



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

PARASITOSSES GASTROINTESTINAIS E CARDIOPULMONARES EM CÃES.
ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO EM CANIS DE PORTUGAL CONTINENTAL.

LILIANA ISABEL BRANCO FÉLIX

CONTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles
Doutora Maria Isabel Neto da Cunha Fonseca
Dr. Luís Miguel do Amaral Cruz

ORIENTADOR

Dr. Luís Miguel do Amaral Cruz

CO-ORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de
Carvalho

2015

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

PARASITOSSES GASTROINTESTINAIS E CARDIOPULMONARES EM CÃES.
ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO EM CANIS DE PORTUGAL CONTINENTAL.

LILIANA ISABEL BRANCO FÉLIX

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

Doutora Maria Isabel Neto da Cunha Fonseca

Dr. Luís Miguel do Amaral Cruz

ORIENTADOR

Dr. Luís Miguel do Amaral Cruz

CO-ORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de
Carvalho

2015

LISBOA

“Se encontrar um caminho sem obstáculos, ele provavelmente não leva a lugar nenhum.”

Frank Clark

À minha família e amigos.

Agradecimentos:

A realização do estágio curricular e da presente dissertação de mestrado, assim como todo este longo percurso que está prestes a terminar, contou com a contribuição de inúmeras pessoas, sem quais este percurso seria, pelo menos, mais difícil.

Ao Hospital Veterinária das Laranjeiras, em especial ao meu orientador, Dr. Luís Cruz e à restante equipa médica: Dra. Cármen Rodrigues, Dr. Francisco Silva, Dra. Márcia João, Dra. Rita Rodrigues, Dra. Mariana de Magalhães, Dra. Beatriz Silva, Dra. Joana Brás, Dra. Catarina Silva e Dra. Mónica Silvério e enfermeira Juliana Pereira, pelos muitos conhecimentos transmitidos com tanta paciência e dedicação, bem como à restante equipa: Sandra, Catarina, Pedro, Misol, e todas as colegas de estágio, pela amizade e companheirismo constante.

Ao Professor Doutor Luís Madeira de Carvalho, meu co-orientador, pelos esclarecimentos, amizade e boa disposição transmitida durante a escrita desta dissertação e por todo o acompanhamento no trabalho laboratorial.

À Dra. Ana Margarida Alho por me permitir participar no projecto de investigação que deu origem à presente dissertação, por todo o apoio, orientação, esclarecimentos e companheirismo prestados desde o início.

À Dra. Lídia Gomes que, pacientemente, me explicou todas as técnicas laboratoriais necessárias para a concretização deste trabalho e, também pelas trocas de opinião em variados assuntos com ou sem conteúdo científico.

Ao Dr. Telmo Nunes, pela disponibilidade e esclarecimento nas inúmeras questões sobre estatística que foram surgindo ao longo desta dissertação.

À Dra. Marta Videira, Médica Veterinária da Casa dos Animais de Lisboa, e aos funcionários que me acompanharam, pela disponibilidade, amabilidade e simpatia com que me receberam nas instalações da CML.

Aos meus companheiros de curso, especialmente à Maria Margarida de Aragão e à Catarina Leitão pelo acompanhamento e amizade, principalmente nesta última fase do curso, bem como outros tantos, sem os quais este percurso não seria igual. Obrigado pelo companheirismo, amizade, horas de conversa e/ou estudo, e tudo o resto que foi vivido ao vosso lado ao longo destes anos.

Um agradecimento muito especial à minha família Lisboeta, Rita Curto e Daniel Russo que contribuíram para a pessoa que sou hoje, e me ajudaram em todas as grandes e pequenas decisões. Obrigada pelas histórias que vivemos juntos e pelas que sei que ainda estão para vir.

Agradeço também aos meus amigos: Elton que incansavelmente, me ouve falar de animais, casos clínicos, entre outros assuntos relacionados com animais. Ao Tiago, Rita, Filipe, Hélio, Marcelo, e muitos outros, que tornam os meus fins-de-semana mais felizes.

Um enorme obrigado aos meus pais, à minha irmã e avós, sem os quais a realização deste curso não seria possível. Obrigada, pois a pessoa que me tornei, a minha educação e valores devo a vós. Muito Obrigada.

Por fim agradeço ao João Carmo, por ser o meu companheiro, meu amigo, meu confidente. Obrigada por me incentivares todos os dias, mesmo nos dias em que continuar parece ser mais difícil. Obrigada por tudo.

Obrigada ao meu Ernesto, o meu cão, que me recebeu com entusiasmo e carinho todas as semanas, durante todos estes anos.

Resumo:**PARASITOSSES GASTROINTESTINAIS E CARDIOPULMONARES EM CÃES
ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO EM CANIS DE PORTUGAL CONTINENTAL.**

As parasitoses gastrointestinais e cardiopulmonares de canídeos assumem um importante papel na medida em que apresentam distribuição mundial e impacto em Saúde Pública e animal. Dados sobre a situação epidemiológica em Portugal são escassos e pontuais, motivo pelo qual se procedeu ao estudo de larga escala de norte a sul de Portugal.

Entre Maio e Setembro de 2014 procedeu-se à colheita de 200 amostras fecais e 265 amostras de sangue em canis de Portugal com elevada densidade de animais. Para observação e caracterização de parasitas nas amostras fecais utilizaram-se técnicas coprológicas qualitativas, nomeadamente Flutuação de Willis, Sedimentação natural e Baermann. Para pesquisa de infeção por *Dirofilaria immitis*, foi utilizado o kit rápido de antigénio Witness®*Dirofilaria* (Synbiotics Corporation) e a Técnica de Knott modificada para identificação e diferenciação de microfilárias.

Das amostras fecais analisadas, 25% apresentavam parasitas gastrointestinais e registou-se co-infecção em 16% das amostras. Entre as classes com maior frequência, destacam-se os nemátodes (68%), seguido dos protozoários (34%) e por fim céstodes (14%). Ancylostomatidae foi o parasita mais frequente (11%), seguido por *Cystoisospora* spp. (8%), *Toxocara* spp. (5%), Taeniidae (3,5%) e *Toxascaris* spp. e *Trichuris* spp. (1,5%). Castelo Branco apresentou maior prevalência de amostras parasitadas (36%), seguido pela Guarda (33,3%), Portalegre (33%), Beja (27,6%), Bragança (26,9%), Évora (25%), Lisboa (10,3%) e por fim Faro (8,7%). Observou-se uma prevalência global de 2,8% (7/264) de infeção por *D. immitis*, sendo Beja o distrito com maior prevalência (8,9%), seguido da Guarda (6,7%), Faro (2,7%) e Castelo Branco (2,5%). Não se registaram casos positivos em Bragança, Portalegre, Lisboa e Évora. Não se observou presença de *Dirofilaria repens* ou *Angiostrongylus vasorum*.

Os resultados observados indicam um elevado grau de parasitismo nos animais dos canis de Portugal. Considerando ao potencial zoonótico de muitos destes agentes, estes dados alertam para a necessidade da sensibilização da comunidade em geral, principalmente de médicos veterinários, funcionários, voluntários e visitantes dos canis em geral, bem como a necessidade de reforçar as medidas profiláticas nestes animais.

Palavras-chave: Parasitas, gastrointestinais, cardiopulmonares, canis, cães, prevalência, Portugal.

Abstrac:**GASTROINTESTINAL AND CARDIOPULMONARY PARASITOSIS IN DOGS.
EPIDEMIOLOGICAL STUDY ON SHELTERS OF PORTUGALCONTINENTAL.**

Dog gastrointestinal and cardiopulmonary parasites have an important role since they have world distribution and higt impact on Aninal and Public Health. Data on the epidemiological situation in Portugal is scarce and focal, reason why it was held a large-scale study from north to south of Portugal.

Between May and September 2014 proceeded to a collection of 200 fecal samples and 265 blood samples, in shelters with high density of animals, in Portugal. For observation and characterization of parasites in fecal samples coprological qualitative techniques were performed, including Flotation Willis, Natural Sedimentation and Baermann. For the search of *Dirofilaria immitis* infection commercial kits for the detection of antigen Witness®Dirofilaria (Synbiotics Corporation) and the modified Knott technique were used for microfilariae identification and differentiation.

Of the analysed faecal samples, 25% had gastrointestinal parasites and was registered co-infection in 16% of the samples. Among the classes with most frequency, nematodes (68%) were the most important, followed by protozoa (34%) and finally cestodes (14%). Ancylostomatidae were the most common parasites (11%), followed by *Cystoisospora* spp. (8%), *Toxocara* spp. (5%), Taeniidae (3.5%) and *Toxascaris* spp. and *Trichuris* spp. (1.5%). The district of Castelo Branco showed higher prevalence of infected animals (36%), followed by Guarda (33.3%), Portalegre (33%), Beja (27.6%), Bragança (26.9%), Évora (25%), Lisbon (10.3%) and finally Faro (8.7%). We observed an overall prevalence of 2.8% (7/264) of *D. immitis* infection, were Beja district had the highest prevalence (8.9%), followed by the Guarda (6.7%), Faro (2.7 %) and Castelo Branco (2.5%). There were no positive cases in Bragança, Portalegre, Évora and Lisbon. The presence of *Dirofilaria repens* or *Angiostrongylus vasorum* was not observed.

The observed results indicate a high degree of parasitism in shelters animals in Portugal. Considering the zoonotic potential of many of these agents, these data highlight the need of awareness in the general community, mainly veterinarians, staff, volunteers and visitors to the shelters in general, as well the need for the reinforcement of prophylactic measures in these animals.

Keywords: Parasites, gastrointestinal, cardiopulmonary, shelters, dogs, prevalence, Portugal

ÍNDICE

I.	INTRODUÇÃO.....	1
II.	ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO ESTÁGIO CURRICULAR.....	3
1.	Hospital Veterinário das Laranjeiras	3
1.1.	Introdução.....	3
1.2.	Descrição das atividades desenvolvidas.....	3
1.2.1.	Apoio nas consultas externas	3
1.2.2.	Apoio no internamento e cuidados intensivos	4
1.2.3.	Apoio na realização de exames complementares de diagnóstico	4
1.2.4.	Apoio na cirurgia, endoscopia e manutenção a anestesia	5
1.2.5.	Apoio nas urgências	5
2.	Laboratório de Doenças Parasitárias FMV-ULisboa.....	6
III.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
1.	Parasitas Gastrointestinais em canídeos	8
1.1.	Nemátodes Gastrointestinais	8
1.1.1.	Ciclos de Vida.....	8
1.1.2.	Epidemiologia.....	11
1.1.3.	Sintomatologia e lesões	12
1.1.4.	Identificação e diagnóstico	13
1.1.5.	Terapêutica e profilaxia	14
1.1.6.	Potencial zoonótico.....	16
1.2.	Céstodes gastrointestinais	17
1.2.1.	Ciclos de vida.....	17
1.2.2.	Epidemiologia.....	19
1.2.3.	Sintomatologia e lesões	20
1.2.4.	Identificação e diagnóstico	20
1.2.5.	Terapêutica e profilaxia	21
1.2.6.	Potencial zoonótico.....	22
1.3.	Protozoários gastrointestinais.....	23
1.3.1.	Ciclo de vida	23
1.3.2.	Epidemiologia.....	24
1.3.3.	Sintomatologia e lesões	24
1.3.4.	Identificação e diagnóstico	24
1.3.5.	Terapêutica e profilaxia	25
1.3.6.	Potencial zoonótico.....	25
2.	Parasitas cardiopulmonares em canídeos	26
2.1.	Filarioses	26

2.1.1.	Ciclo de vida	26
2.1.2.	Epidemiologia	27
2.1.3.	Sintomatologia e lesões associadas à dirofilariose canina	29
2.1.4.	Identificação e diagnóstico	30
2.1.5.	Terapêutica.....	33
2.1.6.	Profilaxia.....	36
2.1.7.	Potencial zoonótico.....	36
2.2.	Metastrongilídeos	37
2.2.1.	Ciclo de vida	37
2.2.2.	Epidemiologia	38
2.2.3.	Sintomatologia e lesões	39
2.2.4.	Identificação e diagnóstico	40
2.2.5.	Terapêutica e profilaxia	42
2.2.6.	Potencial zoonótico.....	43
IV.	ESTUDO PRÁTICO: PARASIToses GASTROINTESTINAIS E CARDIOPULMONARES EM CÃES. ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO EM CANIS DE PORTUGAL CONTINENTAL.....	44
1.	Objetivos.....	44
2.	Material e métodos	44
2.1.	Caracterização das áreas geográficas e do número de amostras colhidas nos diferentes distritos	44
2.2.	Colheita, transporte e acondicionamento das amostras.....	45
2.3.	Análises Laboratoriais	47
2.3.1.	Pesquisa de parasitas gastrointestinais:.....	47
2.3.2.	Técnicas utilizadas para pesquisa de <i>Dirofilaria immitis</i>	48
2.3.3.	Técnica utilizada para pesquisa de metastrongilídeos	50
2.4.	Análise estatística.....	51
3.	Resultados.....	51
3.1.	Caracterização da população de animais sujeita a colheita de sangue para pesquisa de <i>D. immitis</i>	52
3.2.	Resultados da pesquisa de Parasitas Gastrointestinais	53
3.2.1.	Resultados Globais	53
3.2.2.	Resultados a nível distrital	55
3.2.3.	Resultados por parasita	61
3.3.	Resultados da pesquisa de Parasitas Cardiopulmonares	64
3.3.1.	Resultados da pesquisa de Filarioses Cardiopulmonares a nível global e nos diferentes distritos	64
3.3.2.	Resultados da pesquisa de metastrongilídeos em Portugal.....	66
4.	Discussão	66
4.1.	Parasitas Gastrointestinais.....	66

4.2. Parasitas Cardiopulmonares	73
4.2.1. Filarioses: Prevalência global e distrital	73
4.2.2. Filarioses: Prevalência detetada por grupos (porte, pelagem, sexo e idade). .	76
4.2.3. Metastrongilídeos.....	76
5. Conclusão	78
V. BIBLIOGRAFIA	79
VI. ANEXOS	93

Índice de Figuras:

Figura 1- Cirurgia ortopédica realizada no Hospital Veterinário das Laranjeiras (Original). ..5	5
Figura 2- Realização das técnicas de Baermann, Flutuação e Sedimentação no Laboratório de Doenças Parasitárias FMV-ULisboa (Original). 6	6
Figura 3- Esfregaços sangue e teste rápido Witness®Dirofilaria realizados no processamento das amostras de sangue (Original). 7	7
Figura 4- Representação esquemática do ciclo de vida de Ancilostomatídeos. Adaptado de Centers for Disease, Control and Prevention CDC (2012b). 9	9
Figura 5- Esquerda ovo de ancilostomatídeo; Direita: ovo de ancilostomatídeo com larva em desenvolvimento no seu interior (Original). 14	14
Figura 6- Esquerda: ovo de <i>Toxocara</i> spp.; Direita: ovo de <i>Trichuris vulpis</i> ; Em baixo: Ovo de <i>Toxascaris leonina</i> (Original). 14	14
Figura 7- Esquema representativo do ciclo de vida de céstodes. O exemplo refere-se ao ciclo de vida de <i>Echinococcus</i> spp. Adaptado de CDC (2013c). 19	19
Figura 8- Esquerda: cápsula ovígera de <i>D. caninum</i> . Fonte: CDC (2013b). Direita: Ovo de Taeniidae detetado por técnica de flutuação fecal (Original). 21	21
Figura 9- Fotos de oocistos esporulados e não esporulados de <i>Cystoisospora</i> spp observados pelo método de flutuação fecal (Original). 25	25
Figura 10- Representação do ciclo de vida de <i>D. immitis</i> no cão e gato. Fonte: Alho et al. (2014a). 27	27
Figura 11- Distribuição Geográfica da Dirofilariose canina mundialmente. Azul – <i>D. immitis</i> ; Laranja – <i>D.immitis</i> e <i>D. repens</i> ; Verde – <i>D. repens</i> . Fonte: Simón, Siles-Lucas, Morchón, González-Miguel, Mellado, Carretón & Montoya-Alonso (2012). 28	28
Figura 12- Apresentação dos padrões de coloração típicos das espécies de microfilárias através do método de coloração pela fosfatase ácida. Fonte: Schrey & Trautvetter (1998). ... 31	31
Figura 13- Exames complementares em animais com dirofilariose. Esquerda: radiografia torácica de um cão com cardiomegália e padrão vascular evidente. Fonte: AHS (2014). Direita: ecocardiografia em que se verifica a presença do parasita hiperecogénico no lúmen da artéria pulmonar direita. Fonte: Genchi et al. (2007). 33	33
Figura 14- Fotos de remoção cirúrgica de <i>D. immitis</i> adultos. Fonte: AHS (2014). 36	36
Figura 15- Representação esquemática do ciclo de vida de <i>Angiostrongylus vasorum</i> . Adaptado de Koch & Willesen (2009). 38	38
Figura 16- Distribuição observada (esquerda) e previsão (direita) da distribuição de <i>A. vasorum</i> na Europa, considerando aspetos climáticos. Fonte: Morgan et al. (2009). 39	39
Figura 17- Larva de 1.º estágio de <i>A. vasorum</i> (140x). Fonte: Alho et al. (2013). 41	41
Figura 18- Radiografia torácica de uma raposa com pneumonia verminosa grave causada por <i>A. vasorum</i> . Fonte: Koch & Willesen (2009). 42	42
Figura 19- Distritos de Portugal abrangidos pelo estudo. 44	44
Figura 20- A: caixa isotérmica com placas refrigeradoras no interior para acondicionamento das amostras; Direita: tubos secos e com EDTA para colheita de sangue; Em baixo: Frascos de plástico, utilizados para acondicionar material fecal. 46	46
Figura 21- Técnicas de Flutuação de Willis e Sedimentação realizadas em simultâneo com solução saturada de açúcar. 48	48
Figura 22- Teste rápido de imuno-migração rápida utilizado para deteção de <i>D. immitis</i> . Fonte: Synbiotics Corporation (2014). 48	48
Figura 23- Método indicado no teste Witness®Dirofilaria para leitura dos resultados. Fonte: Synbiotics Corporation (2014). 49	49
Figura 24- Técnica de Baermann para pesquisa de L ₁ de metastrongilídeos. 51	51
Figura 25- Prevalências encontradas de parasitas gastrointestinais nos canis de Portugal incluídos nos estudo. 56	56
Figura 26- Distribuição dos parasitas gastrointestinais pelos diferentes distritos. 61	61

Índice de Tabelas:

Tabela 1- Características que permitem a distinção de ovos de nematodes observados por técnica de flutuação. Adaptado Ballwebber (2001).....	13
Tabela 2- Princípios ativos e doses recomendadas para tratamento de infeções por nemátodes. Adaptado de Bowman (2009).....	15
Tabela 3- Classificação quanto ao risco de ocorrência de complicações secundárias a terapêutica. Adaptado de Alho et al. (2014b).....	29
Tabela 4- Detalhes na diferenciação das microfilárias presentes no sangue periférico do cão. Adaptado de Magnis et al. (2013).	30
Tabela 5- Dados epidemiológicos sobre a dirofilariose humana, especialmente na Europa. Fonte: Simón et al. (2012).	37
Tabela 6: Protocolos recomendados para tratamento da infeção por <i>Angiostrongylus</i>	43
Tabela 7- Distribuição por distrito das amostras de sangue e de fezes.	45
Tabela 8- Caracterização da infeção por parasitas gastrointestinais no distrito da Guarda.....	57
Tabela 9- Caracterização da infeção por parasitas gastrointestinais no distrito de Portalegre.	57
Tabela 10- Caracterização da infeção por parasitas gastrointestinais no distrito de Beja.	58
Tabela 11- Caracterização da infeção por parasitas gastrointestinais nos distritos de Évora, Lisboa e Faro.	59
Tabela 12- Prevalência de nemátodes nos diferentes distritos.	62
Tabela 13- Prevalência de animais infetados com <i>D. immitis</i> , consoante diferentes características: sexo, idade, pêlo e porte.....	66

Índice de Gráficos:

Gráfico 1- Caracterização da idade dos animais sujeitos a colheita de amostras de sangue. ...	52
Gráfico 2- Caracterização do porte dos animais sujeitos a colheita de sangue.	53
Gráfico 3- Prevalência de amostras infetadas com parasitas gastrointestinais, com infecção simples e com infecção com mais que uma forma parasitária.	53
Gráfico 4- Caracterização das coinfeções observadas.	54
Gráfico 5- Proporção da infecção das diferentes classes de parasitas gastrointestinais observadas.	54
Gráfico 6- Prevalência observada de parasitas gastrointestinais no total de canis estudados, detetada pelos métodos de Flutuação de Willis e Sedimentação natural.	55
Gráfico 7- Caracterização da infecção por parasitas gastrointestinais no distrito de Bragança.	59
Gráfico 8- Prevalência de parasitas gastrointestinais observada nos canis dos diferentes distritos.	60
Gráfico 9- Prevalência de Taeniidae nos diferentes distritos.	63
Gráfico 10- Distribuição da prevalência de <i>Cystoisospora</i> pelos diferentes distritos.	63
Gráfico 11- Prevalência de <i>D. immitis</i> nos diferentes distritos e globalmente.	65

Abreviaturas:

(%)	Porcentagem
°C	Graus Celsius
µm	Micrómetro
BID	Duas vezes ao dia
CID	Coagulação intravascular disseminada
cm	Centímetro
CVBD	<i>Canine Vector Borne Diseases</i>
DNA	<i>Desoxirribonucleic Acid</i>
Dpi	Dias após infecção
ECG	Electrocardiograma
EDTA	<i>Ethylenediamine tetraacetic acid</i>
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FMV-ULisboa	Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa.
HVL	Hospital Veterinário das Laranjeiras
IM	Via Intramuscular
L ₁ , L ₂ , L ₃ , L ₄ , L ₅	Larvas de estádios um, dois, três, quatro ou cinco.
LBA	Lavagem Broncoalveolar
LMC	Larva migrante cutânea
LMN	Larva migrante neurológica
LMO	Larva migrante ocular
LMV	Larva migrante visceral
OPG	Ovos por grama de fezes
mg/kg	Miligrama por Kilograma
ml	Mililitro
Mpi	Meses após infecção
PAAF	Punção aspirativa por agulha fina
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
PO Via Oral	Administração por via oral
RPM	Rotações por minuto
SC	Via Subcutânea
SID	Administração uma vez ao dia

I. INTRODUÇÃO

A relação entre os seres humanos e animais, nomeadamente cães e gatos, remonta há cerca de 15000 anos. Tal relação contribui para a dispersão destes animais de estimação e/ou de trabalho mundialmente e, consequentemente de agentes parasitários, muitos dos quais com importante impacto na saúde dos animais, mas também na Saúde Pública devido ao seu potencial zoonótico, como é caso dos helmintes Ancylostomatidae, *Toxocara* spp, Taeniidae, entre outros. Muitos destes agentes estão dependentes de condições higiénicas e sanitárias, mas também de condições climáticas que se têm alterado ao longo nas últimas décadas (Bowman, 2009) (Traversa, 2012).

Tendo em conta estes fatores é importante determinar a situação epidemiológica em Portugal e neste sentido elaborou-se um estudo epidemiológico com amostras fecais e sanguíneas de canídeos alojados em canis com elevada densidade animal. Os canis encontram-se distribuídos de norte a sul de Portugal, englobando no total oito distritos: Bragança, Guarda, Castelo Branco, Portalegre, Lisboa, Évora, Beja e Faro. A pesquisa foi dirigida a parasitas gastrointestinais mais comuns, passíveis de ser detetados por técnicas de Flutuação de Willis e Sedimentação natural, bem como parasitas cardiopulmonares, nomeadamente *Dirofilaria immitis* e *Angiostrongylus vasorum*.

O estudo tem como objetivo dar a conhecer a situação epidemiológica nos canis dos oito distritos abrangidos. Pretende-se contribuir principalmente para a caracterização das formas parasitárias presentes nos canis portugueses pois nestes locais são criados ambientes que propiciam a transmissão de parasitas de ciclo de vida direto, como também a origem dos animais é tão diversa que podem ser considerados um reflexo genérico da carga parasitária na população geral de canídeos domésticos e do risco de infeção. É também fundamental dar a conhecer a prevalência de parasitas que têm impacto em Saúde Pública no sentido de serem consideradas medidas profiláticas nos animais e medidas educativas para a população geral.

Esta dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária é resultado desse mesmo estudo epidemiológico, realizado durante o estágio no Laboratório de Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, bem como no estágio curricular realizado no Hospital Veterinário das Laranjeiras. Ambos os estágios permitiram a obtenção e consolidação de importantes conhecimentos e técnicas, fundamentais na prática clínica como Médica Veterinária.

Inicialmente serão apresentadas as atividades desenvolvidas durante o estágio curricular no Hospital Veterinário das Laranjeiras e no estágio realizado no Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV, ULisboa. Posteriormente à revisão bibliográfica sobre os agentes

parasitários em causa, será apresentado o estudo realizado em Portugal, que compreendeu colheita de amostras sanguíneas e fecais, e processamento das mesmas no Laboratório de Doenças Parasitárias, FMV, ULisboa.

II. ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO ESTÁGIO CURRICULAR

1. Hospital Veterinário das Laranjeiras

1.1. Introdução

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária realizou-se no contexto de clínica de animais de companhia, no Hospital Veterinário das Laranjeiras, sob orientação do Dr. Luís Cruz, tendo início no dia 28 de Julho de 2013 e término no dia 28 de Fevereiro de 2014. O estágio curricular decorreu em regime de turnos rotativos, perfazendo 40 horas semanais.

1.2. Descrição das atividades desenvolvidas

No Hospital Veterinário das Laranjeiras as funções do estagiário são variáveis ao longo do período de estágio e o nível de envolvimento e participação é crescente devido aos conhecimentos gradualmente obtidos. Durante o estágio curricular o envolvimento verificou-se essencialmente em cinco áreas: apoio nas consultas externas, internamento, realização de exames complementares de diagnóstico, apoio na cirurgia e em turnos de urgência.

