5      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |
| I6      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Pastosa                | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |
| I7      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |
| I8      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |
| I9      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Diarreica              | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |
| I10     | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |
| J1      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |
| J2      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |
| J3      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | <i>Cryptosporidium</i> | <i>Cryptosporidium</i>  | .         |
| J4      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |
| J5      | 02/02/2019   | 04/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |
| J6      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |
| J7      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Pastosa                | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |
| J8      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |
| J9      | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |
| J10     | 16/02/2019   | 18/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.                   | Neg.                    |           |

Tabela 21 - Resultados obtidos no total das amostras analisadas (continuação)

| Amostra | Data Recolha | Data Análise | Consistência das fezes | Exposição a luz solar | Exame Macroscópico | Técnica de Willis | Sedimentação Natural | Técnica de Baermann | Técnica de Ritchie | Coloração Ziehl-Neelsen            | IFD (G/C) |
|---------|--------------|--------------|------------------------|-----------------------|--------------------|-------------------|----------------------|---------------------|--------------------|------------------------------------|-----------|
| L1      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Diarreica              | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                               |           |
| L2      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                               |           |
| L3      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                               |           |
| L4      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                               |           |
| L5      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                               |           |
| L6      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                               |           |
| L7      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                               |           |
| L8      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                               |           |
| L9      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Pastosa                | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | <i>Giardia</i>     | <i>Giardia</i>                     |           |
| L10     | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                               |           |
| M1      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Pastosa                | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                               |           |
| M2      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Diarreica              | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                               |           |
| M3      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                               |           |
| M4      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                               |           |
| M5      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                               |           |
| M6      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                               |           |
| M7      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | <i>Giardia</i>     | Neg.                               | Neg.      |
| M8      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Pastosa                | Não                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | <b>Cryptosporidium &lt;2/campo</b> |           |
| M9      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | <i>Giardia</i>     | <i>Giardia.</i>                    |           |
| M10     | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                               |           |

Tabela 21 - Resultados obtidos no total das amostras analisadas (continuação).

| Amostra | Data Recolha | Data Análise | Consistência das fezes | Exposição a luz solar | Exame Macroscópico | Técnica de Willis | Sedimentação Natural | Técnica de Baermann | Técnica de Ritchie | Coloração Ziehl-Neelsen | IFD (G/C) |
|---------|--------------|--------------|------------------------|-----------------------|--------------------|-------------------|----------------------|---------------------|--------------------|-------------------------|-----------|
| N1      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | <i>Giardia</i>     | Duvidoso                | Neg.      |
| N2      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Sim                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | <i>Giardia</i>     | <i>Giardia</i>          |           |
| N3      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| N4      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| N5      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | <i>Giardia</i>     | <i>Giardia</i>          |           |
| N6      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Pastosa                | Não                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| N7      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| N8      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Normal                 | Não                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | <i>Giardia</i>     | <i>Giardia</i>          |           |
| N9      | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Pastosa                | Não                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |
| N10     | 23/02/2019   | 25/02/2019   | Pastosa                | Não                   | Neg.               | Neg.              | Neg.                 | Neg.                | Neg.               | Neg.                    |           |

Legenda:

Neg. – Negativo

IFD (G/C) – Imunofluorescência Direta para pesquisa de *Giardia/Criptosporidium*

**Anexo 2** - Adaptação do protocolo da técnica de Imunofluorescência Direta com recurso ao *kit* Crypto/Giardia Cell IF (Cellabs®)

- 1) Preparar uma diluição de cada amostra a 1/10 em água destilada;
- 2) Retirar 15  $\mu$ L de cada amostra diluída e colocar num poço da lâmina;
- 3) Deixar a lâmina a secar ao ar até que os poços estejam completamente secos;
- 4) Fixar as lâminas com acetona, por um período de 5 minutos deixar a secar ao ar;
- 5) Adicionar 25  $\mu$ L do reagente Giardia/Crypto Cel (RR2) a cada poço da lâmina;
- 6) Colocar a lâmina a incubar na estufa, a 37 °C, durante um período de 30 minutos;
- 7) Lavar a lâmina com PBS durante 1 minuto e deixar secar;
- 8) Adicionar a cada poço uma gota de meio de montagem (RMG);
- 9) Colocar uma lamela sobre a lâmina, eliminando as bolas de ar e observar em microscópio de fluorescência com ampliação de 400x e 1000x.