1.2.1. Apoio nas consultas externas

Nesta área foi possível assistir às consultas, auxiliar no exame físico, na contenção do animal e outros procedimentos, participando ativamente no acompanhamento dos casos clínicos. As consultas mais frequentes foram as de vacinação e consultas de rotina e de acompanhamento de animais com doenças crónicas. As consultas de vacinação, para além da administração do protocolo vacinal, são também uma forma de aconselhar os donos sobre alimentação, educação e maneio em geral do animal. As consultas de acompanhamento são geralmente de animais geriátricos com doenças crónicas. Nestas consultas são abordadas áreas como: oncologia, cardiologia, nefrologia/urologia, dermatologia e nutrição. São consultas de extrema importância pois o acompanhamento e monitorização ou adaptação da terapêutica quando necessário permite avaliar a eficácia do tratamento prescrito.

Sendo o HVL um hospital de referência, há também com frequência consultas de segunda opinião e casos referenciados para realizar exames de diagnóstico e tratamentos específicos bem como internamento e cuidados intensivos. Nestas consultas é possível acompanhar casos clínicos nas seguintes áreas: cardiologia, dermatologia, endocrinologia, estomatologia/odontologia, gastroenterologia, reprodução, neonatologia, nefrologia/urologia, oftalmologia, otorrinolaringologia, doenças infecciosas e parasitárias, doenças ósseas e articulares, pneumologia, neurologia e oncologia.

O acompanhamento de consultas permitiu adquirir e consolidar conhecimentos principalmente a nível da comunicação com os donos e reconhecer sinais clínicos importantes para definir um bom diagnóstico diferencial.

1.2.2. Apoio no internamento e cuidados intensivos

No internamento o estagiário teve a responsabilidade de fazer administrações de medicamentos nos horários previamente definidos pelo médico veterinário responsável, monitorização, bem como alimentação e manutenção da higiene e bem-estar dos animais internados. Os casos observados foram predominantemente animais geriátricos com doenças crónicas em fases críticas, trauma e doenças infecciosas como parvovirose e leptospirose.

O acompanhamento de casos clínicos críticos que envolvem uma vigilância e cuidado permanente permitiu aprofundar conhecimentos e práticas a nível de cuidados intensivos como: monitorização contínua com ECG, medição de pressões, adequar a taxa de fluidoterapia, entre outras. Técnicas como diálise peritoneal, transfusões de sangue e/ou plasma são recorrentes no HVL, sendo possível o seu acompanhamento e prática durante o internamento diversas vezes, bem como e a monitorização contínua destes animais. Por outro lado os casos menos críticos, mas que também envolvem cuidados, como alimentação por tubo esofágico/gástrico, fisioterapia, limpeza e manutenção de pensos, colocação de catéteres, entre outros também permitiram adquirir conhecimentos e técnicas importantes para a vida profissional futura.

1.2.3. Apoio na realização de exames complementares de diagnóstico

No apoio à realização de exames complementares de diagnóstico foi dado auxílio à contenção dos animais ou à colheita de amostras quando necessário, bem como o processamento das mesmas e interpretação de resultados. Durante a realização de exames radiográficos procedeu-se ao posicionamento do animal e, juntamente com o médico veterinário é feita a leitura da radiografia, interpretação dos dados e a discussão de terapêuticas quando estas se justificam. Este exame complementar de diagnóstico é usado muitas vezes na sequência episódios traumáticos como atropelamentos ou quedas e com suspeita de fractura de ossos, pneumotórax, hérnia diafragmática ou outras alterações. Também é muito utilizado no acompanhamento pós-cirúrgico de cirurgias ortopédicas.

Durante as ecografias e ecocardiografias o médico veterinário estagiário participa na contenção do animal, observando e discutindo com o médico veterinário os resultados ao longo do exame.

1.2.4. Apoio na cirurgia, endoscopia e manutenção a anestesia

Nas cirurgias realizadas no HVL cabe médico veterinário estagiário a preparação da sala de cirurgia (tendo em conta o tipo de animal e os utensílios necessários na cirurgia em questão), a preparação pré-cirúrgica do animal, nomeadamente colocação de cateter venoso, análises sanguíneas pré-cirúrgicas, medicação pré-cirúrgica (geralmente analgésico, antibiótico de largo espectro e anti-inflamatório), tricotomia e desinfecção da zona cirúrgica, indução anestésica, entubação e monitorização da anestesia, dos sinais vitais como a frequência cardíaca, frequência respiratória, saturação de oxigénio, capnografia e pressão arterial.

Durante o acompanhamento das cirurgias (Figura 1) foi possível a realização de pequenas suturas. De referir que foi possível executar esterilizações de gatas e castração de gatos pontualmente e sob supervisão.

Figura 1- Cirurgia ortopédica realizada no Hospital Veterinário das Laranjeiras (Original).



1.2.5. Apoio nas urgências

Durante os meses de estágio foi possível atender e acompanhar várias urgências. Em estados críticos é realizada a abordagem “ABC” que define uma metodologia fundamental para a sobrevivência e estabilização do animal. Geralmente as urgências são precedidas por chamadas telefónicas em que rapidamente se questiona o estado do animal, a causa, quando aconteceu e, caso o estado seja crítico, é preparado previamente o material que poderá vir a ser necessário. Estes procedimentos também são adoptados para animais em cuidados intensivos com risco iminente de paragem cardio-respiratória. O acompanhamento e a participação nas urgências permitiu conhecer, para além dos procedimentos acima referidos, os protocolos, tratamentos e decisões tomadas em casos menos críticos. Exemplos de

urgências comuns são: angioedema, tosse do canil, traumas (quedas e atropelamentos), anúria, entre outros.

A diversidade de casos clínicos e técnicas utilizadas pelos profissionais do Hospital Veterinário das Laranjeiras, bem como a disponibilidade e paciência de toda a equipa para ensinar, aconselhar e corrigir, permitiu adquirir e consolidar conhecimentos fundamentais para a prática clínica de pequenos animais.

2. Laboratório de Doenças Parasitárias FMV-ULisboa

As atividades efetuadas no Laboratório de Doenças Parasitárias FMV-ULisboa realizadas no âmbito do presente estudo foram a colheita, processamento e análises das amostras fecais e sanguíneas. A colheita de amostras de fezes e sangue fizeram parte do projeto denominado: Ecoepidemiologia de *Dirofilaria* spp: caracterização molecular, vetores potenciais e dinâmica de transmissão (PTDC/SAU-SAP/113523/2009) financiado pela Fundação para a Ciência e a Tecnologia. A colheita de amostras de fezes e sangue referentes ao distrito de Lisboa, na Casa dos Animais de Lisboa ficaram a cargo do estagiário. Ao longo do estágio no Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV-ULisboa houve também participação num projeto, realizando-se um estudo epidemiológico de parasitas gastrointestinais em canídeos pertencentes a uma força militar Portuguesa.

As análises coprológicas incluíram técnicas qualitativas como Técnica de Flutuação de Willis, Técnica de Sedimentação, Técnica de Baermann e esfregaço fecal (Figura 2).

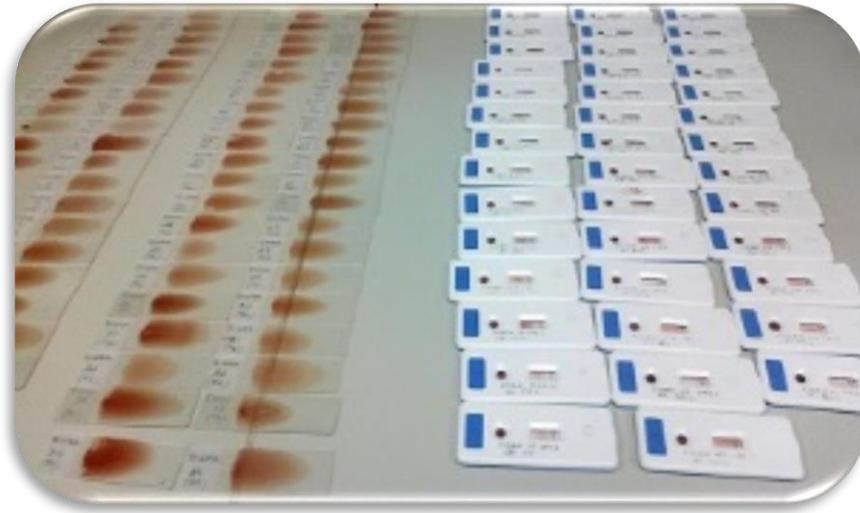
Figura 2- Realização das técnicas de Baermann, Flutuação e Sedimentação no Laboratório de Doenças Parasitárias FMV-ULisboa (Original).



O processamento e análise das amostras de sangue envolveram a realização do teste rápido Witness[®]Dirofilaria para deteção de *Dirofilaria immitis* (Figura 3), esfregaço sanguíneo,

técnica de Knott modificada e separação de soro e plasma e congelação dos mesmos para utilização em estudos futuros.

Figura 3- Esfregaços sangue e teste rápido Witness®Dirofilaria realizados no processamento das amostras de sangue (Original).



Os resultados originais desta dissertação foram apresentados, em comunicação oral, no XVII Congresso da Sociedade Portuguesa de Parasitologia na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, no dia 21 de Novembro de 2014 (Anexo 7).

III. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Parasitas Gastrointestinais em canídeos

1.1. Nemátodes Gastrointestinais

Em Medicina Veterinária os nemátodes constituem um importante grupo de endoparasitas (Bowman, 2009). A classe Nematoda é constituída por diversas superfamílias que são de extrema importância em Medicina Veterinária, tendo em conta, não só a sua prevalência em canídeos domésticos como também o seu impacto em saúde pública.

Tendo em consideração a sua importância em Medicina Veterinária, mais concretamente em canídeos, os parasitas gastrointestinais da classe Nematoda destacados nesta dissertação pertencem às seguintes famílias:

- Ancilostomatidae (*Ancylostoma caninum*, *Ancylostoma braziliense* e *Uncinaria stenocephala*);
- Ascarididae (*Toxocara canis* e *Toxascaris leonina*);
- Trichuridae (*Trichuris vulpis*).

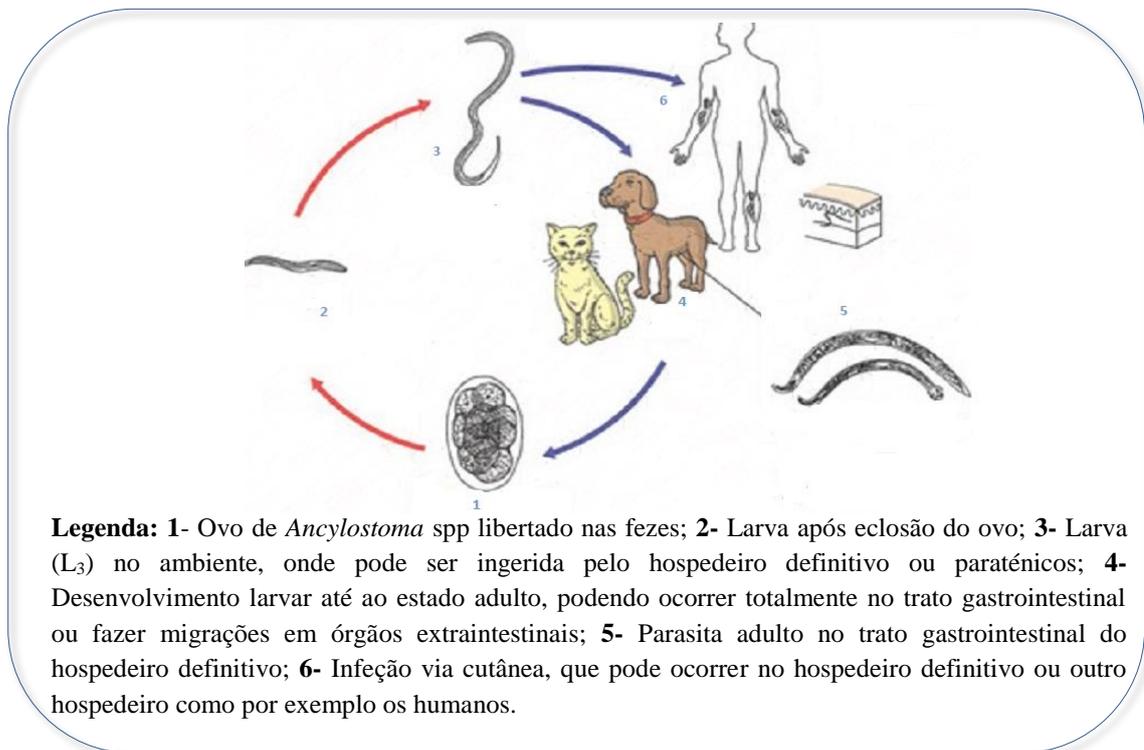
1.1.1. Ciclos de Vida

Nesta classe os sexos são diferenciados e geralmente a fêmea é maior que o macho. Durante o ciclo evolutivo, que pode ser direto ou indireto, existem quatro mudas evoluindo as larvas (L₁, L₂, L₃, L₄ e L₅) até ao estado adulto e durante o qual podem ser realizadas complexas migrações no hospedeiro definitivo ou então todo o processo ocorre no trato gastrointestinal (Urquhart et al. 1996). A ancilostomose é um processo parasitário causado por nemátodes da família Ancylostomatidae, que se localizam no intestino delgado, os quais se caracterizam pela sua hematofagia (Baños, Baños & Morrondo-Pelayo, 1999). O ciclo de vida de *Ancylostoma* spp. é essencialmente direto (Figura 4). O estágio larvar infetante corresponde a L₃ que estão presentes no ambiente ou latentes no músculo de hospedeiros intermediários (p.e. ratos, baratas). A infeção do hospedeiro pode ocorrer por via oral ou cutânea, sendo ambas igualmente nocivas. Quando a entrada do parasita é por via cutânea ocorre a entrada das L₃ na circulação sanguínea até atingir os pulmões onde passa a L₄, migrando pela traqueia e deglutida, indo para o intestino delgado, onde ocorre a muda para L₅ e finalmente amadurece para o estado adulto. Se a entrada é efetuada por via oral pode atingir o intestino delgado de duas formas: na primeira o parasita penetra na mucosa oral atingindo a circulação sanguínea e faz o percurso acima descrito, de outra forma o parasita vai diretamente para o intestino delgado onde ocorrem todas as mudas até ao estado adulto (Urquhart et al. 1996). Outra via de transmissão importante de Ancilostomídeos, especialmente do *A. caninum*, é a migração do

parasita até ao músculo-esquelético das fêmeas, onde as larvas (L₃) ficam latentes até à gestação. Durante a gestação há migração das L₃ para a glândula mamária sendo transmitidas pelo leite aos cachorros duas a três semanas pós-parto, podendo ser responsáveis por anemias graves em ninhadas. Numa fêmea exposta a uma infecção substancial ocorrerá transmissão de larvas de *A. caninum* através do leite nas próximas três lactações, embora a descarga de larvas diminua a cada lactação (Bowman, 2009). Nas espécies *A. tubaeforme* e *A. braziliense* não há evidência da transmissão por via mamária (Shapiro, 2010). No ciclo biológico da espécie *Uncinaria stenocephala* não se verifica a migração a nível pulmonar. O período pré-patente é de 14 a 21 dias e podem ser eliminados cerca um milhão de ovos diariamente, durante várias semanas (Urquhart et al. 1996).

Figura 4- Representação esquemática do ciclo de vida de Ancilostomatídeos.

Adaptado de Centers for Disease, Control and Prevention |CDC| (2012b).



Tal como os ancilostomatídeos, os ascarídeos encontram-se entre os endoparasitas mais frequentes em cães e gatos. *Toxocara canis* apresenta um dos ciclos de vida mais complexos na superfamília Ascaridoidea, com quatro modos possíveis de infeção: direta ou oral, por ingestão de ovos embrionados; transplacentária ou pré-natal; pela ingestão de leite materno e através de hospedeiros paraténicos (Urquhart et al., 1996). O ovo com L₂ é a forma infetante e, em condições ótimas quatro semanas após o ovo ter sido eliminado adquire esta capacidade. Após a ingestão ocorre a eclosão da larva no intestino delgado, que depois faz

migra para os pulmões, fígado e traqueia onde passa a L₃. Após ser deglutida, as duas mudas finais ocorrem no intestino delgado. Este ciclo ocorre principalmente em cachorros com menos de três meses (Urquhart et al., 1996). Em cães adultos, após a eclosão das L₂ no intestino ocorrem migrações em diversos órgãos: fígado, pulmões, cérebro, coração, músculo-esquelético e paredes do trato gastrointestinal (Bowman, 2009). Em caso de gestação há transmissão pré-natal, ocorrendo migração das larvas L₂ para o útero e, três semanas antes do parto, para os pulmões do feto, mudando para L₃ mesmo antes do parto (Urquhart et al., 1996). Depois do nascimento sucede a migração acima referida para o intestino delgado. Outra forma de transmissão é através da excreção de L₃ no leite, neste caso as fêmeas podem reinfectar-se durante o final da gestação ou da lactação, resultando diretamente em infecção por via transmamária dos recém-nascidos lactantes (Bowman, 2009). A infecção por ingestão de hospedeiros paraténicos não conduz a uma migração pelos tecidos extraintestinais como ocorre nos outros ciclos referidos. O período pré-patente varia de 2 a 4 semanas consoante o modo de infecção. Em caso de infecção pré-natal é cerca de 3 semanas, a infecção por ingestão de ovos embrionados tem um período pré-patente de 4 semanas e de 2 semanas caso a infecção ocorra por ingestão de um hospedeiro paraténico (Companion Animal Parasite Council [CAPC], 2012b). No caso da espécie *Toxascaris leonina* a infecção ocorre por ingestão de ovos embrionados ou por ingestão de hospedeiros paraténicos com L₂ nos tecidos. O posterior desenvolvimento ocorre por completo no intestino, não se verificando fases migratórias. Os parasitas adultos aparecem nas fezes aos 28 dias após infecção, mas os ovos apenas aparecem depois de 74 dias (Urquhart et al., 1996).

Os parasitas adultos do género *Trichuris* têm como hospedeiros mamíferos e a espécie com interesse em canídeos é *Trichuris vulpis* (Shapiro, 2010) que tem uma patogenicidade baixa a moderada (Ballwebber, 2001), geralmente os hospedeiros não apresentam sinais clínicos, mas infecções em maciças podem conduzir a diarreias mucóides (Bowman, 2009). Geralmente o parasita adulto localiza-se no cego e cólon (Urquhart et al., 1996). Os ovos quando são eliminados nas fezes têm apenas uma única célula e não são infecciosos. A condição infecciosa ocorre quando ovo está embrionado com L₁ e só há desenvolvimento após a ingestão pelo hospedeiro (Bowman, 2009). Após a ingestão do ovo com L₁ os opérculos do ovo são digeridos e as L₁ livres penetram na mucosa intestinal. As quatro mudas ocorrem no intestino, e o parasita adulto emerge ficando preso à mucosa pela extremidade anterior (Urquhart et al., 1996). Os ovos de *Trichuris vulpis* são muito resistentes, e em condições ideais podem sobreviver no ambiente vários anos, desta forma os animais tendem a ser reinfectados, mesmo após tratamento, quando permanecem em ambiente contaminados (Bowman, 2009). O período pré-patente varia entre 2,5 a 3 meses (Urquhart et al., 1996).

1.1.2. Epidemiologia

Os nemátodes são a classe de parasitas que ocorrem com maior frequência no cão. A distribuição Ancylostomatidae, Ascarididae e Trichuridae é mundial (Urquhart et al., 1996). Limitações na distribuição geográfica verificam-se na espécie *A. braziliense* presente nas regiões tropicais e sub-tropicais, incluindo a América Central e do Sul, as Caraíbas e parte dos Estados Unidos da América, e na espécie *U. stenocephala* que é encontrada em regiões temperadas (Barr & Bowman, 2006).

Diversos estudos a nível mundial indicam que os nemátodes mais frequentes em cães são *Ancylostoma* spp. e *Toxocara* spp. e segundo alguns autores (Nguí, Lim, Traub, Mahmud & Mistam, 2012) são considerados de extrema importância em animais de companhia, não só devido à distribuição geográfica como também em termos de risco para a Saúde Pública (Traversa, 2012). *Ancylostoma* spp. apresenta prevalências elevadas tanto em amostras fecais como amostras de solo (Fontanarrosa, Vezzani, Basabe & Eiras, 2006; Funada, Pena, Soares, Amaku, & Gennari, 2007) tal como se pode verificar no Anexo 1. Em zonas endémicas a ancilostomose é mais comum em animais com menos de um ano de idade, pois segundo Urquhart et al. (1996) via de infeção mais importante é pelo leite em cachorros com algumas semanas de idade e oral em adultos. Um aspeto importante na infeção transmamária é o facto de a mãe poder transmitir parasitas mesmo tratada com anti-helmínticos recentemente e tendo contagem negativa de ovos nas fezes (Urquhart et al., 1996).

Relativamente a *Toxocara canis* a prevalência deste parasita pode atingir os 80%. As prevalências mais altas foram registadas em animais mais jovens, com menos de 6 meses de idade. A distribuição mundial e as elevadas prevalências devem-se principalmente a três fatores: as fêmeas desta espécie são extremamente fecundas, contribuindo com 700 OPG (ovos por grama de fezes) diariamente, podendo encontrar-se contagens de 15 mil ovos por grama de fezes (OPG); os ovos são extremamente resistentes mesmo em climas extremos, podendo resistir anos no solo; por fim as migrações larvares nos órgãos dos hospedeiros proporcionam um reservatório nestes tecidos, onde os anti-helmínticos podem não ter efeito (Urquhart et al., 1996). Outro aspeto importante é a existência de hospedeiros paraténicos, que são importantes na transmissão do parasita devido às relações predador-presa entre estes animais e o hospedeiro definitivo (Bowman, 2009). Em vários estudos a presença de nemátodes da família Ascarididae foi constante e com prevalências consideráveis, como indicado no Anexo 1. Relativamente a *T. vulpis* o aspeto mais importante na sua epidemiologia é a longevidade e resistência dos ovos, que depois de três ou quatro anos ainda podem sobreviver permanecendo como reservatório de infeções (Traversa, 2011). Os ovos em condições ótimas

(28-32°C) são infetantes ao fim de 9 ou 10 dias, especialmente se o ambiente for húmido. Caso a temperatura for inferior podem durar cerca de 2 meses a embrionar (Bowman, 2009).

1.1.3. Sintomatologia e lesões

A apresentação clínica depende de vários fatores, nomeadamente a idade, a condição corporal do animal, a imunidade do hospedeiro e o grau de infeção (Ballwebber, 2001). Dos parasitas referidos, *Ancylostoma* spp. e *Toxocara* spp. são os que podem provocar sintomatologia mais evidente (Traversa, 2012). A sintomatologia provocada por ancilostomose sucede como consequência de anemia hemorrágica aguda ou de anemia crónica. Os cachorros infetados pela via transmamária são particularmente suscetíveis devido às baixas reservas de ferro (Urquhart et al., 1996). Nas infeções agudas o quadro clínico caracteriza-se por sinais de anemia como fraqueza, mucosas pálidas, diarreia com sangue e muco e, ocasionalmente, dispneia e tosse que pode ser devido à migração larvar nos pulmões ou secundária à anemia (Barr & Bowman, 2006). Cada parasita remove cerca de 0,1 ml de sangue por dia, assim em infeções maciças pode ocorrer anemia aguda grave (Urquhart et al., 1996). Nas infeções leves, mais comuns em animais adultos, a anemia não é tão grave, pois a resposta medular é compensatória por um período variável, contudo ao longo do tempo o animal pode desenvolver anemia crónica, hipocrómica e microcítica e ocasionalmente eosinofilia. No caso de infeções crónicas descompensadas o animal apresenta-se com condição corporal diminuída, pelagem em mau estado, tosse, lesões cutâneas como hiperqueratose, acantose. Nas infeções por *Uncinaria stenocephala* a anemia não é tão acentuada. Em animais com infeções maciças foram registadas hipoalbuminémia e anemia leve, acompanhadas de diarreia, anorexia e letargia (Barr & Bowman, 2006).

Nas infeções por *Toxocara* spp. a sintomatologia apresentada deve-se sobretudo às migrações complexas e à acumulação de parasitas adultos ao nível do intestino delgado. A infeção por *T. canis* apresenta sinais de maior gravidade, particularmente em cachorros infetados durante a gestação. Quando a infeção é moderada não há lesão aparente dos tecidos, podendo ocorrer apenas aumento de volume abdominal e diarreia ou obstrução ocasional. Em infeções maciças a fase de migração a nível do pulmão está associada a pneumonia, que pode conduzir a edema pulmonar, neste caso os animais podem apresentar tosse, taquipneia e corrimento nasal espumoso. Os parasitas adultos podem provocar uma reação inflamatória no intestino, como enterite mucóide, podendo haver obstrução parcial ou completa do intestino e em casos raros pode conduzir a perfuração com peritonite associada. Os animais infetados apresentam atrasos no crescimento (Urquhart et al., 1996). Associados à espécie *T. leonina*, os sinais clínicos descritos são alterações digestivas como diarreia (Marks, 2005).

Infeções por *Trichuris vulpis* geralmente não conduzem a sintomatologia clínica, contudo a extremidade anterior dos parasitas adutos presos à mucosa levam à perfuração desta, podendo provocar inflamação aguda ou crónica no cego. O órgão pode surgir espessado, com hemorragias punctiformes e muco. Em infeções graves pode ocorrer diarreia mucoide ou hemorrágica e perda de peso (Urquhart et al., 1996).

1.1.4. Identificação e diagnóstico

Macroscopicamente a identificação de nemátodes é simples devido ao tamanho e forma característica. Os parasitas de Ancylostomatidae são facilmente identificados pelo tamanho (1-2cm) e têm uma postura característica em gancho. Microscopicamente são distinguidos pela cápsula bucal grande com dentes marginais existindo 3 pares em *A. caninum* e dois pares em *A. braziliense*. Os nemátodes do género *Toxocara* são reconhecidos por poderem atingir tamanhos consideráveis, têm coloração branca e podem chegar aos 10 cm de comprimento. A distinção das espécies *T. canis* e *T. leonina* é difícil pois a diferença reside num processo digitiforme encontrado na cauda do macho de *T. canis* (Urquhart et al., 1996). Os adultos de *Trichuris vulpis* têm cerca de 4-6 cm de comprimento, com extremidade posterior espessa afilando-se na extremidade anterior, que fica encravada na mucosa. Comumente os parasitas são designados “vermes em forma de chicote” devido à forma (Urquhart et al., 1996).

A confirmação do diagnóstico é efetuada pela deteção e identificação de ovos nas fezes (tabela 1 e figuras 5 e 6), e pela associação dos sinais clínicos quando estes estão presentes (Marks, 2005). Em animais com infeção crónica por *A. caninum*, numa fase inicial, pode ser detetada uma anemia regenerativa progredindo para anemia não regenerativa e eosinofilia (Barr & Bowman, 2006).

Tabela 1- Características que permitem a distinção de ovos de nematodes observados por técnica de flutuação. Adaptado Ballwebber (2001).

	Forma	Tamanho	Cor	Parede do ovo
<i>A. caninum</i>	Alongados e elípticos	60-40 µm	Cinza/ Castanho-escuro	Fina e linear
<i>A. braziliense</i>		60-40 µm		
<i>U. stenocephala</i>		70-90 µm		
<i>T. canis</i>	Redondos	80-75 µm	Castanho-escuro	Espessa com presença de circunvoluções
<i>T. leonina</i>	Ovoides	80-70 µm		
<i>T. vulpis</i>	Forma de limão	80 µm/40 µm	Amarelos/ dourados	Lisa, espessa e simétrica com opérculo nas extremidades

Os ovos são facilmente identificados através de métodos de flutuação fecal (Bowman, 2009), contudo no caso de não serem observados ovos nas fezes deve-se ter em conta os períodos pré-patentes de cada espécie e se a eliminação dos ovos nas fezes ocorre de forma contínua ou intermitente como no caso de *Trichuris vulpis* (Zajac & Conboy, 2012). No decorrer do período pré-patente e com sintomatologia associada, a resposta favorável ao tratamento com anti-helmínticos pode facultar um diagnóstico presumível (Urquhart et al., 1996).

Figura 5- Esquerda ovo de ancilostomatídeo; Direita: ovo de ancilostomatídeo com larva em desenvolvimento no seu interior (Original).

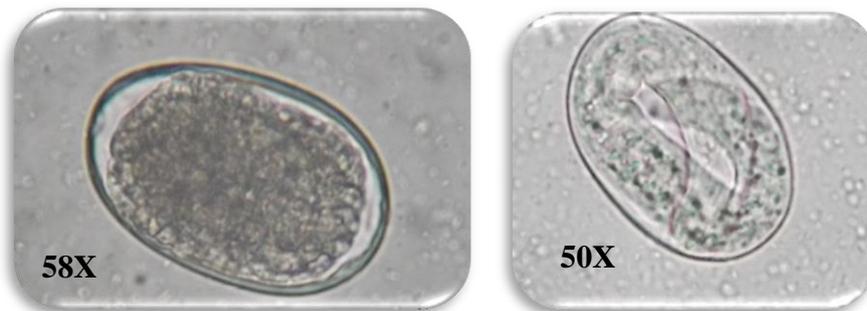
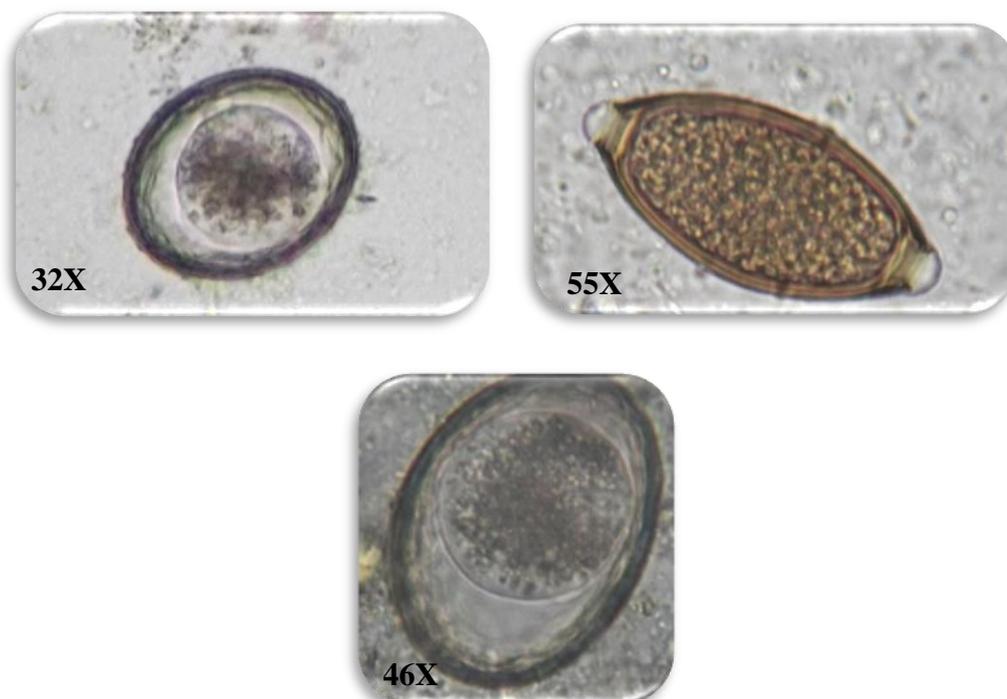


Figura 6- Esquerda: ovo de *Toxocara* spp.; Direita: ovo de *Trichuris vulpis*; Em baixo: Ovo de *Toxascaris leonina* (Original).



1.1.5. Terapêutica e profilaxia

As medidas profiláticas ou terapêuticas devem ser implementadas de acordo com a necessidade, dependendo do grau de contaminação do ambiente, do estado imunitário e apresentação clínica do animal (Bowman, 2009).

A terapêutica em caso de infecção hiperaguda, que geralmente ocorre em cachorros, passa por tratar com anti-helmíntico quinzenalmente até ao desmame e, se necessário, fluidoterapia de suporte e/ou transfusão sanguínea (Shapiro, 2010). Em animais adultos com sintomatologia ou doença secundária pode ser necessário fluidoterapia de suporte e vitaminas para além da terapia com anti-helmíntico. No caso da ancilostomatose a reposição da população de parasitas é constante devido às larvas sequestradas nos tecidos, pelo que a terapêutica terá de ser regular durante meses ou anos (Barr & Bowman, 2006).

O tratamento com anti-helmínticos é fundamental em animais com ou sem manifestações clínicas, principalmente cachorros de mães não tratadas regularmente. Deve ser adotado um sistema de terapia anti-helmíntica e higiene regular (Tabela 2). No caso de prevenção e tratamento de ascaridioses e ancilostomatoses, os cães desmamados e adultos devem ser tratados a cada três meses e as cadelas gestantes tratadas pelo menos uma vez durante a gestação (Barr & Bowman, 2006). Os cachorros devem ser tratados quinzenalmente de forma a eliminar infeções adquiridas por via oral e pré-natal (Ballwebber, 2001). Segundo Bowman (2009) as cadelas podem ser tratadas com Febendazol desde os 40 dias de gestação até aos dois a quinze dias pós-parto. O tratamento das cadelas após os 40 dias de gestação elimina amplamente a infeção pré-natal e transmamária, embora possa persistir uma infeção residual nos tecidos somáticos da cadela.

Tabela 2- Princípios ativos e doses recomendadas para tratamento de infeções por nemátodes. Adaptado de Bowman (2009).

	<i>A. caninum</i>	<i>A. braziliense</i>	<i>U. stenocephala</i>	<i>T. leonina</i>	<i>T. canis</i>	<i>T. vulpis</i>
Ivermectina (0,006 mg/kg) e pirantel (5 mg/kg), PO.	✓	✓	✓	✓	✓	
Milbemicina (0,5 mg/kg), PO.	✓				✓	✓
Moxidectina (2,5 mg/kg) e imidacloprid (10 mg/kg), tópico.	✓		✓	✓	✓	✓
Ivermectina (0,006 mg/kg), Pamoato de Pirantel (5 mg/kg) e Praziquantel (5 mg/kg), PO	✓	✓	✓	✓	✓	
Febendazol (50 mg/kg), PO, SID durante 3 dias	✓		✓	✓	✓	✓
Febantel (25-62 mg/kg), Praziquantel (5-12 mg/kg) e Pamoato de pirantel (5-12 mg/kg), PO	✓		✓	✓	✓	✓
Pamoato de pirantel (5mg/kg), PO	✓		✓	✓	✓	
Pamoato de pirantel (5mg/kg) e Praziquantel (5mg/kg), PO	✓	✓	✓	✓	✓	
Piperazina 55 mg/kg				✓	✓	

Para desinfecção do ambiente pode ser usado borato de sódio (Urquhart et al., 1996) ou hipoclorito de sódio a 1% em caso de vegetação. É importante um bom saneamento de forma a prevenir contaminação por ovos. É necessário remover as fezes e lavar os canis diariamente e desinfetar regularmente os canis e zonas de passeio. Devem ser utilizados pisos de cimento de forma a facilitar a limpeza (Ballwebber, 2001).

1.1.6. Potencial zoonótico

O papel do cão como hospedeiro definitivo de parasitoses com potencial zoonótico tem sido reconhecido como um importante problema de saúde pública (Capuano & Rocha, 2006).

Algumas espécies de *Ancylostoma* apresentam potencial zoonótico como *A. braziliense* e *A. caninum* (Coelho, Amarante, Apolinário, Coelho & Bresciani, 2011). A síndrome da larva migrante cutânea (LMC) é uma reação de hipersensibilidade causada pela migração das larvas de *A. braziliense* no espaço subcutâneo. A espécie *A. caninum* é responsável pela enterite eosinofílica, sendo referido um surto entre 1988 e 1992 na Austrália com cerca de 150 casos e outros casos referidos nos Estados Unidos da América, Egipto, Filipinas, América do Sul e Israel (Nguí et al., 2012). Os ascarídeos também são referidos como tendo um importante impacto em saúde pública, as espécies de *Toxocara* spp. são responsáveis pelo aparecimento das síndromes de larva migrante visceral (LMV), larva migrante ocular (LMO) e larva migrante neurológica (LMN) em humanos (Traversa, 2012). A infeção no homem é caracterizada pelo aparecimento de granulomas com a L₂ no seu interior, localizados geralmente no fígado, rins, pulmões, cérebro e olho (Bowman, 2009). Lesões no fígado e nos pulmões são as mais frequentemente descritas, mas também pode ocorrer meningite eosinofílica, derrame pericárdico e miocardite. A LMO pode provocar lesões irreversíveis como o descolamento de retina ou formação de massas ou cicatrizes sub-retianas com possível perda permanente de visão (Woodhall, Eberhard & Parise, 2014). Tendo em conta o comportamento da larva nos tecidos, os humanos funcionam como os hospedeiros paraténicos e as larvas podem manter-se nos tecidos somáticos durante 10 anos (Bowman, 2009). A infeção ocorre por ingestão das larvas e as crianças são as mais afetadas, mediante contacto com fezes de animais ou com solo contaminado de parques (Woodhall et al., 2014). No estudo de Dubná, Langrová, Jankovská, Vadlejch, Pekár, Nápravník & Fechtner (2007) foram encontradas taxas de contaminação de 45% em quintais, 20,4% em parques públicos, 10% em abrigos e 5% em amostras de áreas rurais. Em Lisboa, Portugal, foi observada uma prevalência de 63.2% de *Toxocara* spp. em amostras de solo de jardins públicos (Anexo 1) (Otero, Nijse, Gomes, Alho, Overgaauw, Hoek & Madeira de Carvalho, 2014). Estudos recentes, realizados principalmente em crianças e recorrendo a testes sorológicos, sugerem

que as prevalências em países industrializados variam entre 0,7% na Nova Zelândia a 15% na Polónia, contrastando com países em desenvolvimento e países tropicais em que foram descritas soroprevalências de 30% na Nigéria, 45% na Suazilândia, 93% em La Reunion (África), 81% no Nepal, 63,2% na Indonésia, entre outros (Macpherson, 2013). Relatos de casos de parasitas adultos no intestino de humanos são raros e admite-se que tenham sido ingeridos parasitas já em fase adulta e que não haja desenvolvimento larvar no organismo humano (Gawor, Borecka, Zarnowska, Marczyńska & Dobosz, 2008). Relativamente a *T. vulpis* em humanos têm sido descritos casos pontuais e de facto ainda são necessários dados para definir se *T. vulpis* tem ou não potencial zoonótico (Traversa, 2011).

As recomendações para prevenção das síndromes acima referidas passam por tratar e prevenir estas parasitoses em cães e gatos, realização de programas educacionais para os donos e público em geral, especialmente crianças e pais, e aconselhar a recolha e limpeza das fezes de animais de espaços públicos e em canis (Ballwebber, 2001).

1.2. Céstodes gastrointestinais

A Classe Cestoda difere das outras classes pelo seu corpo achatado sem canal digestivo e corpo segmentado. Os céstodes com maior importância em Medicina Veterinária pertencem à ordem Cyclophyllidea, da qual fazem parte as famílias Taeniidae e Dipylidiidae as quais tendo em conta a sua importância, são abordadas com mais detalhe.

1.2.1. Ciclos de vida

O ciclo de vida é indireto, envolvendo hospedeiros intermediários variados, e o parasita adulto encontra-se no intestino delgado do hospedeiro definitivo (Figura 7) (Bowman, 2009).

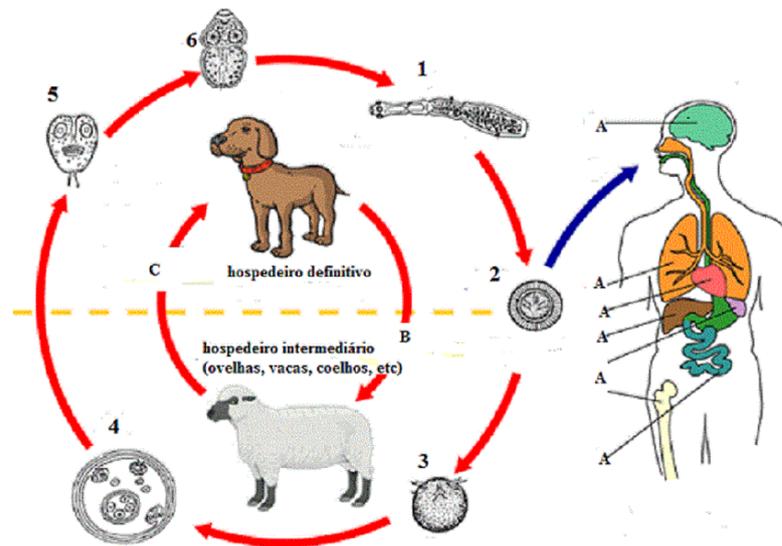
Os proglotes maduros ou grávidos são eliminados nas fezes, geralmente intactos e são libertados por desintegração do segmento ou através do poro genital. No caso de *Taenia* spp. os ovos são constituídos pela oncosfera ou embrião hexacanto (6 ganchos) e pelo embrióforo que corresponde à casca espessa, escura e com estrias radiais. Os hospedeiros intermediários infetam-se pela ingestão de ovos presentes no ambiente. Após a ingestão, as secreções gástricas e intestinais digerem o embrióforo e ativam a oncosfera que, através dos ganchos, consegue atingir a circulação sanguínea e migra para diferentes locais consoante o hospedeiro intermediário. Quando a oncosfera chega ao local de eleição perde os ganchos e desenvolve-se para os estados larvares de cisticerco no caso de *T. pisiformis* e *T. hydatigena* e para o estado larvar de cenuro no caso de *T. multiceps* e *T. serialis* (Urquhart et al., 1996). Os hospedeiros intermediários de *Taenia* spp. são geralmente animais sujeitos à predação pelo hospedeiro definitivo ou coabitação do hospedeiro definitivo e intermediário (Bowman, 2009).

Desta forma os cães adquirem infecção pela ingestão de cisticercos presentes no peritoneu de coelhos (*T. pisiformis*), no peritoneu de ruminantes domésticos e selvagens, cavalos e porcos (*T. hydatigena*) ou na musculatura das ovelhas (*T. ovis*). A ingestão de cenuros também é um meio de infecção através da ingestão do cérebro ou medula espinal das ovelhas (*T. multiceps*) ou tecido muscular ou subcutâneo dos coelhos e roedores (*T. serialis*) (Conboy, 2009).

Os carnívoros adquirem a infecção de *Echinococcus* spp. pela ingestão de metacéstodes (hidátides) presentes nos tecidos de hospedeiros intermediários. Os hospedeiros intermediários infetam-se pela ingestão de ovos eliminados nas fezes de hospedeiros definitivos (Zajac & Conboy, 2012). A larva de *E. granulosus* é uma hidátide unilocular presente em diversos hospedeiros intermediários como ovelhas, suínos, bovinos, ratos, entre outros, incluindo humanos (Bowman, 2009). Os segmentos grávidos contêm cerca de 600 ovos e a sua eliminação nas fezes é irregular durante 5 a 29 meses (Conboy, 2009). No fígado e pulmões o quisto hidático pode chegar aos 20 cm, mas noutros locais, como na cavidade abdominal, pode atingir dimensões maiores e conter litros de líquido (Urquhart et al., 1996), mas a hidátide unilocular não tem capacidade infiltrativa nos tecidos adjacentes (Bowman, 2009). No caso de *E. granulosus*, o período pré patente no hospedeiro definitivo é de aproximadamente 40-50 dias após o qual, um segmento grávido é eliminado por semana, de forma irregular. As oncosferas têm uma sobrevivência considerável fora do hospedeiro, sendo viáveis cerca de dois anos (Urquhart et al., 1996). No *E. multilocularis* os segmentos contêm cerca de 300 ovos e são eliminados irregularmente nas fezes durante 1-4 meses. O estado larvar corresponde a um quisto hidático multilocular caracterizado por ser proliferativo e infiltrativo nos tecidos adjacentes do hospedeiro intermediário (Bowman, 2009).

Os hospedeiros intermediários de *Dipylidium caninum* são pulgas (*Ctenocephalides canis*, *Ctenocephalides felis* e *Pulex irritans*) e piolhos (*Trichodectes canis*). Os segmentos ativos com ovos são eliminados nas fezes, podendo movimentar-se na região perianal. As oncosferas estão englobadas em cápsulas, cada uma contendo cerca de 20 ovos e são expelidos pelo segmento ativo ou libertados pela sua desintegração. O hospedeiro intermediário infeta-se pela ingestão das oncosferas. Os piolhos têm peças bucais adaptadas à mastigação e podem infetar-se durante todo o seu ciclo, ao contrário das pulgas adultas, pois só as larvas de pulga apresentam este tipo de peças bucais, pelo que apenas estes estádios larvares podem ser infetados. Na cavidade abdominal do hospedeiro intermediário desenvolve-se uma larva cistecercóide num curto espaço de tempo (Urquhart et al., 1996). A infecção no hospedeiro definitivo ocorre pela ingestão do hospedeiro intermediário com a larva cistecercóide no seu interior. Depois de ingerido, *D. caninum* demora cerca de 2 a 3 semanas a completar o seu desenvolvimento (Bowman, 2009).

Figura 7- Esquema representativo do ciclo de vida de céstodes. O exemplo refere-se ao ciclo de vida de *Echinococcus* spp. Adaptado de CDC (2013c).



Legenda:1- Proglotes com ovos embrionados no interior; 2- Ovos embrionados nas fezes; 3- oncosfera penetra na parede intestinal; 4- quisto hidático; 5- protoescoléx 6- escoléx fixa-se no intestino; A- locais onde os quisto se podem alojar no organismo humano; B- ingestão de ovos no ambiente; C- ingestão de quistos na carne e vísceras.

1.2.2. Epidemiologia

Os parasitas da ordem Cyclophyllidea têm distribuição mundial, à exceção de *Echinococcus* em que a distribuição difere consoante a espécie: a distribuição de *E. granulosus* é mundial, sendo endémico na América do Norte e do Sul, África, Medio Oriente, Austrália, Nova Zelândia, Europa do Norte e Bacia Mediterrânica. O *E. multilocularis* tem ampla distribuição no hemisfério norte, essencialmente na Europa do Norte, Central e zona Mediterrânea, Alasca e Canadá (Bowman, 2009).

A manutenção do ciclo de *Taenia* spp. depende fundamentalmente da relação dos hospedeiros definitivos e intermediários. Tendo em conta a localização prática dos hospedeiros intermediários (ovinos, bovinos, suínos, coelhos e ratos) é comum que prevalências mais elevadas sejam em zonas rurais (Martínez-Moreno, Hernández, López-Cobos, Becerra, Acosta & Martínez-Moreno, 2007). Epidemiologicamente são considerados dois ciclos para *Echinococcus* spp., o doméstico e o silvestre. No ciclo doméstico, mais associado ao *E. granulosus*, o cão está geralmente envolvido, infetando-se com vísceras de ruminantes. O hospedeiro intermediário doméstico varia com o tipo de exploração local, mas o mais importante a considerar são os ovinos, sendo os escólices destes animais mais infetantes para cães. O ciclo silvestre é o mais importante na distribuição de *E. multilocularis* envolvendo como hospedeiros definitivos a raposa (*Vulpes* spp.) e o lobo (*Canis lupus*) e como

hospedeiros intermediários as suas presas, como roedores e insectívoros silvestres (Urquhart et al., 1996). A prevalência de *E. granulosus* em cães oscila entre os 18 - 60% no Sul da América, 2 - 63% em África e entre 2 - 70% na Europa, com uma média de 2,5% em Espanha, pelo que apresenta grandes variações consoante as regiões em causa. Na Europa Central estima-se que a contaminação ambiental com ovos de *E. multilocularis* varie entre 4% e 19% (Hegglin & Deplazes, 2013). Em Portugal foram detetadas prevalências de 1,1% e 2,8% nas regiões centro e norte respetivamente. Na região norte foi investigada a prevalência de parasitas da família Taeniidae no ciclo silvestre, concretamente no lobo ibérico (*Canis lupus signatus*) e na raposa vermelha (*Vulpes vulpes*), sendo apenas detetada a presença no lobo ibérico segundo Silva (2010). Também no estudo de Guerra et al. (2013) detetou-se a presença de Taeniidae, no qual foi feita a identificação das várias espécies (Anexo 2). A presença de *D. caninum* é comum e depende sobretudo da distribuição dos seus hospedeiros intermediários, que são igualmente comuns. Vários estudos demonstram prevalências entre 1% e os 40% (Urquhart et al., 1996).

1.2.3. Sintomatologia e lesões

O parasita adulto não apresenta patogenicidade para o hospedeiro definitivo e pode haver tolerância de centenas de adultos, sem que o animal apresente qualquer tipo de sintomatologia (Urquhart et al., 1996). Contudo, no caso de *Taenia* spp. a passagem dos segmentos, com as fezes, pelo recto pode causar irritação e prurido anal (Zajac & Conboy, 2012) tal como a passagem dos segmentos de *D. caninum* que se movimentam ativamente na zona perianal e podem causar algum desconforto e levar os animais a apresentarem prurido anal (Urquhart et al., 1996). No caso de *Taeniidae* os sinais clínicos mais graves ocorrem no hospedeiro intermediário, dependendo do tipo larvar e da sua localização porém, a infeção no hospedeiro intermediário pode ser bem tolerada, sendo muitas vezes detetada apenas no matadouro (Shapiro, 2010).

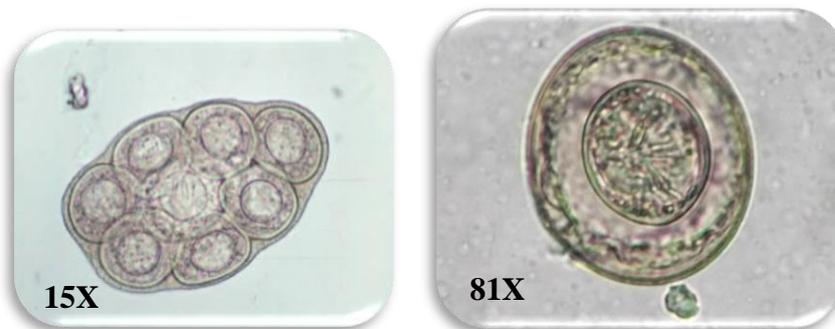
1.2.4. Identificação e diagnóstico

Um dos sinais comuns referidos é a presença de proglotes na região perianal, o que causa algum prurido ao animal e desconforto visual aos donos (Bowman, 2009).

O diagnóstico é realizado através da deteção de ovos ou proglotes nas fezes ou proglotes na região perianal (Figura 8) (Shapiro, 2010). Os ovos são detetados por técnicas de flutuação, contudo no caso de *D. caninum*, esta técnica tem sensibilidade baixa pois os ovos estão frequentemente ausentes nas fezes se o proglote ficar intacto (Zajac & Conboy, 2012). A observação de ovos de Taeniidae não permite a identificação ao nível da espécie (Allan &

Craig, 2006). Os ovos de Taeniidae medem 25-40µm de diâmetro, têm coloração castanha e apresentam uma casca grossa com estrias radiais. São morfologicamente idênticos entre espécies (Zajac & Conboy, 2012).

Figura 8- Esquerda: cápsula ovígera de *D. caninum*. Fonte: CDC (2013b). Direita: Ovo de Taeniidae detetado por técnica de flutuação fecal (Original).