**Anexo 3** - Distribuição da presença ou ausência de *Giardia* sp. em relação às várias localidades

Tabela 22 - Distribuição da presença ou ausência de *Giardia* sp. em relação à localidade

| A (n=130)       |                                |                                |
|-----------------|--------------------------------|--------------------------------|
|                 | Presença de <i>Giardia</i> sp. | Ausência de <i>Giardia</i> sp. |
|                 | N(%)                           | N(%)                           |
| Zona A          | 1 (9,1)                        | 9 (7,6)                        |
| Restantes Zonas | 9 (90,9)                       | 110 (92,4)                     |
| Total           | 11 (100)                       | 119 (100)                      |

Tabela 23 - Distribuição da presença ou ausência de *Giardia* sp. em relação à localidade

| B (n=130)       |                                |                                |
|-----------------|--------------------------------|--------------------------------|
|                 | Presença de <i>Giardia</i> sp. | Ausência de <i>Giardia</i> sp. |
|                 | N(%)                           | N(%)                           |
| Zona B          | 1 (9,1)                        | 9 (7,6)                        |
| Restantes Zonas | 9 (90,9)                       | 110 (92,4)                     |
| Total           | 11 (100)                       | 119 (100)                      |

Tabela 24 - Distribuição da presença ou ausência de *Giardia* sp. em relação à localidade F (n=130)

| F (n=130)       |                                |                                |
|-----------------|--------------------------------|--------------------------------|
|                 | Presença de <i>Giardia</i> sp. | Ausência de <i>Giardia</i> sp. |
|                 | N(%)                           | N(%)                           |
| Zona F          | 1 (9,1)                        | 9 (7,6)                        |
| Restantes Zonas | 9 (90,9)                       | 110 (92,4)                     |
| Total           | 11 (100)                       | 119 (100)                      |

Tabela 25 - Distribuição da presença ou ausência de *Giardia* sp. em relação à localidade G (n=130)

|                 | Presença de <i>Giardia</i> sp.<br>N(%) | Ausência de <i>Giardia</i> sp.<br>N(%) |
|-----------------|--|--|
| Zona G          | 1 (9,1)                                | 9 (7,6)                                |
| Restantes Zonas | 9 (90,9)                               | 110 (92,4)                             |
| Total           | 11 (100)                               | 119 (100)                              |

Tabela 26 - Distribuição da presença ou ausência de *Giardia* sp. em relação à localidade H (n=130)

|                 | Presença de <i>Giardia</i> sp.<br>N(%) | Ausência de <i>Giardia</i> sp.<br>N(%) |
|-----------------|--|--|
| Zona H          | 2 (18,2)                               | 8 (6,7)                                |
| Restantes Zonas | 9 (81,8)                               | 111 (93,3)                             |
| Total           | 11 (100)                               | 119 (100)                              |

Tabela 27 - Distribuição da presença ou ausência de *Giardia* sp. em relação à localidade L (n=130)

|                 | Presença de <i>Giardia</i> sp.<br>N(%) | Ausência de <i>Giardia</i> sp.<br>N(%) |
|-----------------|--|--|
| Zona L          | 1 (9,1)                                | 9 (7,6)                                |
| Restantes Zonas | 9 (90,9)                               | 110 (92,4)                             |
| Total           | 11 (100)                               | 119 (100)                              |