Geralmente, para diagnóstico de *D. caninum*, recorre-se à identificação de cápsulas ovígeras, com cerca de 20 ou 30 embriões, recuperadas a partir dos segmentos eliminados (Shapiro, 2010). As cápsulas ovígeras e ovos medem 120-200µm e 35-60 µm respetivamente (Zajac & Conboy, 2012). Os proglotes são facilmente identificados, brancos e alongados, com dois conjuntos de órgãos genitais, abrindo-se um em cada bordo lateral (Urquhart et al., 1996).

1.2.5. Terapêutica e profilaxia

O tratamento de *Taenia* spp. e *Echinococcus* spp. pode ser realizado eficazmente com recurso a anti-helmínticos (CAPC, 2013). Segundo (Guo, Li, Peng, Duo, Shen, Fu, Irie, Gan, Kirino, Nasu, Horii & Nonaka, 2014) a administração de praziquantel na dose de 5-10mg/kg a 90 cães de espaços rurais, com intervalos de 45 dias, reduziu a prevalência de 34,4% para 9,6% de ovos de Taeniidae. Apenas o praziquantel (5 mg/kg) é efetivo no tratamento de *Echinococcus* spp. Outra opção é o epsiprantel (5,5 mg/kg) para eliminar infeções de *T. pisiformis* e *T. taeniaeformis* ou febendazol (50 mg/kg, durante 3 dias consecutivos) para tratamento de *T. pisiformis* (CAPC, 2013). Tendo em conta o ciclo de vida do parasita, é fundamental o controlo dos hábitos alimentares do animal (Urquhart et al., 1996).

O tratamento de *Dipylidium caninum* deve ser sempre acompanhado de um programa de controlo de ectoparasitas (Shapiro, 2010). A terapêutica pode ser realizada com recurso a antelmínticos com largo espectro de atividade como o praziquantel ou o epsiprantel que elimina formas adultas e imaturas de *D. caninum*. Para o controlo de pulgas e piolhos estão diversos ectoparasiticidas disponíveis no mercado. Atualmente, o uso de coleiras impregnadas com imidaclopride e flumetrina são de uso comum, que têm eficácia contra pulgas superior a

99,9% e para prevenção de *D. caninum* de 96,6%. Outras opções são soluções de aplicação punctiforme à base de permetrinas e imidaclopride (Bowman, 2009) (Fourie, Crafford, Horak & Stanneck, 2013). Recentemente foram comercializados ectoparasiticidas orais com fluralaner (BRAVECTO®) com eficácia contra pulgas até 120 dias, nitenpiram (CAPSTAR®), lufenurom (PROGRAM®), afoxolaner (NEXTGARD®) (Apifarma, 2015).

1.2.6. Potencial zoonótico

Existem duas espécies de *Taenia*, concretamente *T. saginata* e *T. solium*, que têm os humanos como hospedeiros definitivos e completam o seu ciclo com os bovinos e os suínos, respetivamente. Outras espécies, como *T. multiceps* e *T. serialis*, podem causar infeção em humanos pela ingestão acidental de ovos. Apesar da rara ocorrência, podem causar cenurose, geralmente com no sistema nervoso central (Urquhart et al., 1996). Novos métodos de prevenção e diagnóstico estão a ser desenvolvidos, como uma vacina para os suínos, em alternativa aos tratamentos com oxafendazol. Outras vacinas recombinantes têm sido desenvolvidas principalmente para *Taenia ovis*, *Taenia saginata* e *Echinococcus granulosus* (Lightowers, Colebrook, Gauci, Gauci, Kyngdon, Monkhouse, Vallejo Rodriguez, Read, Rolfe & Sato, 2003) (Montresor & Palmer, 2006).

Em relação à equinococose humana considera-se que o ciclo doméstico é a principal fonte de hidatidose humana, porém a proximidade de animais silvestres que conduzam à contaminação do ambiente ou prática de atividades como caça podem levar à infeção do homem através do ciclo silvestre (Urquhart et al., 1996). *E. granulosus* é constituído por um complexo de 10 estirpes e a especificidade dos hospedeiros para estas estirpes têm implicações importantes para a transmissão e controlo do agente. *E. granulosus* em humanos desenvolve-se principalmente no fígado (70%), e nos pulmões (20%) e 10% dos quistos hidáticos podem ocorrer no cérebro, músculo-esquelético e cardíaco, rins, olho e medula óssea. Em relação a *E. multilocularis* o seu desenvolvimento ocorre quase exclusivamente no fígado (98-100%), mas numa fase posterior pode ocorrer disseminação de metástases noutros órgãos. Na Europa a equinococose humana é rara, ocorrendo esporadicamente casos em regiões mediterrânicas. Estes casos coincidem com a distribuição da estirpe associada aos ovinos (G₁), o que supõe que esta estirpe seja a principal causa de equinococose humana. Fatores importantes na manutenção de casos de equinococose humana são o aumento da população de reservatórios, como os animais silváticos, que perpetuam a transmissão e são fonte de transmissão aos animais domésticos. Diversos programas estratégicos de controlo da equinococose humana estão estabelecidos em alguns países, no entanto o parasita apresenta ainda uma ampla distribuição

e, em alguns países é um problema re-emergente (Eckert, Conraths, & Tackmann, 2000) (Jenkins, Romig, & Thompson, 2005).

Dipylidium caninum afeta principalmente cães e gatos domésticos, mas ocasionalmente pode infectar humanos pela ingestão de hospedeiros intermediários com oncosferas (Zajac & Conboy, 2012). Casos em humanos foram referidos na Europa, Filipinas, China, Japão, América Latina e Estados Unidos da América (Cabello, Ruiz, Feregrino, Romero, Feregrino & Zavala, 2011), na maioria crianças (Neira, Leonor & Muñoz, 2008). A infecção em humanos é geralmente assintomática, sendo apenas aparente quando são observados proglotes nas fezes. Manifestações clínicas observadas podem ser alterações de apetite, diarreia ocasional, dor abdominal e obstipação. Tendo em conta que os humanos não são o hospedeiro definitivo, a quantidade de parasitas adultos é geralmente baixa, não ocorrendo multiplicação acentuada, com acontece no cão e no gato (Cabello et al., 2011).

1.3. Protozoários gastrointestinais

As Coccídias são parasitas intracelulares que ocorrem principalmente em vertebrados. Os géneros pertencentes a este grupo têm grande importância em Medicina Veterinária e impacto económico significativo no que diz respeito a animais de produção. Em relação aos cães domésticos os géneros com maior interesse são *Cystoisospora*, *Crytosporidium*, *Sarcocystis*, *Neospora* e *Giardia* (Urquhart et al., 1996). Tendo em conta a orientação prática desta dissertação, apenas *Cystoisospora* será referida com detalhe.

1.3.1. Ciclo de vida

Este género era usualmente designado por “*Isoospora*”, porém recentemente surgiu uma revisão taxonómica da nomenclatura e atualmente designa-se por *Cystoisospora*. As espécies com maior importância no cão são *Cystoisospora canis*, *Cystoisospora ohioensis*, *Cystoisospora neorivolta* e *Cystoisospora burrowsi* (Bowman, 2009) (CDC, 2013).

O ciclo de vida abrange fases reprodutivas assexuadas e sexuadas. A infecção do hospedeiro definitivo ocorre por ingestão de oocistos esporulados que podem ser encontrados no ambiente e em hospedeiros paraténicos. Estes oocistos esporulados contêm dois esporocistos e cada um destes contém quatro esporozoítos. Após a penetração nos enterócitos, ao nível das vilosidades intestinais, ocorre a reprodução assexuada, durante a qual são produzidas três gerações assexuadas. A reprodução sexuada, com a produção de macrogâmetas e microgâmetas, observa-se ao fim de seis a sete dias. O período pré-patente é de 7 a 11 dias. Após a excreção nas fezes a esporulação pode ocorrer entre as oito e as quarenta horas consoante a temperatura, humidade e ventilação (Urquhart et al., 1996) (Bowman, 2009).

1.3.2. Epidemiologia

A infecção por *Cystoisospora* spp. é auto-limitante e números reduzidos de oocistos poderão ser excretados nas fezes durante várias semanas ou meses, mantendo-se a infecção inaparente. Contudo, se o animal estiver perante uma exposição contínua de oocistos infecciosos, existe o risco de se desenvolver doença. Caso o animal seja infetado por outras espécies de coccídias, o mesmo padrão referido acontece, pois a imunidade das infeções por coccídias é altamente específica (Bowman, 2009).

As infeções por *Cystoisospora* spp. são bastante comuns, particularmente em animais jovens e a sua distribuição é mundial (Foreyt, 2001) (Bowman, 2009) (Lappin, 2010). Estudos publicados indicam que infeções por coccídia estão presentes em 3-38% dos cães e 36% dos gatos na América do Norte (CDC, 2013). Na Alemanha a prevalência encontrada foi de *Cystoisospora* spp. foi de 23,4% em cães com menos de três meses de idade e de 11,8% em cães entre os três e os seis meses, sendo mais prevalente em animais mais jovens (Barutzki & Schaper, 2011). Em Portugal, no distrito de Lisboa, o género *Cystoisospora* spp. apresentou uma prevalência de 12.1% em cães (*Canis familiaris*) (Lebre, 2011). Na região Norte de Portugal observou-se a prevalência de 3.7% em lobos (*C. lupus*), 1.2% em raposas vermelhas (*V. vulpes*) e 7.7% em cães domésticos (*C. familiaris*) (Silva, 2010).

1.3.3. Sintomatologia e lesões

Geralmente as infeções por *Cystoisospora* spp. com sintomatologia associada ocorrem em animais jovens, geralmente associadas a situações *stress*, deficiências sanitárias, doenças concomitantes ou subnutrição. Os animais clinicamente afetados podem apresentar vômito, desconforto abdominal, inapetência e diarreia aquosa. Dependendo da idade do animal, do estado imunitário e da carga parasitária, pode ocorrer desidratação grave e morte (Bowman, 2009) (Lappin, 2010).

1.3.4. Identificação e diagnóstico

O diagnóstico definitivo de coccidiose é feito pela observação de oocistos nas fezes e são facilmente observados e identificados através de técnicas de flutuação fecal (Figura 9). A distinção entre espécies é difícil e devem considerar-se diferentes dimensões dos oocistos, nomeadamente *Cystoisospora canis* 30x38µm, *Cystoisospora neorivolta* 11x13µm e *Cystoisospora ohioensis* 19x23µm (Lappin, 2010).

Figura 9- Fotos de oocistos esporulados e não esporulados de *Cystoisospora* spp observados pelo método de flutuação fecal (Original).



1.3.5. Terapêutica e profilaxia

Geralmente a coccidiose é autolimitante no entanto, para uma resolução mais rápida dos sinais clínicos e diminuição da contaminação ambiental, pode ser instituída uma terapêutica. Para o tratamento podem ser utilizados vários protocolos: sulfadimetoxina na dose de 50-60 mg/kg diariamente durante 5 a 20 dias (Lappin, 2010) ou na dose de 55mg/kg no primeiro dia e nos próximos 4 dias 27,5mg/kg ou até ao fim dos sinais clínicos (Bowman, 2009); amprolio-sulfadimetoxina na dose de 150 mg amprolium e 25 mg/kg sulfadimetoxina, via oral, SID, durante 14 dias; furazolidona na dose de 8 a 20 mg/kg, via oral, BID ou SID, durante 5 dias (Lappin, 2010). Recentemente, os derivados de triazínicos têm sido usados para o tratamento da coccidiose em cães como o toltrazuril na dose de 10-30 mg/kg durante 1 a 3 dias em cães e ponazuril na dose de 20 mg/kg, via oral, BID, durante 1 a 3 dias (Bowman, 2009). Associações medicamentosas de largo espectro também têm eficácia comprovada contra coccídias como emodepside e toltrazuril, aprovada para cachorros e cães adultos com suspeita de infecções mistas (Petry, Kruedewagen, Kampkoetter Krieger, 2011). Os oocistos são muito resistentes no ambiente e também aos desinfetantes comuns, portanto é necessário a higienização diária dos canis. Por outro lado, pode ser fundamental tratar cadelas antes do parto de forma a diminuir a contaminação dos jovens (Lappin, 2010).

1.3.6. Potencial zoonótico

Considera-se que as espécies de *Cystoisospora* presentes no cão não apresentam risco para os humanos, contudo quando um animal se apresenta com diarreia o diagnóstico deve sempre descartar outros parasitas com possível potencial zoonótico como *Toxocara* ou *Ancylostoma*. (Lappin, 2010).

2. Parasitas cardiopulmonares em canídeos

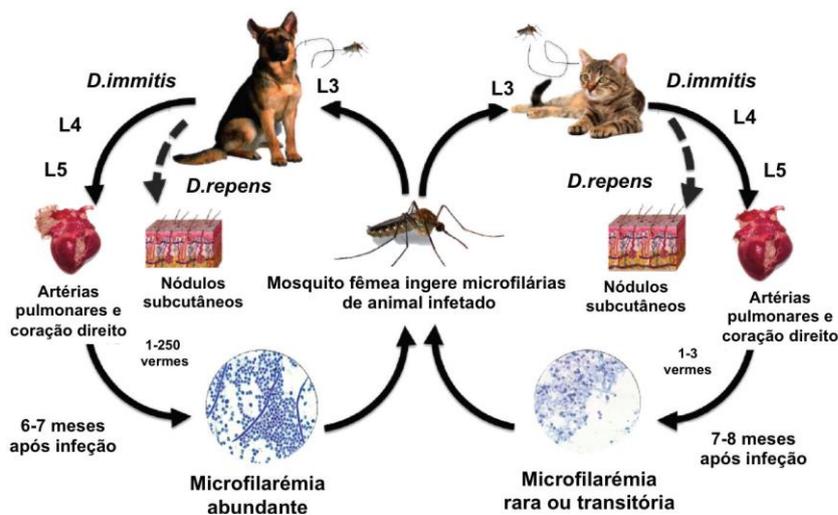
2.1. Filariose

Na Europa as espécies de filarídeos mais comuns de canídeos são *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria (Nochtiella) repens*, *Acanthocheilonema* (syn. *Dipetalonema*) *reconditum* e *Acanthocheilonema dracunculoides* (Magnis, Lorentz, Guardone, Grimm, Magi, Naucke & Deplazes 2013). Das espécies referidas, *Dirofilaria immitis* detém maior importância pois é a responsável pela conhecida dirofilariose cardio-pulmonar canina (*Canine Heartworm Disease*), uma doença potencialmente fatal (Canine Vector-Borne Disease [CVBD], 2014). A *Dirofilaria repens* é responsável pela dirofilariose subcutânea, pois é no espaço subcutâneo que os adultos se encontram (CVBD, 2014b). As espécies de *Acanthocheilonema* apresentam baixa patogenicidade, podendo causar algumas ulcerações cutâneas e abscessos subcutâneos ocasionalmente (Urquhart et al., 1996).

2.1.1. Ciclo de vida

O ciclo de vida da *Dirofilaria immitis* é indireto. Os hospedeiros intermediários são mosquitos da família *Culicidae*, cerca de 70 espécies dos gêneros *Aedes*, *Anopheles* e *Culex* (CDC, 2012). Os parasitas adultos podem atingir grandes dimensões (macho: 12-20cm e fêmeas 25-31cm) e encontram-se nas artérias pulmonares ou, em caso de infecção maciça, no ventrículo direito, átrio direito e veia cava. As fêmeas de mosquito infetam-se ao realizarem hematofagia num canídeo infetado. Nas 24 horas seguintes, as microfilárias ingeridas alcançam os túbulos de Malpighi onde sofrem uma muda para a forma larvar L₂ em 8-10 dias pós-infecção (dpi) e de L₂ para L₃ nos 3 dias seguintes. Posteriormente, as larvas infetantes (L₃) migram para o aparelho bucal do vetor, onde permanecem até à próxima refeição de sangue (Alho, Belo, Meireles, Madeira de Carvalho, 2014a). Após a transmissão ao hospedeiro definitivo, as mudas até estado de adulto imaturo ocorrem em espaços somáticos (subcutâneo e serosas), depois ocorre migração através da circulação periférica até às artérias pulmonares onde decorre a maturação até ao estado adulto. Os adultos podem permanecer no organismo cerca de 5 anos nos cães e 2 anos nos gatos (Figura 10) (Schrey & Trautvetter, 1998).

Figura 10- Representação do ciclo de vida de *D. immitis* no cão e gato. Fonte: Alho et al. (2014a).



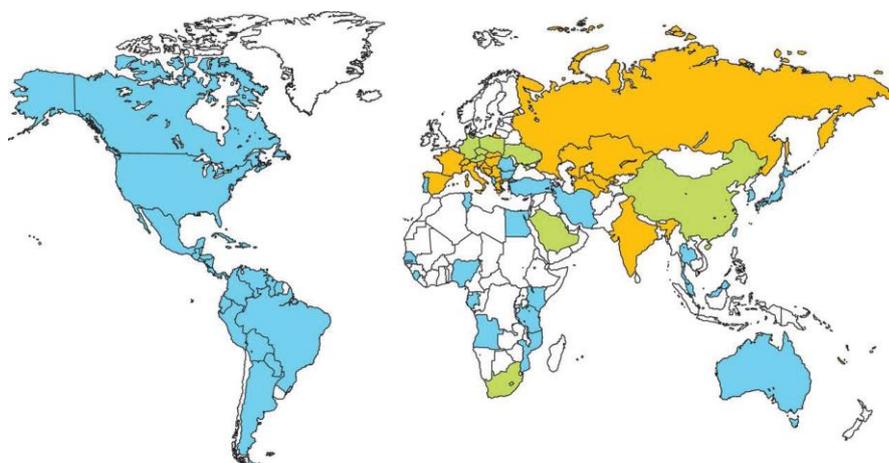
O ciclo de vida de *Dirofilaria repens* é semelhante, mas os adultos permanecem no tecido subcutâneo onde podem permanecer cerca de 5 a 10 anos, provocando lesões eritematosas, nódulos subcutâneos, pústulas, alopecia e por vezes ulceração (Tarello, 2002). *Acanthocheilonema reconditum* e *Acanthocheilonema dracunculoides* também apresentam um ciclo de vida indireto, com recurso a hospedeiros intermediários como pulgas e carraças para completar o seu ciclo de vida (Urquhart et al., 1996).

2.1.2. Epidemiologia

Relativamente à disseminação e manutenção da endemicidade da dirofilariose, devem considerar-se alguns pontos fundamentais: alterações climáticas e alterações ecológicas artificiais, globalização, emergência de novas espécies de mosquitos vetores, aparecimento de resistência aos inseticidas e hospedeiros silvestres, nos quais se tem vindo a observar o aumento do tempo de vida devido a ações profiláticas contra outras doenças mortais (p.e. raiva) (Genchi, Rinaldi, Mortarino, Genchi & Cringoli, 2009) (Alho et al., 2014a). Fatores inerentes ao vetor são a ubiquidade, a capacidade de rápido aumento populacional e o curto tempo do desenvolvimento das microfilárias neste (Urquhart et al., 1996). Em Portugal foram identificadas 41 espécies de mosquitos como *A. atroparvus*, *C. pipiens*, *C. theileri* e *A. (Ochlerotatus) caspius*, distribuídos por 18 distritos de Portugal (Vieira, Vieira, Oliveira, Simões, Diez-Baños & Gestal, 2014b). Diversos estudos têm sido realizados com o objetivo de determinar a prevalência e a distribuição geográfica de *D. immitis* em todo o mundo (Reifur, Thomaz-Soccol, & Montiani-Ferreira, 2004). No vetor tanto *D. immitis* como *D. repens* têm a mesma exigência em termos de temperatura para que ocorra o desenvolvimento

larvar no hospedeiro intermediário e sabe-se que existe o limiar de 14 °C, abaixo do qual não há desenvolvimento larvar (Vezzani & Carbajo, 2006) (Brown, Harrington, Kaufman, McKay, Bowman, Nelson, Wang & Lund, 2012). O aquecimento global que se tem verificado ao longo dos anos vem alterar o clima e espera-se uma expansão para o norte de espécies de artrópodes (Genchi, Mortarino, Rinaldi, Cringoli, Traldi & Genchi, 2011) (Yuasa, Hsu, Chou, Huang, Huang & Chang, 2012), o que pode resultar numa alteração da distribuição de doenças transmitidas por vetores, nomeadamente a dirofilariose (Genchi et al., 2011). Na Europa a dirofilariose é endémica, principalmente em países mediterrânicos e ocidentais, mas recentemente atinge também a zonas centrais e orientais (Genchi et al., 2009). Em Portugal o risco de transmissão de *Dirofilaria* spp. é potenciado pelas condições ambientais adequadas, principalmente na Madeira, Faro, Lisboa e Porto. O período de risco varia sazonalmente, entre os 5 meses no Porto e 8 meses na Madeira (Alho, Nunes, Rinaldi, Meireles, Belo, Deplazes & Madeira de Carvalho, 2014e).

Figura 11- Distribuição Geográfica da Dirofilariose canina mundialmente. Azul – *D. immitis*; Laranja – *D.immitis* e *D. repens*; Verde – *D. repens*. Fonte: Simón, Siles-Lucas, Morchón, González-Miguel, Mellado, Carretón & Montoya-Alonso (2012).



Em Portugal a dirofilariose é endémica. Vários estudos foram realizados ao longo dos anos e demonstrou-se que a infeção de dirofilariose canina foi prevalente em várias regiões de Portugal, incluindo o Ribatejo (16,7%), Alentejo (16,5%) e Algarve (12%). A ilha da Madeira apresentou a prevalência mais alta, 30% (Morchón, Carretón, González-Miguel & Mellado-Hernández, 2012). A prevalência global no norte e no centro norte de Portugal é 2,1% com as maiores prevalências encontradas em Aveiro (6,8%) e Coimbra (8,8%) (Vieira et al., 2014a). Na Figueira da Foz a prevalência foi de 27,3% (Vieira et al., 2014b). Em canis das regiões de Setúbal, Coimbra e Santarém observou-se uma prevalência de 24,8%, 13,8% e 13,2% respetivamente (Alho, Landum, Ferreira, Meireles, Gonçalves, Carvalho & Belo, 2014d).

Outro estudo em Portugal revelou uma prevalência de 3,6% em cães clinicamente saudáveis e 8,9% em cães clinicamente suspeitos (Cardoso, Mendão & Madeira de Carvalho, 2012). Em gatos também tem sido investigada a prevalência em várias regiões de Portugal, detetou-se uma prevalência de 17.6% de *D. immitis* no distrito de Viseu e 18.7% em Aveiro (Vieira et al., 2014a), na região do Baixo Vouga detetou-se uma prevalência de 1.4% (Miranda, 2011) e na região do Sado de 1.2% (Almeida, 2010). Mais dados relativos à prevalência de *D. immitis* em Portugal, podem ser consultados no Anexo 3. Os animais silvestres funcionam como reservatórios, a análise de 62 raposas vermelhas no período de 2000-2006 em Dunas de Mira, Coimbra, indicou uma prevalência de 3,2% para *D. immitis*. Já foi também detetada *D. immitis* em lontras nas regiões de Coimbra e no Alentejo (Alho et al., 2014a). Em Espanha é semelhante, sendo detetada na Ilha de Las Palmas Gran Canária a prevalência de 19,2% (Montoya-Alonso, Carretón, Corbera, Juste, Mellado, Morchón & Simón, 2011), na ilha de Ibiza 39%, 2% em Barcelona e 0.3% na ilha de Mallorca (Morchón et al., 2012). Tendo em conta a disseminação emergente do vetor devem ser consideradas medidas profiláticas que permitam o controlo eficaz da dirofilariose e diminuição do contacto do hospedeiro definitivo com o vetor (Genchi, Rinaldi, Cascone, Mortarino & Cringoli, 2005).

2.1.3. Sintomatologia e lesões associadas à dirofilariose canina

A gravidade das lesões e as manifestações clínicas estão relacionadas com o número relativo de parasitas adultos, com a duração da infeção e com a interação hospedeiro-parasita (American heartworm Society |AHS|, 2014). Relativamente a *D. immitis* os sinais clínicos apresentados são variáveis, dependendo de fase da doença cardíaca e da quantidade de parasitas adultos e da sua localização (Tabela 3). Os Parasitas adultos localizam-se nas artérias pulmonares e, em infeções maciças encontram-se no átrio e ventrículo direito e na veia cava posterior (Bowman, 2009).

Tabela 3- Classificação quanto ao risco de ocorrência de complicações secundárias a terapêutica. Adaptado de Alho et al. (2014b).

Baixo risco de complicações	Elevado risco de complicações
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Assintomático; ▪ Radiografia torácica normal; ▪ Baixo nível de antigénios circulantes e amicrofilarémia; ▪ Sem filarídeos visíveis na ecocardiografia; ▪ Ausência de doenças concomitantes; ▪ Restrição de exercício físico prolongado; 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Sintomático; ▪ Radiografia torácica com alterações; ▪ Elevado nível de antigénios circulantes ou microfilarémia; ▪ Filarídeos visíveis na ecocardiografia; ▪ Presença de doenças concomitantes; ▪ Impossível restrição prolongada de exercício físico.

A ação direta dos parasitas, dos produtos do seu metabolismo e a reação do organismo do hospedeiro provoca lesões endoteliais nos vasos pulmonares, hipertensão pulmonar, tromboembolismo, pneumonia, congestão hepática, ascite e glomerulonefrites por deposição de imunocomplexos. Quando a localização dos parasitas adultos se estende à veia cava posterior conduz à síndrome da veia cava, caracterizada por hemólise intravascular, coagulação intravascular disseminada (CID) e choque (Urquhart et al., 1996) (Schrey & Trautvetter, 1998). A sintomatologia depende da fase da doença tal como resposta positiva à terapêutica ou às complicações subjacentes (AHS, 2014).

2.1.4. Identificação e diagnóstico

a. Detecção de microfilárias no sangue periférico

Para pesquisa de microfilárias em sangue periférico o tempo mínimo após a infeção, para que estas possam estar presentes no sangue, é cerca de 6,5 meses. Assim, caso as microfilárias sejam encontradas em animais com idade inferior a 6,5 meses pode deduzir-se que a infeção ocorreu no útero. A amostra de sangue pode ser vista a fresco, onde se pode ver a mobilidade das microfilárias mas, tem de existir um número elevado de microfilárias na amostra. Outro método mais sensível é a técnica de Knott, após centrifugação e concentração, as diferentes microfilárias podem ser observadas e distinguidas morfológicamente (Tabela 4) (Schrey & Trautvetter, 1998) (Bowman, 2009) (CVBD, 2014).

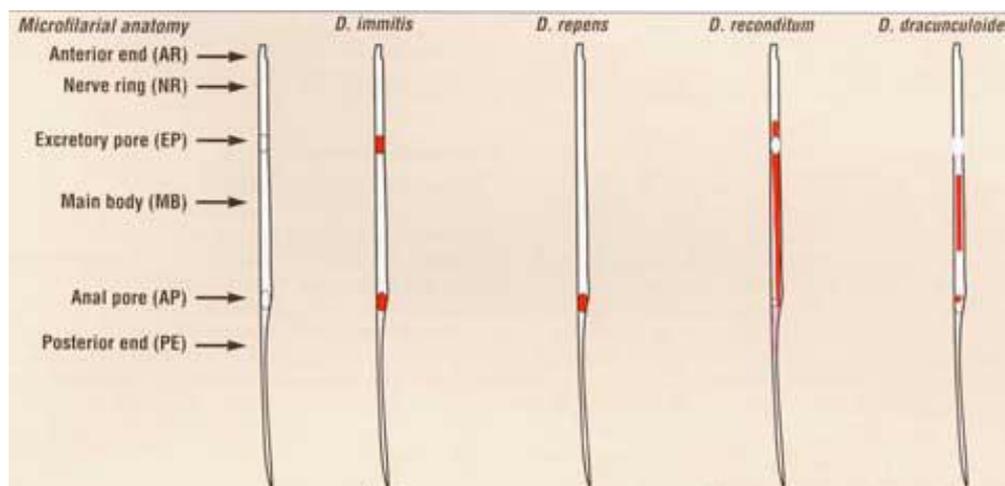
Tabela 4- Detalhes na diferenciação das microfilárias presentes no sangue periférico do cão.

Adaptado de Magnis et al. (2013).

	Extremidade anterior	Extremidade posterior	Tamanho (µm)
<i>D. immitis</i>	Cónica	Direita	301.77 ± 6.29 por 6.30 ± 0.26
<i>D. repens</i>	Retangular	Em forma de gancho	369.44 ± 10.76 por 8.87 ± 0.58
<i>A. dracunculoides</i>	Cónica	Direita	259.43 ± 6.69 por 5.09 ± 0.47
<i>A. reconditum</i>	Retangular	Em forma de gancho	264.83 ± 5.47 por 4.63 ± 0.52

Após o isolamento é essencial diferenciar microfilárias ao nível da espécie, uma vez que apenas *D. immitis* é altamente patogénico. *A. dracunculoides*, *A. reconditum* e *D. repens* são considerados pouco patogénicos (Urquhart et al., 1996). Um método rápido e fiável para diferenciar microfilárias é a análise das manchas resultantes da utilização de corantes histoquímicos de fosfatase ácida. Existem padrões de coloração típicos da espécie que permite a identificação das espécies (Figura 12) (Schrey & Trautvetter, 1998).

Figura 12- Apresentação dos padrões de coloração típicos das espécies de microfilárias através do método de coloração pela fosfatase ácida. Fonte: Schrey & Trautvetter (1998).



Existe um novo método de diferenciação morfológica de microfilárias de *D. immitis*, *D. repens* e *A. dracunculoides*, através da utilização de um teste comercial (Leucognost SP[®]). Estudos demonstraram este método apresenta os mesmos resultados que o método das fosfatases ácidas e é um método mais rápido e simples (Peribáñez, Lucientes, Arce, Morales, Castillo & Gracia, 2001).

A especificidade das técnicas referidas é de 100%, contudo até 30% dos cães infetados não têm microfilárias circulantes. A amicrofilarémia ocorre quando os parasitas adultos são do mesmo sexo, não existindo a possibilidade de reprodução, pela reação imunitária do hospedeiro contra as microfilárias circulantes ou administração de microfilaricidas (Genchi, Rinaldi & Cringoli, 2007). Assim um teste de isolamento de microfilárias negativo não exclui infecção. Também não se verifica correlação entre o número de microfilárias e de parasitas adultos, e parece não haver variação sazonal ou diária na quantidade de microfilárias no sangue. As microfilárias podem permanecer em circulação 2,5 anos, mesmo depois da morte dos parasitas adultos (Schrey & Trautvetter, 1998).

b. Testes serológicos

Atualmente estão comercialmente disponíveis vários testes imunoenzimáticos (ELISA - enzyme-linked immunosorbent assay) que permitem a detecção de antígenos ou anticorpo de *D. immitis*. A detecção de antígenos do parasita é mais sensível e mais específica do que a detecção dos anticorpos anti-*Dirofilaria* (Rocha, 2010). Os testes mais utilizados, de detecção de antígenos, permitem a detecção da infecção 5 meses após a infecção (mpi). Para além do diagnóstico são semi-quantitativos, e permitem tirar conclusões sobre a carga parasitária possibilitando a monitorização do tratamento, bem como para detetar infecções ocultas (Schrey

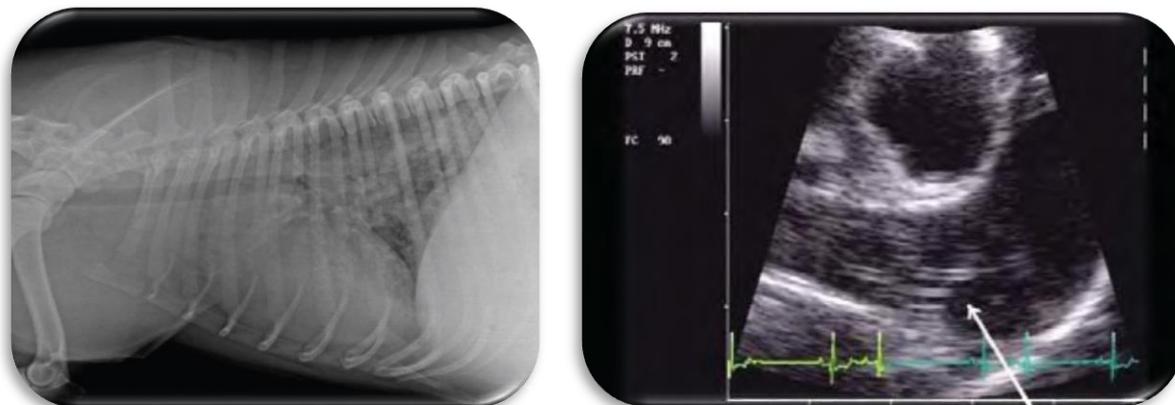
& Trautvetter, 1998). A análise quantitativa dos resultados de antígenos é especulativa e requer correlação com outras informações clínicas relevantes como evidência radiográfica de doença arterial pulmonar avançada, típico da dirofilariose crônica (CVBD, 2014). A maioria dos testes de ELISA são altamente sensíveis e específicos (Schrey & Trautvetter, 1998), com sensibilidade de 84% e especificidade de 97% (Brown et al., 2012). Contudo, podem ocorrer falsos negativos quando existem apenas adultos machos ou fêmeas imaturas, ou a temperatura à qual o teste foi realizado não está conforme as normas do fabricante (CVBD, 2014). Estes testes são altamente sensíveis a soros hemolisados e verificou-se, muito raramente, que podem apresentar reação cruzada com *D. repens*. Outra forma de existir falsos positivos é quando ocorre reação dos anticorpos monoclonais com o antígeno de cães previamente sensibilizados ao anticorpo do rato (Schrey & Trautvetter, 1998). Estes testes são muito úteis na prática clínica e também em rastreios com grande volume de amostras. Os resultados do teste antígeno devem ser interpretados com precaução, levando também em consideração a informação clínica relevante (CVBD, 2014).

c. Exames complementares: Radiografia e Ecocardiografia

Alterações ao exame radiográfico torácico são notadas em fases mais avançadas de dirofilariose (Figura 13). Este exame pode ser utilizado como complemento a outros exames de diagnóstico, referidos anteriormente, ou para determinar a fase da doença e avaliar a gravidade das lesões (Genchi et al., 2007). O padrão pulmonar mais comum é o vascular, com aumento da densidade perivascular com aumento das artérias pulmonares, especialmente nos lobos diafragmáticos. Também se pode verificar cardiomegália ventricular direita (Schrey & Trautvetter, 1998).

A ecocardiografia pode fornecer evidências definitivas de dirofilariose, bem como avaliar a função cardíaca e consequências anatômicas e funcionais (Figura 13). Porém, em infecções leves ou recentes, os parasitas limitam-se aos ramos periféricos das artérias pulmonares e não são detetáveis ao exame ecográfico (CVBD, 2014). Os parasitas aparecem hiperecogênicos e é possível ver os parasitas como linhas paralelas nas artérias pulmonares. A hipertrofia do átrio e ventrículo direito e lesões a nível da tricúspide são também indicativas de dirofilariose (Schrey & Trautvetter, 1998). Cães com hemoglobinúria e observação de parasitas na válvula tricúspide confirma a presença da síndrome da veia cava (CVBD, 2014). A ecocardiografia permite aumentar a precisão no estadiamento da doença e estimar a carga parasitária, fatores importantes para definir a terapêutica e indicar um prognóstico (Genchi et al., 2007)

Figura 13- Exames complementares em animais com dirofilariose. Esquerda: radiografia torácica de um cão com cardiomegalia e padrão vascular evidente. Fonte: AHS (2014). Direita: ecocardiografia em que se verifica a presença do parasita hiperecogénico no lúmen da artéria pulmonar direita. Fonte: Genchi et al. (2007).



d. Exames laboratoriais

As análises laboratoriais são importantes para determinar a fase da doença, quando utilizadas com outros exames de diagnóstico. É importante no diagnóstico de síndrome da veia cava. Neste caso verifica-se hemoglobinúria, aumento das enzimas hepáticas, azotemia, hiperglicemia, leucograma de *stress*, e se existir efusão abdominal, esta é rica em proteína. Na pneumonia alérgica existe eosinofilia, basofilia evidente. Com a evolução da doença cardíaca pode verificar-se anemia normocítica e normocrômica ou hemolítica, monocitose e trombocitopenia (Schrey & Trautvetter, 1998). Os resultados de um estudo sugerem a possibilidade de utilização de troponina I e mioglobina como marcadores de lesão cardíaca e o dímero-D como uma ferramenta de apoio para a diagnóstico de tromboembolismo pulmonar em cães com dirofilariose cardiopulmonar (Carretón, Corbera, Juste, Morchón, Simón, & Montoya-Alonso, 2011).

2.1.5. Terapêutica

O tratamento da dirofilariose não é simples nem seguro. Antes de iniciar qualquer terapêutica é necessário avaliar o risco de tromboembolismo caso se proceda a terapêutica adulticida (Genchi et al., 2007). Os objetivos de qualquer tratamento de dirofilariose são melhorar a condição clínica do animal e eliminar todas as fases da vida dos parasitas com o mínimo de complicações. Cães que apresentem sinais clínicos significativos de dirofilariose devem ser estabilizados antes de administrar um adulticida. Tal pode exigir a administração de corticóides, diuréticos, vasodilatadores, agentes inotrópicos positivos e fluidoterapia (AHS, 2014). Vários estudos indicam que o repouso diminui a sobrecarga da circulação pulmonar

está sujeita, diminuindo o risco de complicações a nível cardiopulmonar, tanto no decorrer da terapêutica sintomática como na terapêutica adulticida (Genchi et al., 2007) (AHS, 2014).

Como terapêutica adulticida apenas o dicloridrato de melarsomina é aprovado pela FDA (Food and Drug Administration) como droga adulticida para *D. immitis*. Os protocolos terapêuticos com melarsomina são usados com duas doses (2,5 mg/kg IM, com intervalo de 24 horas) ou três doses (uma dose de 2,5 mg/kg IM e um mês depois duas doses de 2,5 mg/kg IM, com intervalo de 24 horas). O protocolo com duas doses de melarsomina mata cerca de 90% dos parasitas adultos, é indicado para infeções leves a moderadas, mas em caso de doença grave deve optar-se pelo método de três doses, que mata cerca de 98% dos parasitas adultos de forma gradual. Independentemente da gravidade da doença (com a exceção da síndrome da veia cava), o protocolo de três doses é recomendado pela Sociedade Americana de Dirofilariose, devido ao aumento da segurança e da eficácia (AHS, 2014).

O tromboembolismo pulmonar é uma consequência inevitável da terapia adulticida eficaz e pode ser grave caso a carga parasitária seja elevada e as lesões a nível pulmonar sejam extensas. Se os sinais de embolia (febre baixa, tosse, hemoptise, exacerbação de insuficiência cardíaca direita) se desenvolvem, são geralmente evidentes dentro de 7 a 10 dias, mas podem surgir um mês depois. Um fator essencial para a redução do risco de complicações como o tromboembolismo é a restrição de exercício (Genchi et al., 2007). Para controlar os sinais clínicos de tromboembolismo pulmonar pode associar-se administração de anti-inflamatórios esteróides (AHS, 2014). Relativamente à aspirina não existem estudos que demonstrem algum benefício clínico, considerando-se o seu uso contraindicado (Genchi et al., 2007).

Sabe-se que *Dirofilaria immitis* tem uma relação simbiótica com a bactéria intracelular gram-negativa do género *Wolbachia*. Supõe-se que *Wolbachia* contribui para a inflamação pulmonar e renal através de uma proteína de superfície. A administração de doxiciclina reduz números de *Wolbachia* em todas as fases do parasita (AHS, 2014), principalmente a nível das microfilárias (McCall, Kramer, Genchi, Guerrero, Dzimianski, Supakordej, Mansour, McCall, Supakordej, Grand & Carson, 2011). A doxiciclina contribui ainda também para a diminuição das lesões a nível do parênquima e vasos pulmonares, particularmente da inflamação perivascular (Kramer, Grandi, Passeri, Gianelli, Genchi, Dzimianski, Supakordej, Mansour, Supakordej, McCall & McCall, 2011). Estudos recentes indicam que o tratamento com doxiciclina na dose de 10 mg/kg, BID, durante um mês permite evitar futuras infeções, bem como um efeito letal nas larvas e formas imaturas de *D. immitis* que já se encontram em circulação. Julga-se também que a doxiciclina tem um efeito lento, mas fatal, nas formas adultas (McCall, Kramer, Genchi, Guerrero, Dzimianski, Mansour, McCall & Carson, 2014). Estudos com o objetivo de descobrir formas de inibir esta bactéria ou às

proteínas essenciais à sua sobrevivência têm sido desenvolvidos (Li, Galvin, Raverdy & Carlow, 2011).

Apesar de a melarsomina ser um adulticida eficaz, não é completamente eficiente contra jovens adultos de *D. immitis*. A administração de lactonas macrolíticas dois meses antes da administração do adulticida, permite eliminar larvas susceptíveis, reduzir novas infecções. Estudos com a administração de doxiciclina em combinação com ivermectina demonstram que a atividade adulticida é mais rápida que a administração única de ivermectina, assim como a redução do número *Wolbachia* é mais eficaz que a administração apenas de doxiciclina (AHS, 2014), contribuindo também para uma diminuição drástica das lesões pulmonares (Kramer et al., 2011). Contudo a administração de lactonas macrocíclicas deve ser usada com precaução em cães com elevada quantidade de microfilárias em circulação. O pré-tratamento com anti-histamínicos e corticóides irá minimizar possíveis reações. A moxidectina tópica é agora aprovado pelo FDA para uso em cães com dirofilariose para eliminar microfilárias (AHS, 2014). As lactonas macrocíclicas são usadas há cerca de 25 anos e recentemente foram relatados alguns casos de perda de eficácia devido a mutações no parasita, podendo ser sinal de potenciais resistências (Bourguinat, Keller, Blagburn, Schenker, Geary & Prichard 2011). Caso a terapia com melarsomina seja contraindicada ou não seja possível, existe a opção de administrar um profilático (microfilaricida) mensalmente associado a doxiciclina, na dose de 10 mg/kg duas vezes por dia durante um período de 4 semanas. Esta terapêutica deve ser acompanhada de restrição ao exercício bem como a realização de testes para detecção de antígeno de *D. immitis* semestralmente. Caso os testes se mantenham positivos esta terapêutica pode ser repetida após um ano. Considera-se que a terapêutica foi eficaz quando dois testes consecutivos sejam negativos (AHS, 2014). A síndrome da veia cava desenvolve-se de forma aguda e o curso clínico, sem cirurgia, geralmente resulta em morte em dois dias. O acesso para a remoção cirúrgica dos parasitas do átrio e da válvula tricúspide direita deve ser através da veia jugular externa direita com orientação fluoroscópica (Figura 14). Imediatamente após a cirurgia o sopro diminui, e dentro de 12 a 24 horas a hemoglobinúria desaparece. Este processo deve ser acompanhado de fluidoterapia para restaurar a função renal e consequências hemodinâmicas (AHS, 2014). É recomendada a terapêutica adulticida algumas semanas depois, para remover os adultos que ainda permanecem no hospedeiro (CVBD, 2012).

Figura 14- Fotos de remoção cirúrgica de *D. immitis* adultos. Fonte: AHS (2014).



No geral, a sobrevivência e a taxa de recuperação aumenta após a remoção cirúrgica dos parasitas, mesmo em animais que não tenham atingido a fase crítica da síndrome da veia cava. O risco de tromboembolismo é muito menor se a terapêutica adulticida for precedida pela remoção cirúrgica (Genchi et al., 2007).

2.1.6. Profilaxia

A dirofilariose canina é evitável e, para cães que vivem em áreas endêmicas, a profilaxia deve ser mantida ao longo do ano e deve ser reforçada nos meses em que há maior suscetibilidade (CVBD, 2012). A administração de lactonas macrocíclicas regularmente atua como tratamento profilático, estão disponíveis em várias formulações: injetável (moxidectina), tópico (moxidectina, selamectina) e oral (ivermectina, milbemicina oxima). Em áreas endêmicas os animais devem ser testados para *D. immitis* semestralmente e, em caso de infecção, proceder ao tratamento rapidamente, pois existe a possibilidade de maior resistência dos parasitas adultos de *D. immitis* quando os animais são tratados regularmente com lactonas macrocíclicas (AHS, 2014) (CAPC, 2014). Adicionalmente podem ser usados diversos produtos que protegem o cão do vetor como coleiras, champôs, spot-on e sprays (CAPC, 2014). Uma profilaxia eficaz exige compreensão da doença por parte dos donos do animal e o médico veterinário deve informar, de forma ativa e clara, sobre a necessidade de tratamentos profiláticos regulares (Rohrbach, Lutzy & Patton, 2011).

2.1.7. Potencial zoonótico

A presença de *D. immitis* em cães constitui um risco para a população humana. Pode causar dirofilariose pulmonar e com desenvolvimento de nódulos pulmonares benignos, que podem confundir-se com tumores malignos (Morchón et al., 2012). Relativamente a *D. repens*

considera-se que é um agente zoonótico emergente e o mais importante na dirofilariose humana na Europa (Tabela 5) (Genchi et al., 2011). Causam nódulos subcutâneos na zona ocular e sob a conjuntiva e podem afetar, raramente, órgãos internos como os pulmões. Estão relatados casos em humanos em mais de 30 países (CVBD, 2014b). Verifica-se que casos de dirofilariose humana não são coincidentes com os de dirofilariose canina (Simón et al., 2012).

Tabela 5- Dados epidemiológicos sobre a dirofilariose humana, especialmente na Europa.

Fonte: Simón et al. (2012).

	Dirofilariose pulmonar			Dirofilariose subcutânea		
	Até 1999	2000-2011	Total	Até 1999	2000-2011	Total
Espanha	5	3	8	6	2	8
França	2	2	4	24	63	87
Itália	3	10	13	135	188	323
Grécia		3	3	10	25	35
Hungria			0		31	31
Croácia			0		10	10
Sérvia			0	3	19	22
Alemanha	2	1	3	6	3	9
Turquia			0	1	21	22
Rússia		2	2	61	561	622
Áustria			0		+16	+16
Ucrânia			0	23	1	24
Outros						170

2.2. Metastrongilídeos

Como consequência das alterações climáticas, de uma acrescida movimentação dos animais de companhia e de uma maior diversidade e suscetibilidade de potenciais hospedeiros intermediários e definitivos, as parasitoses respiratórias nos carnívoros domésticos têm vindo a aumentar a sua prevalência na Europa (Alho, Nabais & Carvalho, 2013). No cão, *Angiostrongylus vasorum* tem especial importância devido às implicações clínicas inerentes à infeção por este nemátode metastrongilídeo (Nabais, 2012). Outros parasitas também são encontrados no sistema respiratório do cão como *Eucoleus aerophilus* (= *Capillaria aerophila*), *Eucoleus boehmi* (= *C. boehmi*), *Filaroides osleri* e *Crenosoma vulpis* (CAPC, 2007). Considerando a importância clínica, *A. vasorum* será abordado com mais detalhe.

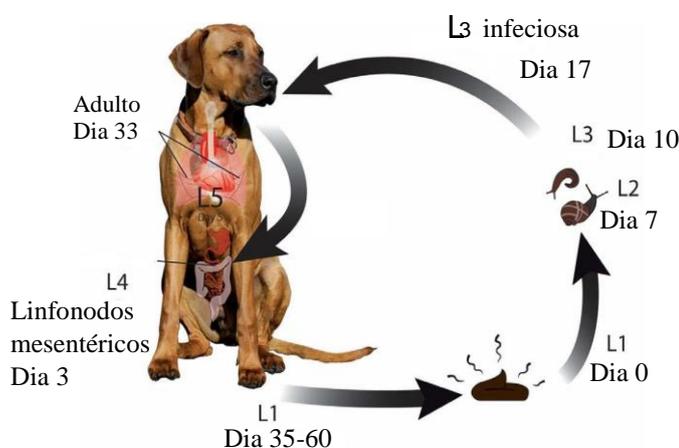
2.2.1. Ciclo de vida

O ciclo de vida de *Angiostrongylus vasorum* é indireto (Figura 15), o desenvolvimento larvar, de L₁ até L₃, ocorre em hospedeiros intermediários como moluscos gastrópodes. A infeção dos hospedeiros definitivos ocorre por ingestão de L₃ que pode estar presente no hospedeiro intermediário, nos hospedeiros paraténicos ou no meio ambiente. Após a ingestão, as L₃

penetram na parede intestinal e migram para os linfonodos mesentéricos onde se desenvolvem até L₅ e depois, após migração linfática e sanguínea, alojam-se nas artérias pulmonares, átrio e ventrículo direitos (European Scientific Counsel Companion Animal Parasites [ESCCAP], 2010). As larvas L₁, resultantes da reprodução dos parasitas adultos, são expelidas dos alvéolos pulmonares através da tosse, são depois deglutidas e eliminadas com as fezes para o ambiente (Helm, Morgan, Jackson, Wotton & Bell, 2010). O período pré-patente é cerca de 28-108 dias (CAPC, 2007).

Figura 15- Representação esquemática do ciclo de vida de *Angiostrongylus vasorum*.

Adaptado de Koch & Willeßen (2009).

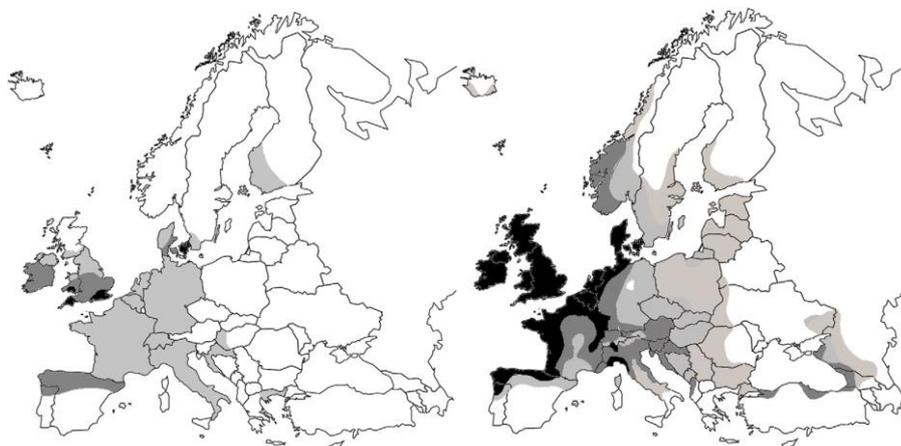


2.2.2. Epidemiologia

A distribuição de *Angiostrongylus vasorum* é cosmopolita (Ferdushy & Hasan, 2010), sobretudo em regiões tropicais, subtropicais e temperadas (Koch & Willeßen, 2009). A literatura recente indica casos em novas áreas e a propagação em áreas endêmicas (Morgan, Jefferies, Krajewski, Ward & Shaw, 2009) (Figura 16). Na Europa a angiostrongilose é considerada emergente (Conboy, 2011). O clima e a presença de hospedeiros reservatório são fatores importantes na disseminação do parasita. Em particular, as raposas são consideradas um importante reservatório silvestre, mas os lobos, coiotes, chacais, lontras, texugos e doninhas podem também ser fontes de infecção (Morgan, Shaw, Brennan, Waal, Jones & Mulcahy, 2005). Um clima húmido e ameno, com temperaturas entre -4°C e 25°C é fundamental para a sobrevivência e multiplicação do hospedeiro invertebrado (Ferdushy & Hasan, 2010) (Traversa, Di Cesare Meloni, Regalbono, Milillo, Pampurini, & Venco, 2013). A infecção parece ser mais comum em cães jovens, pois estes têm mais propensão a indiscrições alimentares, contudo ainda não foi pesquisada a imunidade adquirida na infecção por *Angiostrongylus* (Helm et al., 2010) (Gallagher, Brennan, Zarelli & Mooney, 2012). Informações sobre fatores de risco são úteis no diagnóstico e controlo da doença, e constituem

base para mais investigação epidemiológica (Morgan, Jefferies, Otterdijk, McEniry, Allen, Bakewell & Shaw, 2010a).