Tabela 28 - Distribuição da presença ou ausência de *Giardia* sp. em relação à localidade M (n=130)

|                 | Presença de <i>Giardia</i> spp. | Ausência de <i>Giardia</i> spp. |
|-----------------|---------------------------------|---------------------------------|
|                 | N(%)                            | N(%)                            |
| Zona M          | 2 (18,2)                        | 8 (6,7)                         |
| Restantes Zonas | 9 (81,8)                        | 111 (93,3)                      |
| Total           | 11 (100)                        | 119 (100)                       |

**Anexo 4** - Relação entre a presença de coinfeção por *Cryptosporidium* sp. e os vários locais de recolha

Tabela 29 - Relação entre a presença de coinfeção por *Cryptosporidium* sp. e o local de recolha J (n=130)

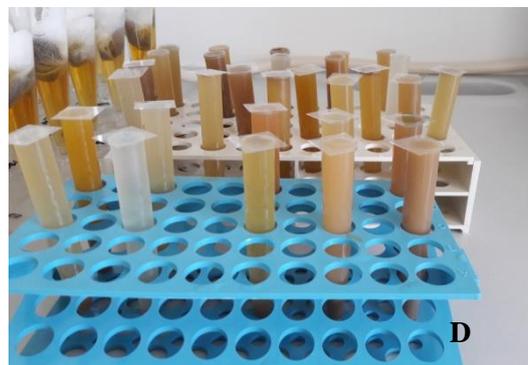
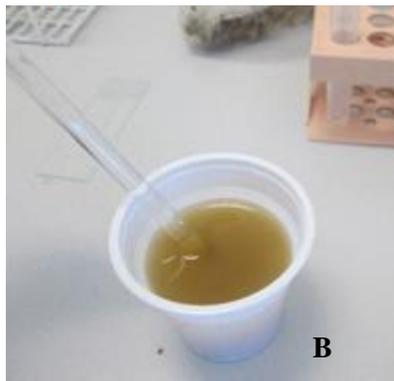
|                 | Presença de <i>Cryptosporidium</i> sp. N(%) | Ausência de <i>Cryptosporidium</i> sp. N(%) |
|-----------------|---|---|
|                 | Zona J                                      | 1 (33,3)                                    |
| Restantes Zonas | 2 (66,7)                                    | 118 (92,9)                                  |
| Total           | 3 (100)                                     | 127 (100)                                   |

Tabela 30 - Relação entre a presença de coinfeção por *Cryptosporidium* sp. e o local de recolha M (n=130)

|                 | Presença de <i>Cryptosporidium</i> sp. N(%) | Ausência de <i>Cryptosporidium</i> sp. N(%) |
|-----------------|---|---|
|                 | Zona M                                      | 1 (33,3)                                    |
| Restantes Zonas | 2 (66,7)                                    | 118 (92,9)                                  |
| Total           | 3 (100)                                     | 127 (100)                                   |

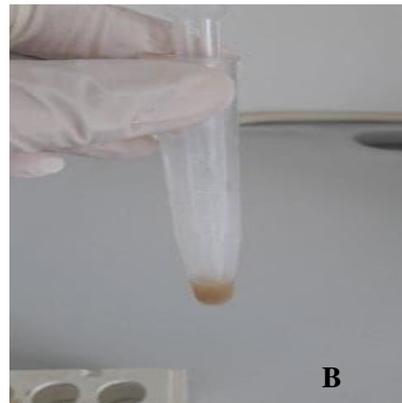
**Anexo 5 – Método de Flutuação de Willis (Willis, 1921)**

Figura 10 – Método de Flutuação de Willis: A) preparação do material necessário para realização do método; B) Diluição da amostra em solução saturada de sacarose com densidade entre 1,18 a 1,26g/ml.; C) filtração com formação de um menisco convexo; D) colocação de lamela no topo do menisco (original)