Figura 16- Distribuição observada (esquerda) e previsão (direita) da distribuição de *A. vasorum* na Europa, considerando aspetos climáticos. Fonte: Morgan et al. (2009).



Ao longo dos anos, vários estudos têm sido publicados na Europa: na Inglaterra a prevalência de *A. vasorum* em cães domésticos foi de 4%, na Dinamarca de 3,5% e na Alemanha foi de 0,3%. Nas raposas a frequência é mais elevada, na Dinamarca observaram-se prevalências de 49%, em Itália de 39% e em Espanha de 18% (Koch & Willeesen, 2009).

Em Portugal a informação sobre prevalências relativamente a *A. vasorum* é escassa (Alho, Schnyder, Meireles, Belo, Deplazes & Madeira de Carvalho, 2014f). Estudos em Portugal demonstraram prevalências de 2% (Nabais, 2012) em cães domésticos e 16,1% em raposas vermelhas (*Vulpes vulpes*) (Eira, Vingada, Torres, Miquel, 2006). Considera-se que a prevalência de *A. vasorum* no meio silvático seja superior à prevalência encontrada em animais domésticos (Morgan et al., 2005). Recentemente foi realizado um estudo abrangendo os distritos de Coimbra, Santarém e Setúbal e a prevalência detetada, utilizando *sandwich*-ELISA para anticorpos mono e policlonais e testes de ELISA específicos de antígenos purificados contra *A. vasorum* adultos. O resultado foi positivo em ambos os testes em 1,17% dos animais, foi positivo no teste ELISA de antígeno em 1,76% e no *sandwich*-ELISA 2,35%. Os três distritos analisados tiveram amostras positivas e revelam uma prevalência ligeiramente maior de angiostrongilíase em Portugal em comparação aos dados descritos no Reino Unido, Itália, Alemanha e Polónia (Alho et al., 2014f).

2.2.3. Sintomatologia e lesões

O diagnóstico e terapêutica de parasitoses emergentes ou negligenciadas, como a angiostrongilose, constituindo um desafio na clínica de pequenos animais (Alho et al., 2013).

A angiostrongilose canina é caracterizada por diversas manifestações clínicas (Nabais, 2012). Os sinais clínicos são variáveis, os mais comuns são de natureza cardiorrespiratória, mas por vezes a sintomatologia está relacionada com coagulopatias ou doença neurológica ainda que seja raro (Helm et al., 2010). A angiostrongilose deve-se a uma reação inflamatória com envolvimento dos tecidos pulmonares resultando em pneumonia intersticial, enfisema, tromboembolismo arterial, coagulopatias e insuficiência cardíaca direita (CAPC, 2007). Os sinais clínicos frequentemente observados são tosse crônica, dispneia, taquipneia, intolerância ao exercício e fraca condição corporal (Alho et al., 2013) e, em caso de coagulopatia, os animais podem apresentar anemia, melena, hemoptise e hematomas subcutâneos (ESCCAP, 2010). Nos animais com coagulopatias pode observar-se trombocitopenia, aumento do tempo parcial de tromboplastina ativada e de protrombina, presença de produtos de degradação da fibrina, hiperglobulinemia, anemia e deficiência de fator V (Gallagher et al., 2012). Ocasionalmente, larvas e adultos podem ter localizações ectópicas como no cérebro, pericárdio, bexiga ou na câmara anterior do olho e os sinais clínicos são relacionados com os locais em questão (Oliveira-Júnior, Barçante, Barçante, Ribeiro & Lima, 2004).

2.2.4. Identificação e diagnóstico

A infecção de cães por nemátodes pulmonares constitui um verdadeiro desafio a nível de diagnóstico (Morgan & Shaw, 2010), principalmente em casos de angiostrongilose crônica, com início lento e progressão imprevisível (Schnyder, Maurelli, Morgoglione, Kohler, Deplazes, Torgerson & Rinaldi, 2011). O diagnóstico definitivo de angiostrongilose é obtido quando são observadas larvas de *A. vasorum* nas fezes. A técnica Baermann modificada é amplamente utilizada para deteção de L₁ em amostras fecais (Helm et al. 2010), é uma técnica bastante simples, não invasiva e de baixo custo (Alho et al., 2013) (Anexo 5). A observação de L₁ nas fezes (Figura 17) concede um diagnóstico definitivo com especificidade de 100%, porém existem vários fatores que reduzem a sensibilidade, indicando limitações na técnica. Para detetar larvas de *Angiostrongylus vasorum*, é necessário que já tenha decorrido o período pré-patente (Schnyder, Schaper, Bilbrough, Morgan & Deplazes, 2013). Outro aspeto limitante a ter em conta é a excreção intermitente de larvas (Oliveira-Júnior, Barçante, Barçante, Dias & Lima, 2006) (Schnyder et al., 2011) pelo que as amostras devem ser colhidas durante três dias consecutivos para aumentar a sensibilidade do teste de Baermann (Ferdushy & Hasan, 2010), observando múltiplas vezes as amostras (CAPC, 2007). Segundo Helm et al. (2010) e Morgan & Shaw (2010) mesmo que o período pré-patente tenha passado, uma única análise de Baermann deteta apenas 50% das infeções que são assinaladas em três análises da mesma amostra.

Recentemente foi indicada uma técnica baseada na contagem de estádios parasitários (ovos, larvas, oocistos) em câmaras de contagem próprias, após flutuação numa centrífuga e translação da porção apical da suspensão (Cringoli, 2006). Segundo Schnyder et al. (2011) a técnica FLOTAC apresenta maior sensibilidade que outras técnicas laboratoriais. Assim, esta nova técnica poderá contribuir para melhorar o diagnóstico de nemátodes pulmonares, sendo uma alternativa em situações em que a viabilidade da larva esteja comprometida.

Outra forma de observar as L₁ consiste numa lavagem traqueal ou broncoalveolar, útil para usar em complemento com a técnica de Baermann (Barçante, Barçante, Ribeiro, Oliveira-Junior, Dias, Negrão-Corrêa & Lima, 2008). Geralmente o teste de diagnóstico mais realizado é o de Baermann, visto não ser invasivo e relativamente simples de fazer e interpretar quando comparado com a técnica LBA (Helm et al., 2010).

Figura 17- Larva de 1.º estágio de *A. vasorum* (140x). Fonte: Alho et al. (2013).

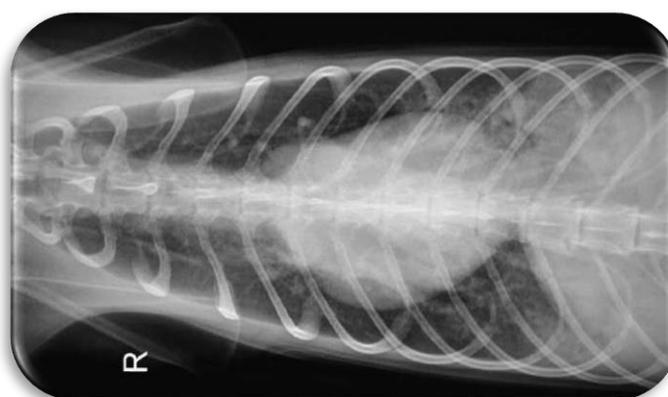


Têm sido desenvolvidos testes sorológicos para detecção de *Angiostrongylus vasorum* como ELISA e Western Blot. Um teste *sandwich*-ELISA foi desenvolvido e tem demonstrado uma sensibilidade entre 92% e 95,7% e especificidade entre 94% e 100% (Helm et al., 2010) (Schnyder et al., 2013). Dos testes sorológicos o *sandwich*-ELISA é o que apresenta maior sensibilidade e especificidade (Schucan, Schnyder, Tanner, Barutzki, Traversa & Deplazes, 2012). Outros testes para detetar anticorpos do hospedeiro contra o parasita adulto estão também a ser desenvolvidos, contudo a sua utilidade está dependente da duração e persistência dos anticorpos e níveis de exposição (Morgan & Shaw, 2010) sendo descritas sensibilidade de 85,7% e especificidade de 98,8% (Zoetis, 2014). Considera-se que estes testes fornecem uma ferramenta simples e útil para ser amplamente aplicada na prática clínica, importantes também para o diagnóstico diferencial de parasitas cardiopulmonares, nomeadamente *Dirofilaria immitis* e *Angiostrongylus vasorum* (Schnyder, Stebler, Naucke, Lorentz & Deplazes, 2014) (Schnyder & Deplazes 2012). A detecção de ADN pela técnica de PCR (*Polimerase Chain Reaction*) também tem sido utilizada em diversas amostras

biológicas (Morgan & Shaw, 2010), sendo usado especificamente para diferenciar a nível da espécie (Helm et al., 2010).

Os achados radiográficos são frequentemente inespecíficos (Paradies, Schnyder, Capogna, Lia & Sasanelli, 2013), e podem incluir inflamação peri-brônquica difusa, com aumento das densidades radiográficas (Figura 18). Podem ser observadas lesões nodulares nas regiões periféricas dos lobos pulmonares caudais e, em casos graves, cardiomegália direita e visualização da artéria pulmonar (CAPC, 2007).

Figura 18- Radiografia torácica de uma raposa com pneumonia verminosa grave causada por *A. vasorum*. Fonte: Koch & Willesen (2009).



Após o tratamento, em cerca de 40% dos animais, alterações radiográficas residuais mantêm-se a longo prazo, bem como sinais clínicos (Koch & Willesen, 2009).

Alterações nas análises laboratoriais, como hemograma e bioquímicas séricas, foram frequentemente descritas, contudo não são consistentes (Gallagher et al., 2012). Em animais com infecção experimental e com alterações cardíacas pode existir aumento da isoenzima creatinina kinase (CK MB) (Cury, Guimarães, Lima, Caldeira, Couto, Murta, Carvalho & Baptista, 2005). Em casos esporádicos foi observada hipercalcemia (Willesen, Jensen, Kristensen, & Koch, 2009).

2.2.5. Terapêutica e profilaxia

São vários os protocolos utilizados para o tratamento específico da infecção por *Angiostrongylus vasorum* (Tabela 6). Pode ser necessária terapêutica sintomática em casos mais graves. Broncodilatadores, diuréticos, corticosteróides e heparina são frequentemente utilizados como tratamento de suporte (Ferdushy & Hasan, 2010). Após o tratamento é recomendado verificar a eficácia do tratamento realizando a técnica de Baermann modificada (Ferdushy & Hasan, 2010) (Paradies et al., 2013).

Tabela 6: Protocolos recomendados para tratamento da infecção por *Angiostrongylus vasorum* em cães. Adaptado de Helm et al. (2010).

Substância	Posologia
Febendazol	20–25 mg/kg, via oral, uma vez ao dia durante 20 dias; 50 mg/kg, via oral, uma vez ao dia durante 5–21 dias.
Imidacloprid/Moxidectina	0.1 mL/kg (2.5-6.25 mg/kg moxidectina e 10-25mg/kg de imidacloprid), em dose única, tópica (spot-on).
Milbemicina-oxima	0.5 mg/kg, via oral, uma vez por semana durante 4 semanas.
Levamisol	7.5 mg/kg PO uma vez ao dia durante 2 dias e depois 10 mg/kg durante 2 dias; 12.5 mg/kg SC durante 3 dias.
Ivermectina	200–400 mg/kg SC a cada 3 semanas, fazer 2 ou 4 tratamentos.

De forma a evitar potenciais infeções devem ser adotadas medidas profiláticas, como a aplicação mensal de moxidectina topicamente (CAPC, 2007), minimizar comportamentos que permitam o contato com o hospedeiro intermediário e a limpeza regular das fezes do animal (Ferdushy & Hasan, 2010). É indicado por Böhm, Schnyder, Thamsborg, Thompson, Trout, Wolken & Schnitzler (2014) que a administração mensal de spinosad e milbemicina oxima tem uma eficácia preventiva de 98,8% contra *A. vasorum*. Em áreas endémicas deve ser reforçada a informação aos proprietários pelas entidades veterinárias e analisar amostras fecais através da técnica de Baermann modificada (Koch & Willesen, 2009). É referido por Schnyder, Fahrion, Ossent, Kohler, Webster, Heine & Deplazes, (2009) que a utilização de spot-on com imidacloprid e moxidectina elimina o parasita adulto e L₄ presentes em cães infetados experimentalmente.

2.2.6. Potencial zoonótico

Relativamente a *A. vasorum*, segundo CAPC (2007) não apresenta risco zoonótico, porém outras espécies do género *Angiostrongylus* são patogénicas. *A. cantonensis* pode provocar gastroenterites graves e alterações a nível do SNC em humanos como meningite eosinofílica (CDC, 2010). Outro nemátode do mesmo género, *Angiostrongylus costaricensis* pode provocar gastroenterites graves pela ingestão de L₃. A infeção é caracterizada por dor abdominal, com reação inflamatória granulomatosa e vasculite eosinofílica, raramente pode ocorrer envolvimento de outros órgãos internos (Quirós, Jiménez, Bonilla, Arce, Hernández & Jiménez, 2011).

IV. ESTUDO PRÁTICO: PARASITOSSES GASTROINTESTINAIS E CARDIOPULMONARES EM CÃES. ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO EM CANIS DE PORTUGAL CONTINENTAL

1. Objetivos

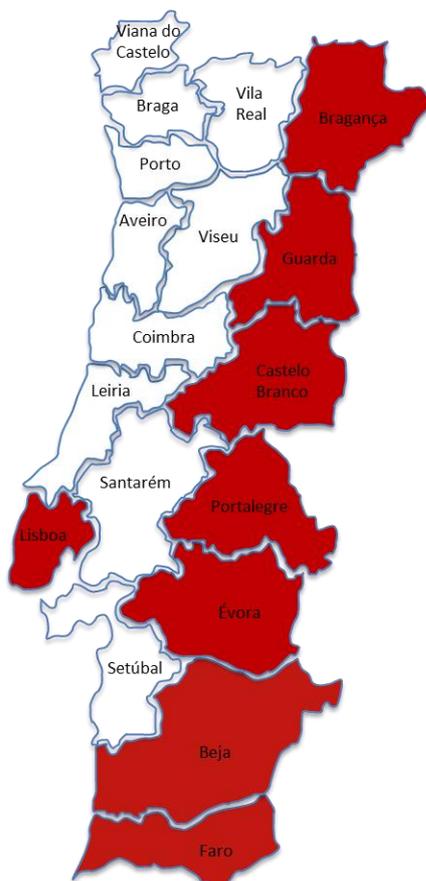
Tendo em conta que os estudos em Portugal sobre parasitoses gastrointestinais e cardiopulmonares são escassos ou desatualizados, o presente trabalho teve como objetivo estimar a prevalência de parasitas gastrointestinais e cardiopulmonares em cães de canis distribuídos por oito distritos de Portugal.

2. Material e métodos

2.1. Caracterização das áreas geográficas e do número de amostras colhidas nos diferentes distritos

Entre Maio e Setembro foram colhidas 264 amostras de sangue e 200 amostras de fezes em diferentes distritos de norte a sul de Portugal (Figura 19). Os distritos abrangidos pelo estudo foram Bragança, Guarda, Castelo Branco, Portalegre, Lisboa, Évora, Beja e Faro.

Figura 19- Distritos de Portugal abrangidos pelo estudo.



Nos canis selecionados foram colhidas o máximo de amostras fecais de sangue possíveis, considerando as limitações de tempo e de disponibilidade dos trabalhadores de cada canil. Nos oito distritos selecionado os animais para colheita de sangue foram selecionados aleatoriamente, bem como as boxes para colheita de fezes (Tabela 7).

Tabela 7- Distribuição por distrito das amostras de sangue e de fezes.

	Amostras de sangue		Amostras de fezes	
	<i>Nº de amostras</i>	<i>Frequência (%)</i>	<i>Nº de amostras</i>	<i>Frequência</i>
Bragança	26	9.8%	26	13%
Guarda	15	5.7%	15	7.5%
Castelo Branco	40	15.1%	25	12.5%
Portalegre	46	17.4%	33	16.5%
Lisboa	15	5.7%	29	14.5%
Évora	40	15.1%	20	10%
Beja	45	17.1%	29	14.5%
Faro	37	14.1%	23	11.5%
Total	264	100%	200	100%

Durante a colheita de sangue realizou-se um breve exame físico e recolheu-se informação acerca da idade, sexo, pelagem, raça, presença de lesões cutâneas, linfonodos aumentados ou doenças anteriormente diagnosticadas.

A colheita de fezes foi realizada diretamente do chão da box, não foi possível corresponder a amostra fecal ao animal de forma a recolher informações acerca do mesmo.

2.2. Colheita, transporte e acondicionamento das amostras

A colheita de sangue foi realizada na veia cefálica ou jugular com material esterilizado, recolhendo cerca de 4 ml de sangue a cada animal. Colocou-se 2 ml em tubos com EDTA e 2 ml em tubos secos, previamente identificados com o nome/número de cada animal. Após a colheita, as amostras foram acondicionadas em caixa isotérmica até à chegada ao Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV-ULisboa, onde foram de imediato centrifugadas durante 12 minutos a 2500 RPM para separação de soro e plasma sanguíneo para posterior congelação (-20°C), o restante material foi refrigerado (4°C) até posterior processamento (Figura 20).

Figura 20- A: caixa isotérmica com placas refrigeradoras no interior para acondicionamento das amostras; Direita: tubos secos e com EDTA para colheita de sangue; Em baixo: Frascos de plástico, utilizados para acondicionar material fecal.



As amostras de fezes foram colhidas no mesmo dia da colheita de sangue. As amostras fecais foram colhidas diretamente do chão da box e devido ao facto de existirem vários animais na mesma box, não foi possível fazer corresponder a amostra a cada animal. As amostras foram acondicionadas em frascos de plástico ou em sacos de plástico, previamente identificados, e acondicionados numa caixa isotérmica refrigerada. Até ao processamento e análise, as amostras foram refrigeradas a 4°C no Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV-ULisboa.

2.3. Análises Laboratoriais

2.3.1. Pesquisa de parasitas gastrointestinais:

- a) Flutuação passiva pelo método de Willis e Sedimentação natural. Adaptado de Urquhart et al. (1996).

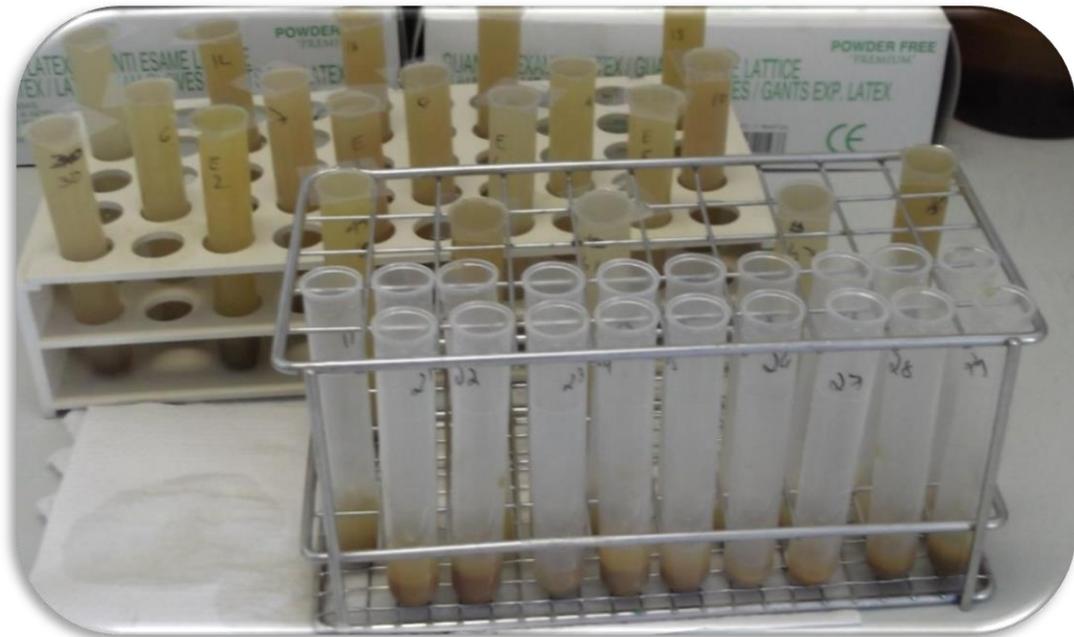
O material necessário para cada amostra incluiu um pequeno copo de vidro ou plástico, vareta de vidro, funil, passador de rede metálica, tubo de ensaio e lamela, e solução saturada de açúcar.

- No copo foi efetuada a emulsão de uma pequena quantidade de fezes (5-10g) numa solução saturada de açúcar com o auxílio da vareta até ficar homogeneizado;
- A emulsão é depois filtrada, com o passador de rede metálica, para dentro do tubo de ensaio através do funil;
- O tubo de ensaio deve ficar cheio para que se forme um menisco convexo positivo;
- Coloca-se a lamela em cima do tubo de ensaio, para que o menisco adira à lamela.

A técnica de Flutuação passiva pelo método de Willis foi realizada em simultâneo com a Técnica de Sedimentação natural (Figura 21). Tendo em conta a densidade da solução saturada de açúcar determinados ovos de parasitas gastrointestinais flutuam e outros, com densidade superior à da solução saturada, vão sedimentar no fundo do tubo de ensaio.

Após 10 a 20 minutos é retirada a lamela e é posta sob a lâmina, para observação da flutuação ao microscópio ótico na ampliação 100x. Depois o sobrenadante foi eliminado. Adicionou-se 1 ou 2 gotas de azul metileno para fornecer contraste e com uma pipeta de Pasteur retirou-se uma pequena quantidade do sedimento que se observou entre lâmina e lamela numa ampliação de 200x.

Figura 21- Técnicas de Flutuação de Willis e Sedimentação realizadas em simultâneo com solução saturada de açúcar.



2.3.2. Técnicas utilizadas para pesquisa de *Dirofilaria immitis*.

a) Teste rápido Witness® Dirofilaria

O teste Witness® Dirofilaria (Figura 22) é um teste baseado na técnica de imunomigração rápida e utiliza anticorpos contra epítopos de um antígeno solúvel do ovário das fêmeas adultas de *D. immitis*.

Figura 22- Teste rápido de imuno-migração rápida utilizado para detecção de *D. immitis*.

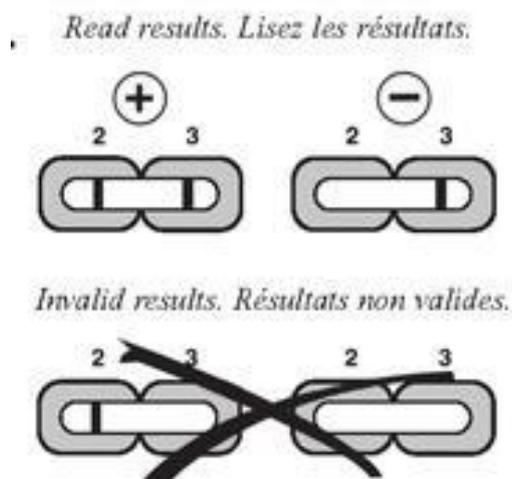
Fonte: Synbiotics Corporation (2014).



Este teste apresenta uma sensibilidade de 100% quando existe presença de duas ou mais fêmeas adultas e especificidade de 98.3% (Zoetis, 2014). É referido num estudo de Watier-Grillot, Marié, Cabre, & Davoust (2011) que os valores de especificidade variam de 71% a 95%. O teste deve ser mantido refrigerado, e pode ser utilizado soro, plasma ou sangue em EDTA ou heparina. Neste trabalho utilizaram-se amostras de sangue e os testes realizaram-se segundo as instruções de utilização indicadas pelo fabricante.

- Colocar o teste à temperatura ambiente pelo menos 10 minutos antes da utilização;
- Colocar uma gota de sangue, soro ou plasma sanguíneo na janela 1;
- Deixar que o amostra seja absorvida e depois deitar 3 gotas da solução tampão, que vem juntamente com o teste e deixar absorver;
- O teste deve ser observado e lido em 10 minutos e, para verificar se foi bem realizado a faixa de controlo deve estar sempre visível (Figura 23).

Figura 23- Método indicado no teste Witness®Dirofilaria para leitura dos resultados. Fonte: Synbiotics Corporation (2014).



- b) Técnica de Knott modificada para deteção de microfilárias. Adaptado de Zajac & Conboy (2012).

A técnica utilizada é bastante simples e económica e, após algum treino do operador, é de fácil interpretação. No estudo de Martini, Poglayen, Capelli & Roda (1991) a sensibilidade da técnica de Knott modificada foi de 91%. Contudo considera-se que é altamente específico, considerando a análise morfológica e métrica utilizada após deteção de microfilárias nas amostras. As amostras foram submetidas ao seguinte processo:

- Diluiu-se a amostra de sangue em formol a 2% (1ml de sangue em 9ml de formol a 2%).
- Centrifugou-se a amostra a 1500 rotações por minuto durante 5 minutos.
- Eliminou-se o líquido sobrenadante.
- Adicionou-se ao sedimento uma gota de Azul-de-metileno diluído na proporção de 1:1.000 em água destilada neutra. Transferir uma gota da mistura para uma lâmina e aplicar uma lamela.
- Examinou-se a preparação com uma ampliação de 100x e 400x.

Para diferenciação das microfilárias detetadas na técnica de Knott modificada recorreu-se às características morfológicas e morfométricas (Magnis et al., 2013).

2.3.3. Técnica utilizada para pesquisa de metastrongilídeos

a) Técnica de Baermann. Adaptado de Alho et al. (2013).

Esta técnica necessita de material pouco dispendioso e é muito simples de realizar. Esta é considerada a técnica *Gold Standard* para a pesquisa de larvas de metastrongilídeos. No anexo 5 está ilustrada a técnica, passo a passo.

O material necessário para o processamento de cada amostra foi um copo cónico (plástico/vidro), luvas descartáveis, gaze, colher, tesoura, elástico, vareta, pipeta, água morna, eppendorf ou tubo de centrífuga, centrífuga, microscópio (com capacidade de medição se possível), lâminas e lamelas de microscópio e soluto de lugol (facultativo).

- Identificar o copo com os dados do proprietário do animal e/ou do paciente;
- Colocar aproximadamente 10 a 15 g de fezes no centro de uma gaze e com a ajuda de um elástico, embrulhar as fezes na gaze formando uma bolsa e prendendo-a à vareta;
- Encher o copo cónico com água morna da torneira e pousar a bolsa sobre o copo, mergulhando a totalidade da amostra fecal na água;
- Deixar a amostra repousar durante 8 a 24 horas, de preferência durante a noite;
- Com a ajuda de uma pipeta, recolher cerca de 1,5 ml de sedimento do copo cónico e colocar num tubo de Eppendorf ou de centrífuga e centrifugar durante 1 a 2 minutos a uma velocidade de 1500 -2000 rpm;
- Após centrifugação, eliminar o sobrenadante com a pipeta e retirar 2 a 3 gotas de sedimento do tubo e colocá-las entre lâmina e lamela;
- Examinar ao microscópio (com o diafragma praticamente fechado) na ampliação de 100x e tentar identificar a larva com base nas suas características morfológicas e morfométricas, se necessário, adicionar 2 gotas de soluto de lugol para fixação das L₁.

Figura 24- Técnica de Baermann para pesquisa de L₁ de metastrongilídeos.



2.4. Análise estatística

Os dados obtidos foram armazenados através do programa Microsoft Office Excel 2013 e a análise estatística dos dados foi realizada com o package RCommander (Fox, 2005) do software R versão 3.1.2. (R Core Team). O teste exacto de Fisher (considerando o nível de significância de 0.05) foi utilizado para investigar a evidência de associação entre prevalências e as variáveis idade, sexo, porte e pelagem, nos animais em que foram colhidas amostras de sangue para detecção de *D. immitis*.

Para o cálculo dos intervalos de confiança de 95% das amostras parasitadas foi utilizado o método descrito por Reiczigel, Földi & Ózsvári (2010).

3. Resultados

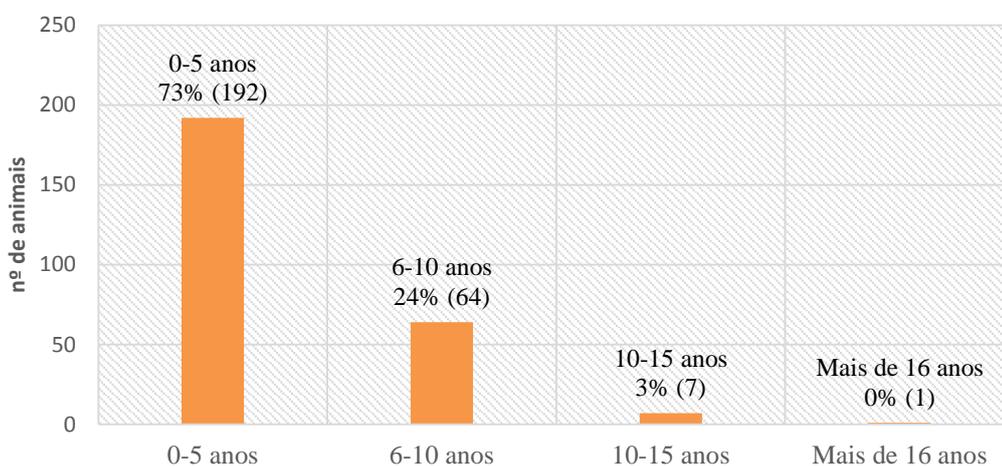
Os resultados obtidos refletem a relação entre inúmeros fatores que permitem ou não a infecção do hospedeiro com endoparasitas gastrointestinais e cardiopulmonares. O tipo de população em estudo, as análises efetuadas, as condições higiênico-sanitárias aplicadas a cada canil, incluindo o plano profilático utilizado, influenciam os resultados observados. Porém as condições climáticas são importantes, principalmente no caso de parasitas que completam os ciclos de vida no ambiente ou que estão dependentes de vetores para a sua sobrevivência e perpetuação do ciclo de vida. Segundo o Instituto Português do Mar e Atmosfera [IMPA] (2014), Portugal teve temperaturas médias entre 14°C e os 29.5°C nos meses de colheita de

amostras e precipitação média anual entre os 1.8mm e 150.6mm nos distritos alvo de colheita de amostras. Estes valores indicam condições climáticas favoráveis à manutenção de formas parasitárias no ambiente, bem como de vetores, permitindo a possível infecção de hospedeiros definitivos, neste caso o cão.

3.1. Caracterização da população de animais sujeita a colheita de sangue para pesquisa de *D. immitis*.

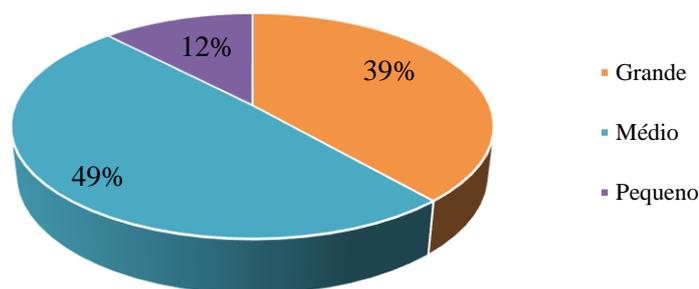
As idades dos animais sujeitos a colheita de sangue estão compreendidas entre os 6 meses e os 18 anos, a maioria dos animais tinha até 5 anos de idade, a média de idades foi de 4,2 anos e a idade mais frequente foi 2 anos de idade (Gráfico 1).

Gráfico 1- Caracterização da idade dos animais sujeitos a colheita de amostras de sangue.



Relativamente ao sexo 43,2% (114/264) eram fêmeas e 56,8% (150/264) eram machos. No que diz respeito à pelagem 51,1% (135/264) tinham pêlo curto e 48,8% (129/264) tinham pelo comprido. A maioria dos animais não tinha raça definida (93.2%), a raça mais comum foi o Podengo Português (9/264), outras raças definidas foram Cão de Gado Transmontano, Husky Siberiano, Jack Russel, Labrador, Pastor Alemão e Serra da Estrela. Relativamente ao porte a maioria apresentava porte médio 49% (130/264), seguido de porte grande 39% (102/264) e por fim os cães de pequeno porte foram 12% (32/264) (Gráfico 2).

Gráfico 2- Caracterização do porte dos animais sujeitos a colheita de sangue.



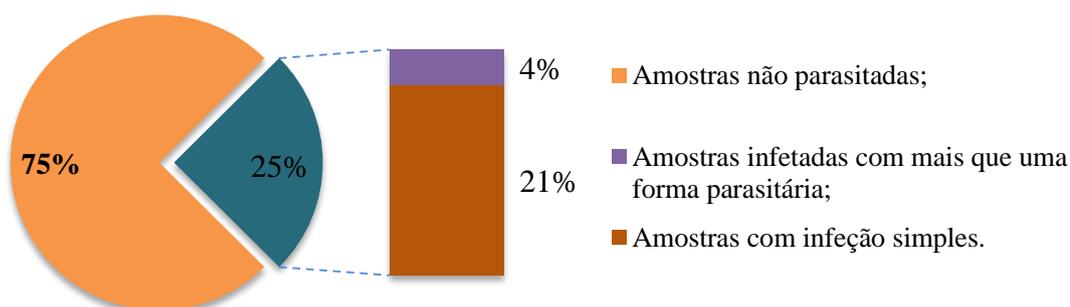
Dos 264 animais, 13.6% (36/ 264) apresentavam lesões cutâneas e 18.6% (49/264) apresentavam linfadenomegália.

3.2. Resultados da pesquisa de Parasitas Gastrointestinais

3.2.1. Resultados Globais

O número de amostras infetadas com parasitas gastrointestinais nos canis que integraram o estudo, em Portugal, foram 50/200, ou seja 25% [IC 95%: 20-31] de prevalência de amostras parasitadas. Destas 50 amostras, 8 estavam parasitadas com dois ou mais parasitas distintos (Gráfico 3).

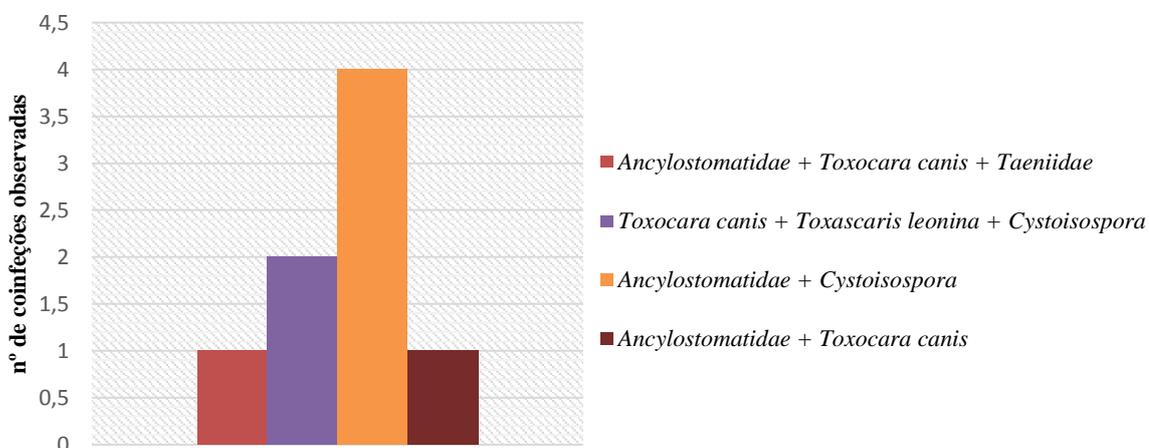
Gráfico 3- Prevalência de amostras infetadas com parasitas gastrointestinais, com infecção simples e com infecção com mais que uma forma parasitária.



As coinfeções, ou seja amostras infetadas com duas ou mais formas parasitárias, envolveram as três classes, nemátodes, céstodes e protozoários. Metade das coinfeções observadas foram pela associação *Ancylostomatidae* e *Cystoisospora* (4/8), seguido de *Toxocara canis* associado a *Toxascaris leonina* e *Cystoisospora*, correspondendo a 25% (2/8) das coinfeções. A associação de *Ancylostomatidae* com *Toxocara canis* e *Taeniidae* corresponde

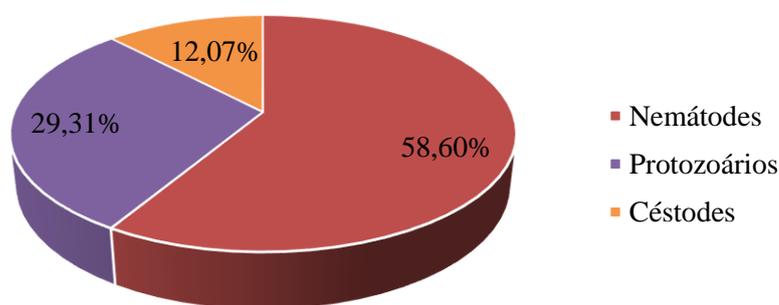
a 12,5% (1/8), tal como a associação de Ancylostomatidae e *Toxocara canis*, também com prevalência de 12,5% (1/8), como se pode observar no Gráfico 4.

Gráfico 4- Caracterização das coinfeções observadas.



A classe de parasitas gastrointestinais observada com mais frequência foi a classe dos nemátodes com prevalência de 17% (34/200), seguido dos protozoários com uma prevalência de 8,5% (17/200) e por fim os céstodes com uma prevalência de 3,5% (7/200), do total de amostras analisadas. Do total de infeções por diferentes parasitas (58), a classe dos nemátodes corresponde a 58.6% (34/58), a classe dos protozoários a 29.31% (17/58) e finalmente a classe dos céstodes a 12.07% (7/58).

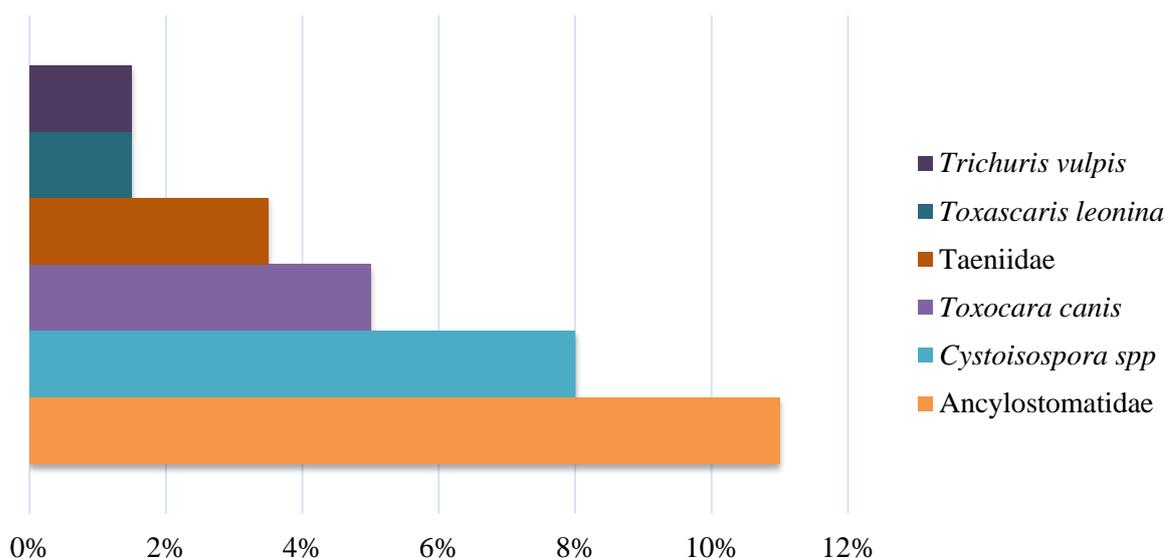
Gráfico 5- Proporção da infeção das diferentes classes de parasitas gastrointestinais observadas.



Os ovos de parasitas gastrointestinais observados foram classificados e registados, sempre que possível recorrendo à espécie, como *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina* e *Trichuris vulpis*. Relativamente a *Cystoisospora* spp. foi apenas possível identificar o género bem como, no caso de Ancylostomatidae e Taeniidae, apenas foi possível classificar a respetiva família.

Relativamente às prevalências por parasita (Gráfico 6), Ancylostomatidae detém maior prevalência com 11% (22/200), seguido de *Cystoisospora* spp. com 8% (16/200), *Toxocara canis* com 5% (10/200), Taeniidae com 3,5% (7/200) e por fim, e de igual prevalência *Toxascaris leonina* e *Trichuris vulpis* com 1,5% (3/200).

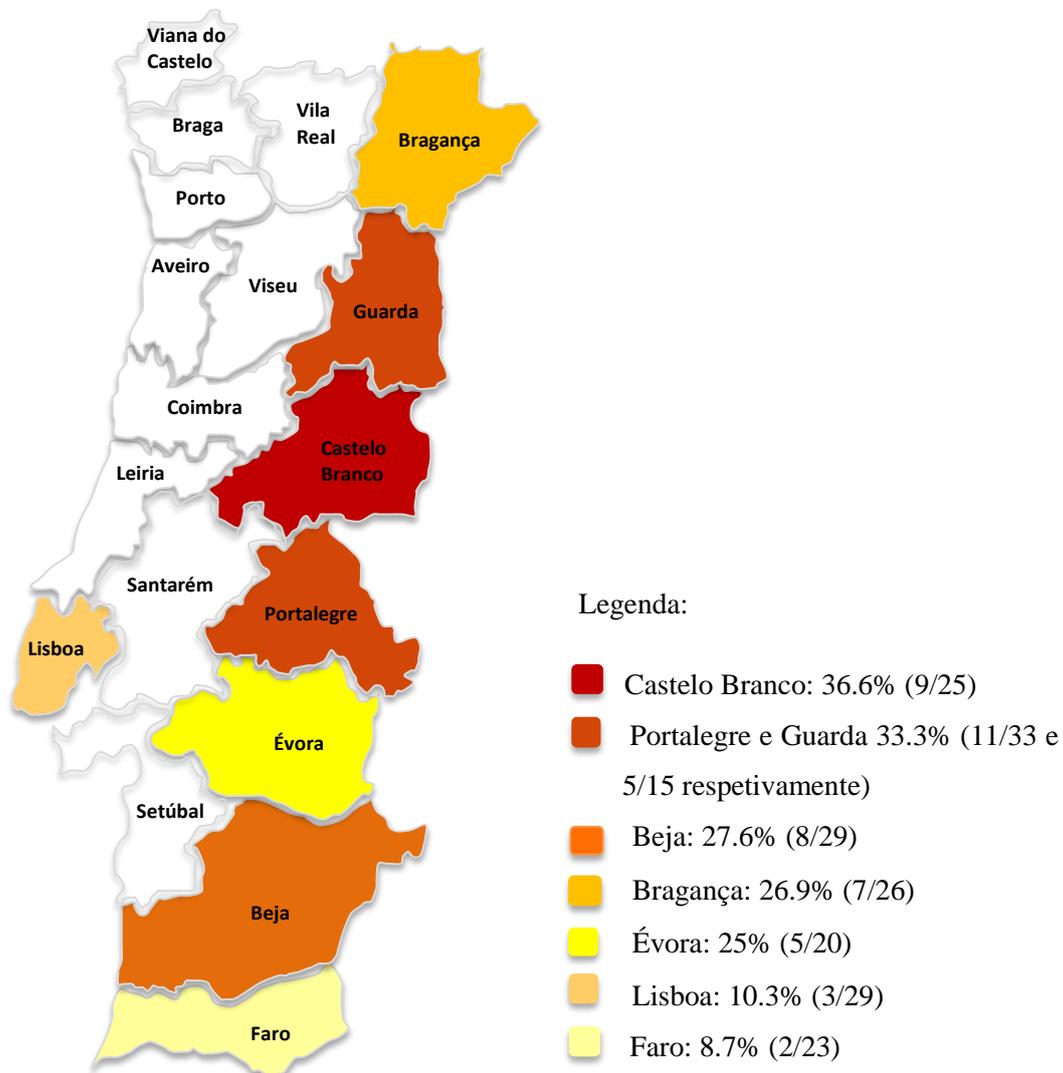
Gráfico 6- Prevalência observada de parasitas gastrointestinais no total de canis estudados, detetada pelos métodos de Flutuação de Willis e Sedimentação natural.



3.2.2. Resultados a nível distrital

A proporção de infeção foi variável nos diferentes distritos, variando entre 8.7% a 36.6% (Figura 25). O distrito com maior prevalência de parasitas gastrointestinais foi Castelo Branco com 36.6% (9/25), seguido por Portalegre e Guarda que registaram igual prevalência de amostras parasitadas, 33%, com 11/33 de amostras parasitadas em Portalegre e 5/15 no distrito da Guarda. Beja foi o terceiro distrito com maior prevalência de amostras parasitadas com 27.6% (8/29), seguido por Bragança com 26.9% (7/26), Évora com 25% (5/20) das amostras parasitadas. Em Lisboa observou-se a prevalência de 10.3% (3/29) e por último, Faro que registou uma prevalência de 8.7% (2/23) de amostras parasitadas, apresentando-se como o distrito com menor prevalência de infeção por parasitas gastrointestinais.

Figura 25- Prevalências encontradas de parasitas gastrointestinais nos canis de Portugal incluídos nos estudos.



No distrito de Castelo Branco, tal como indicado acima, a prevalência de amostras infetadas com parasitas gastrointestinais foi de 36.6%. Apenas duas classes foram detetadas, nomeadamente nemátodes 24% (6/25) e céstodes 12% (3/25). Não foram observadas amostras infetadas com mais de uma espécie parasitária. Concretamente o parasita mais comum foi *Ancylostomatidae* com uma prevalência de 20% (5/25), seguido de *Taeniidae* com 12% (3/25), e por fim *Trichuris vulpis* com 4% (1/25).

No distrito da Guarda (Tabela 8) as infeções foram provocadas pelas três classes de parasitas com uma prevalência de infeção por nemátodes de 20% (3/15), por céstodes de 6.67% (1/15) e por protozoários de 13.3% (2/15). Duas amostras (13.3%) apresentaram infeção por mais que uma forma parasitária. Uma das amostras apresentou infeção por *Ancylostomatidae* e

Toxocara canis, a outra amostra apresentou infecção por *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina* e *Cystoisospora*. Ancylostomatidae, *Toxocara canis* e *Cystoisospora* foram os parasitas mais frequentes com prevalência de 13.3% (2/15), seguido por *Toxascaris leonina* e Taeniidae com prevalência de 6.67% (1/15).

Tabela 8- Caracterização da infecção por parasitas gastrointestinais no distrito da Guarda.

Parasita (s)	Prevalência (%)/ Frequência.	IC 95%
Ancylostomatidae	13.3% (2/15)	[1.4-39.2]
<i>Toxocara canis</i>	13.3% (2/15)	[1.4-39.2]
<i>Toxascaris leonina</i>	6.67% (1/15)	[0-29.8]
<i>Cystoisospora</i> spp.	13.3% (2/15)	[1.4-39.2]
Taeniidae	6.67% (1/15)	[0-29.8]
Ancylostomatidae + <i>T. canis</i>	6.67% (1/15)	[0-29.8]
<i>T. canis</i> + <i>T. leonina</i> + <i>Cystoisospora</i> spp.	6.67% (1/15)	[0-29.8]

O distrito de Portalegre registou a mesma prevalência de infecção por parasitas gastrointestinais que o distrito da Guarda, 33.3% (11/33). Os protozoários foram a classe registada com mais frequência 21.2% (7/33), seguida pelos nemátodes com 15.1% (5/33). Não foram observadas formas parasitárias pertencentes à classe cestoda. Uma das amostras apresentava-se com infecção mista por Ancylostomatidae e *Cystoisospora* (3%). O parasita mais frequente foi a coccídia do género *Cystoisospora* com uma prevalência de 21.2% (7/33), seguido por Ancylostomatidae com 9,1% (3/33) e por fim *Trichuris vulpis* com 3% (1/33) (Tabela 9).

Tabela 9- Caracterização da infecção por parasitas gastrointestinais no distrito de Portalegre.

Parasita (s)	Prevalência (%)/ Frequência.	IC 95%
<i>Cystoisospora</i> spp.	21.2% (7/33)	[8.8-37.5]
Ancylostomatidae	9,1% (3/33)	[1.5-23]
<i>Trichuris vulpis</i>	3% (1/33)	[0-15]
Ancylostomatidae + <i>Cystoisospora</i> spp.	3% (1/33)	[0-15]

Em Beja 8 das 29 amostras apresentaram-se parasitadas (27.6%), das quais cinco são infeções mistas (17.2%). A infeção por nemátodes foi a mais frequente com prevalência de 24.1% (7/29), os protozoários corresponderam a 13.8% (4/29) das infeções e, por fim a classe cestoda corresponde a 6.9% (2/29) das infeções.

As infeções mistas correspondem a 63% do total de infeções por parasitas gastrointestinais em Beja, sendo o distrito com maior número de infeções mistas. A associação de Ancylostomatidae e *Cystoisospora* corresponde a 60% (3/5) das coinfeções, ou seja 10.3% (3/29) do total de amostras. A infeção por *Toxocara canis* com *Toxascaris leonina* e *Cystoisospora* corresponde a 20% (1/5) das coinfeções e a 3.4% (1/29) do total de amostras, tal como a infeção por Ancylostomatidae com *Toxocara canis* e Taeniidae (Tabela 10).

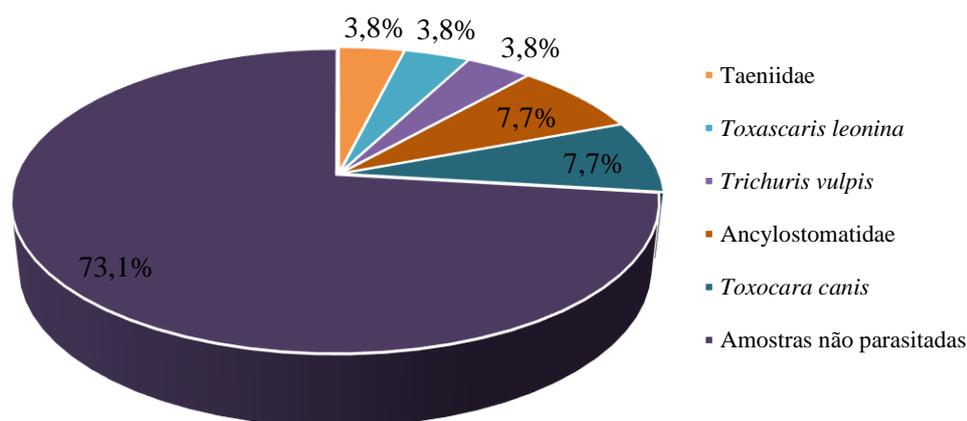
Ancylostomatidae foi o parasita mais frequente com uma prevalência de 17.2% (5/29), seguido por *Cystoisospora* com 13.8% (4/29). *Toxocara canis* registou uma prevalência de 10.3% (3/29), e Taeniidae 6.9% (2/29), por fim *Toxascaris leonina* teve uma prevalência de 3.4% (1/29).

Tabela 10- Caracterização da infeção por parasitas gastrointestinais no distrito de Beja.