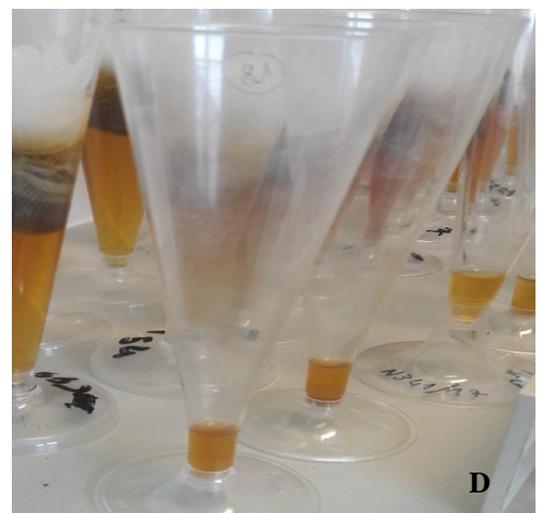
**Anexo 6 – Método de Sedimentação Natural (Hoffman, Pons e Janer, 1934)**

Figura 11 – Método de Sedimentação Natural: A) sedimentação no fundo do tubo de ensaio; B) Retirada de uma porção de sedimento do fundo do tubo (original)



**Anexo 7 – Técnica de Baermann (Baermann, 1917)**

Figura 12 – Técnica de Baermann: A) preparação dos copos utilizados na técnica; B) criação de uma “boneca” com a amostra no interior envolvida numa gaze; C) repouso por 24h; D) recolha do sedimento (original)



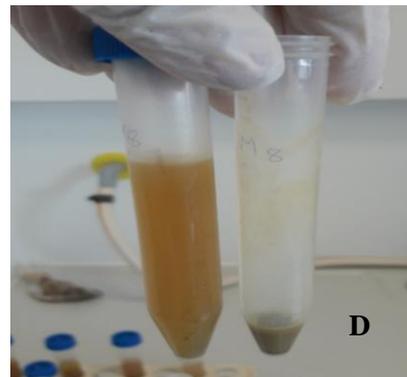
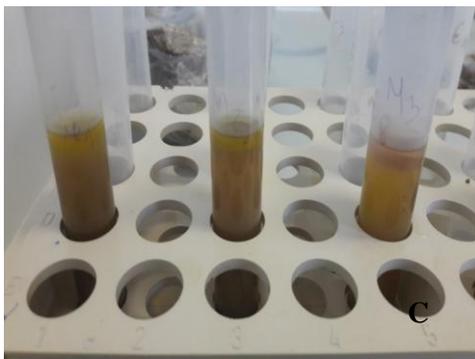
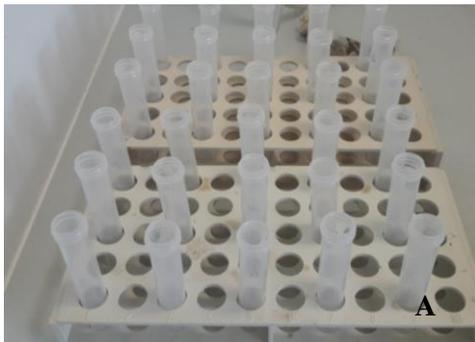
**Anexo 8** – Técnica de coloração de Ziehl – Neelsen (Casemore, Armstrong & Sands, 1985)

Figura 13 – Esfregaços fecais corados com o método de Ziehl-Neelsen: A) realização do esfregaço; B) coloração com fucsina (original)



**Anexo 9 – Método de sedimentação difásica de Ritchie Modificado (Casemore et al., 1985)**

Figura 14- Método de sedimentação difásica de Ritchie Modificado: A e B) preparação dos materiais; C) Distinção entre camada de éter a retirar e o restante de sedimento; D) colocar sedimento em tubo separado; E) fazer esfregaço com uma gota do sedimento F) guardar o restante do sedimento (original)



**Anexo 10** – Mapa do concelho de Mafra com identificação dos locais de recolha e identificação das prevalências nas respetivas zonas.



Legenda:

- : Zonas com 30% de prevalência e maior risco.
- : Zonas com 20% de prevalência.
- : Zonas com 10% de prevalência.
- : Zonas com 0% de prevalência e menor risco.