Parasita (s)	Prevalência (%)/ Frequência	IC 95%
Ancylostomatidae	17.2% (5/29)	[6.2-35.4]
<i>Cystoisospora</i> spp.	13.8% (4/29)	[3.9-30.1]
<i>Toxocara canis</i>	10.3% (3/29)	[1.9-26.4]
Taeniidae	6.9% (2/29)	[0.2-21.1]
<i>Toxascaris leonina</i>	3.4% (1/29)	[0-15.9]
Ancylostomatidae + <i>Cystoisospora</i> spp.	10.3% (3/29)	[1.9-26.4]
<i>T. canis</i> + <i>T. leonina</i> + <i>Cystoisospora</i> spp.	3.4% (1/29)	[0-15.9]
Ancylostomatidae + <i>T. canis</i> + Taeniidae	3.4% (1/29)	[0-15.9]

No distrito de Bragança (Gráfico 7) observou-se 26.9% (7/26) de amostras infetadas com parasitas gastrointestinais, não se observando coinfeção. A maioria das infeções foram por nemátodes, 23% (6/26), e 3.8% (1/26) por céstodes. Não se registaram infeções por protozoários em Bragança. Ancylostomatidae e *T. canis* foram os parasitas mais frequentes, com uma prevalência de 7.7% (2/26). *T. leonina*, *T. vulpis* e Taeniidae tiveram igual prevalência, nomeadamente 3.8% (1/26).

Gráfico 7- Caracterização da infecção por parasitas gastrointestinais no distrito de Bragança.



Em Évora 25% das amostras apresentaram-se parasitadas, todas foram provocadas por nemátodes gastrointestinais. Não foram observadas infecções por mais que um parasita. Os nemátodes responsáveis pela infecção pertencem à família Ancylostomatidae, com uma prevalência de 20% (4/20), e à espécie *T. canis* com prevalência de 5% (1/20) (Tabela 11).

Lisboa apresentou uma prevalência de 10.34% (3/29) de amostras parasitadas, correspondendo a 6.9% (2/29) de infecção por coccídias e 3.45% (1/29) de nemátodes. Não se observou infecções mistas ou provocadas por parasitas pertencentes à classe Cestoda. A infecção mais frequente foi por *Cystoisospora* com 6.9% (2/29). E registou-se uma prevalência de *T. canis* de 3.45% (1/29) (Tabela 12). Não foram observadas outras formas parasitárias.

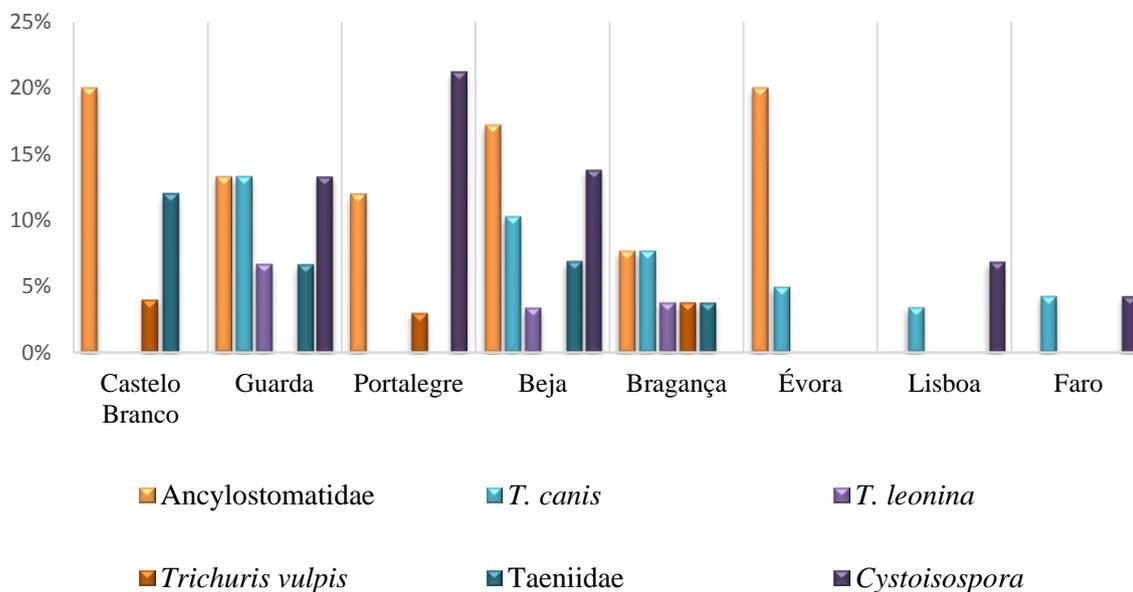
Tabela 11- Caracterização da infecção por parasitas gastrointestinais nos distritos de Évora, Lisboa e Faro.

	Parasita (s)	Prevalência (%) / Frequência	IC 95%
Évora	Ancylostomatidae	20% (4/20)	[6.3-42]
	<i>Toxocara canis</i>	5% (1/20)	[0-23.4]
Lisboa	<i>Cystoisospora</i> spp.	6.9% (2/29)	[0.2-21.1]
	<i>Toxocara canis</i>	3.45% (1/29)	[0-15.9]
Faro	<i>Cystoisospora</i> spp.	4.3% (1/23)	[0-20]
	<i>Toxocara canis</i>	4.3% (1/23)	[0-20]

O distrito de Faro foi o que apresentou menor prevalência de infecção, com 8.7% (2/23) de amostras parasitadas. As infecções foram simples, ou seja, apenas por um agente parasitário, nomeadamente *Cystoisospora*, com uma prevalência de 4.3% (1/23) e, igualmente *Toxocara*

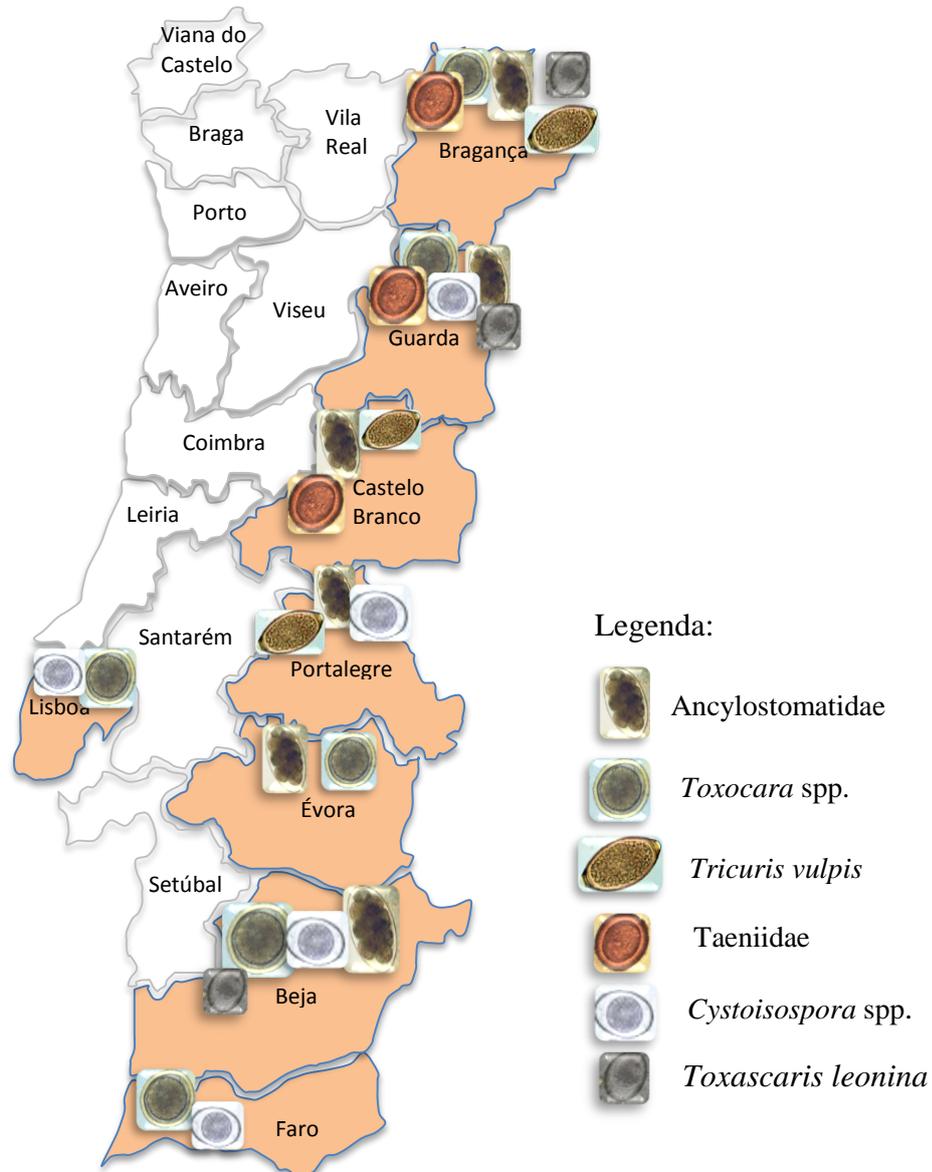
canis com 4.3% (1/23) de prevalência. Deste modo, metade das infecções foram provocadas por nemátodes e os restantes 50% correspondem a infecção por coccídias (Tabela 12).

Gráfico 8- Prevalência de parasitas gastrointestinais observada nos canis dos diferentes distritos.



Através do gráfico 8 é possível afirmar que *Ancylostomatidae* e *Cystoisospora* spp. têm, consideravelmente, maior prevalência que os restantes parasitas indicados. *Ancylostomatidae* e *Toxocara canis* apresentam maior distribuição geográfica, tendo em conta que surgem em seis dos oito distritos, seguido por *Cystoisospora* spp. surgindo em cinco distritos e *Taeniidae* em quatro dos oito distritos. *Trichuris vulpis* e *Toxascaris leonina* aparecem apenas em três distritos. Considerando a diversidade de formas parasitárias, os distritos que apresentaram mais diversidade foram os distritos da Guarda, Beja e Bragança, com cinco parasitas distintos. Com três formas parasitárias distintas surgem os distritos de Castelo Branco e Portalegre e, por fim, os distritos de Évora, Lisboa e Faro apresentaram apenas duas formas parasitárias. Os distritos que apresentaram coinfeções, nomeadamente Beja (17.2%), Guarda (13.3%) e Portalegre (3%) apresentam elevada diversidade de formas parasitárias intestinais, principalmente Beja e Guarda, que registaram elevadas taxas de infecções mistas.

Figura 26- Distribuição dos parasitas gastrointestinais pelos diferentes distritos.



3.2.3. Resultados por parasita

A infeção mais comum foi por helmintes pertencentes à família Ancylostomatidae. A prevalência mais alta registou-se no distrito de Castelo Branco e  vora, com 20% das amostras positivas. O distrito com a segunda prevalência mais alta foi Beja com 17,2%, seguido da Guarda com 13,3%, Portalegre com 12% e por fim Bragança com 7,7%. Nos distritos de Lisboa e Faro não foram observadas infeções por Ancylostomatidae (Tabela 13). Relativamente a *Toxocara canis*, a prevalência mais alta observou-se no distrito da Guarda, com 13,3% das amostras parasitadas, seguido pelo distrito de Beja com 10,3%, Bragança com 7,7%,  vora com 5%, Faro com 4,3% e por fim a prevalência de 3,45% em Lisboa. Em Castelo Branco e Portalegre não se registou a presença de *T. canis* (Tabela 12).

Toxascaris leonina foi observada em três distritos, Guarda teve a prevalência mais alta com 6.67%, seguido de Bragança com 3.8% e por fim Beja com uma prevalência de 3.4%. Os distritos de Castelo Branco, Portalegre, Lisboa, Évora e Faro não registaram qualquer infecção por *T. leonina* (Tabela 12).

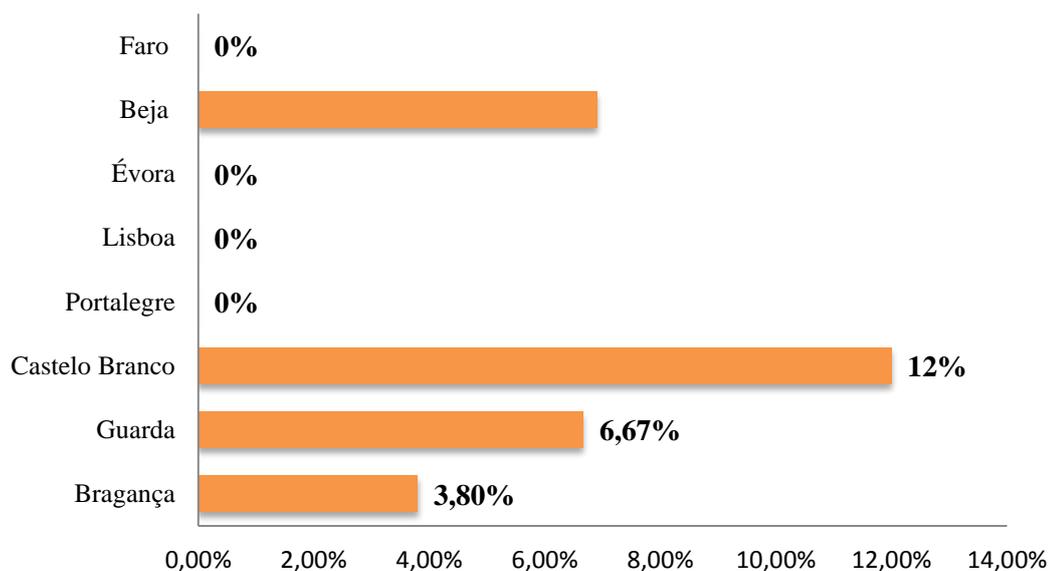
Tal como *T. leonina*, *Trichuris vulpis* foi observado em três distritos, o distrito com maior prevalência foi Castelo Branco com 4%, seguido de Bragança com 3.8% e por fim, Portalegre com uma prevalência de 3%. Assim, não se registou a presença de *T. vulpis* no distrito da Guarda, Lisboa, Évora, Beja e Faro (Tabela 12).

Tabela 12- Prevalência de nemátodes nos diferentes distritos.

	Ancylostomatidae	<i>T. canis</i>	<i>T. leonina</i>	<i>T. vulpis</i>
Bragança (n= 26)	7.7% (2/26)	7.7% (2/26)	3.8% (1/26)	3.8% (1/26)
[IC 95%]	[0.4%-23.6%]	[0.4%-23.6%]	[0-17.6%]	[0-17.6%]
Guarda (n=15)	13.3% (2/15)	13.3% (2/15)	6.67% (1/15)	-
[IC 95%]	[1.4%-39.2%]	[1.4%-39.2%]	[0-29.8%]	
Castelo Branco (n=25)	20% (5/25)	-	-	4% (1/25)
[IC 95%]	[7.4%-39.5%]			[0-18.4%]
Portalegre (n=33)	9.1% (3/33)	-	-	3% (1/33)
[IC 95%]	[1.5%-23%]			[0-15%]
Lisboa (n=29)	-	3.45% (1/29)	-	-
[IC 95%]		[0-15.9%]		
Évora (n=20)	20% (4/20)	5% (1/20)	-	-
[IC 95%]	[6.3%-42%]	[0-23.4%]		
Beja (n=29)	17.2% (5/29)	10.3% (3/29)	3.4% (1/29)	-
[IC 95%]	[6.2%-35.4%]	[1.9%-26.4%]	[0-15.9%]	
Faro (n=23)	-	4.3% (1/23)	-	-
[IC 95%]		[0-20.1%]		

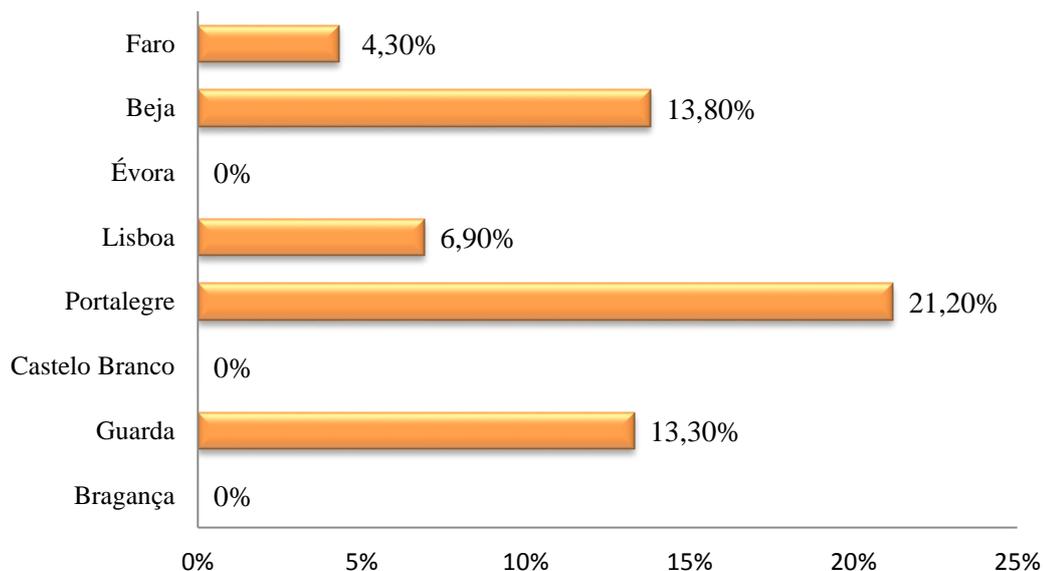
Relativamente à classe Cestoda, apenas parasitas da família Taeniidae foram observados, não sendo encontradas formas parasitárias de *Dipylidium caninum*. O distrito com prevalência mais elevada de Taeniidae foi Castelo Branco com 12%, seguido do distrito de Beja com 6.9%, Guarda com uma prevalência de 6.67% e por fim Bragança com 3.8%. Os distritos de Portalegre, Lisboa, Évora e Faro não registaram qualquer ocorrência de parasitas desta família (Gráfico 9).

Gráfico 9- Prevalência de Taeniidae nos diferentes distritos.



O género *Cystoisospora* detém a prevalência mais alta após Ancylostomatidae, estando presente em cinco dos oito distritos e com prevalências relativamente elevadas. O distrito que registou prevalência mais elevada foi Portalegre, com 21.2% das amostras positivas ao género *Cystoisospora*. De seguida Beja apresenta uma prevalência de 13.8%, Guarda com 13.3%, Lisboa com 6.9% e por fim Faro com 4.3%. Os restantes distritos, Bragança, Castelo Branco e Évora não registaram infeções por este género (Gráfico 10).

Gráfico 10- Distribuição da prevalência de *Cystoisospora* pelos diferentes distritos.



3.3. Resultados da pesquisa de Parasitas Cardiopulmonares

3.3.1. Resultados da pesquisa de Filariose Cardiopulmonares a nível global e nos diferentes distritos

Como indicado anteriormente, a pesquisa de filariose cardiopulmonares foi realizada com recurso ao teste rápido de deteção de antígeno de *D. immitis* e pela técnica de Knott modificada, contudo esta última técnica também deteta a presença que outras microfilárias circulantes no sangue periférico como *Acanthocheilonema reconditum*, *Acanthocheilonema drancunloides* e *D. repens*.

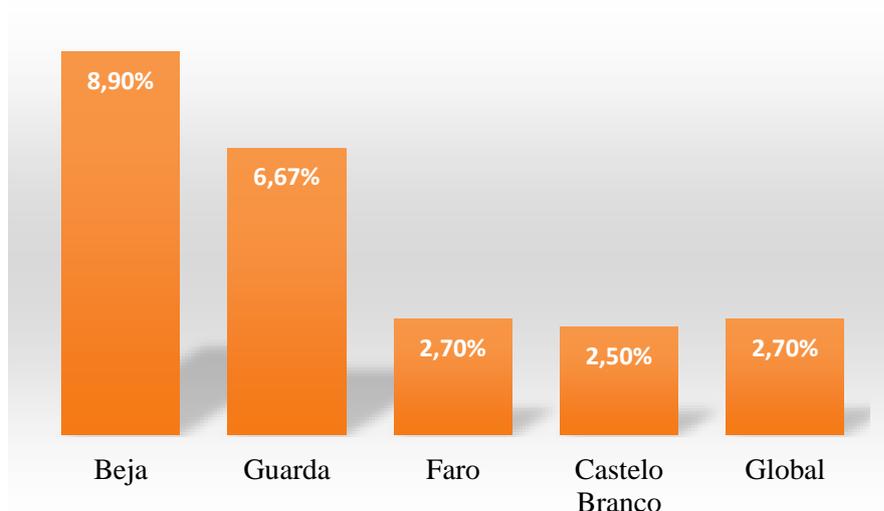
A prevalência global observada de *D. immitis* em Portugal foi de 2,7% (7/264), sendo detetada nos distritos da Guarda, Castelo Branco, Beja e Faro. O teste rápido Witness®Dirofilaria assinalou quatro amostras positivas (1,5%). Ao teste e Knott modificado, foram detetadas sete amostras positivas a microfilárias das quais, após análises morfológicas e medições, conclui-se que três pertenciam ao género *Acanthocheilonema*. Não foram detetadas outras espécies de microfilárias.

Das sete amostras positivas a *D. immitis* apenas uma foi positiva em ambos os testes (técnica de Knott e Witness®Dirofilaria), três amostras foram positivas apenas no teste rápido Witness®Dirofilaria e três amostras foram positivas apenas através da técnica de Knott modificada.

O distrito em que se notou maior prevalência de *Dirofilaria immitis* foi Beja com 8.9% (4/45) dos animais infetados. Das quatro amostras positivas, uma apresentou-se amicrofilarémica sendo positivo ao teste rápido, uma amostra foi positiva nos dois testes utilizados e duas amostras foram negativas ao teste rápido, mas detetou-se a presença de microfilárias pertencentes à espécie *D. immitis*. Duas amostras foram positivas a *Acanthocheilonema* spp.

O distrito da Guarda registou uma prevalência de 6.67% (1/15) de *Dirofilaria immitis*. A amostra positiva foi detetada através da técnica de Knott modificada. O distrito de Faro apresentou uma prevalência de *D. immitis* de 2.7% (1/37), apresentando-se a amostra amicrofilarémica e portanto, a infeção foi detetada através do teste rápido Witness®Dirofilaria. Através da técnica de Knott modificada identificou-se uma amostra com *Acanthocheilonema* spp. No distrito de Castelo Branco a prevalência de *D. immitis* foi de 2.5% (1/40), a amostra positiva encontrava-se amicrofilarémica, sendo detetada a infeção através do teste rápido. Nos distritos de Bragança, Portalegre, Lisboa e Évora não foi observada qualquer amostra positiva a *D. immitis* ou outras espécies de microfilárias circulantes (Gráfico 11).

Gráfico 11- Prevalência de *D. immitis* nos diferentes distritos e globalmente.



Dos sete animais positivos a *D. immitis*, seis eram do sexo feminino (6/7) e apenas um era do sexo masculino (1/7). Desta forma, a prevalência observada em animais do sexo feminino foi de 5.26% (6/114) e, no sexo masculino foi de 0.67% (1/150) (Tabela 13), com uma relação de machos/fêmeas de 1/6.

Relativamente à idade, quatro animais positivos a *D. immitis* tinham idades até cinco anos, e os restantes três animais positivos tinham idades compreendidas entre os 11-15 anos. Animais com idades entre os 6 e 10 anos e com idades superior a 16 anos não registaram qualquer infeção. A prevalência de *D. immitis* em animais com idade até 5 anos é de 2.1% (4/192) e a prevalência em animais com idades entre os 11 e 15 anos foi de 42.9% (3/7) (Tabela 13).

No que diz respeito à pelagem três animais positivos apresentavam pêlo curto, 2.2% (3/135) e quatro apresentavam pêlo comprido, 3.1% (4/129). Relativamente a animais de grande porte 4.6% (5/103) eram positivos a *D. immitis*, bem como 1.5% (2/130) dos animais de porte médio. Não se registaram animais positivos de pequeno porte (Tabela 13).

Tabela 13- Prevalência de animais infetados com *D. immitis*, consoante diferentes características: sexo, idade, pêlo e porte.

		Positivo	Negativo	Teste de Fisher
Sexo	Macho	0.67% (1/150) [0-2.5%]	99.3% (149/150) [97.5%-100%]	p= 0,045
	Fêmea	5.26% (6/114) [1.3%-10.3%]	94.7% (108/114) [89.7%-98.7%]	
Idade	0-5 Anos	2.1% (4/192) [0-4.3%]	97.9% (188/192) [95.7%-100%]	p= 6,8 x 10⁻⁴
	6-10 Anos	0% (0/64)	100% (64/64)	
	11-15 Anos	42.9% (3/7) [12.1%-78%]	57.1% (4/7) [22%-87.9%]	
	Mais de 16 anos	0% (0/1)	100% (1/1)	
Pêlo	Curto	2.2% (3/135) [0-5.5%]	97.8% (132/135) [94.5%-100%]	p= 0,7174
	Comprido	3.1% (4/129) [0.1%-6.6%]	96.9% (125/129) [93.4%-99.9%]	
Porte	Grande	4.9% (5/102) [1%-10.1%]	95.1% (97/102) [89.9%-99%]	p= 0,24
	Médio	1.5% (2/130) [0-4.5%]	98.5% (128/130) [95.5%-100%]	
	Pequeno	0% (0/32)	100% (32/32)	

3.3.2. Resultados da pesquisa de metastrongilídeos em Portugal

A pesquisa de L₁ de metastrongilídeos foi realizada através da técnica de Baermann com material fecal colhido no mesmo dia da colheita de sangue para pesquisa de filarioses cardiopulmonares. Após o processamento e análise das 200 amostras fecais, não foram observados estádios larvares de nemátodes pulmonares através da Técnica de Baermann. Detetou-se presença de nemátodes de vida livre em duas amostras fecais.

4. Discussão

4.1. Parasitas Gastrointestinais

Durante o presente trabalho procedeu-se à colheita e análise qualitativa de 200 amostras fecais e a prevalência global de parasitas gastrointestinais foi de 25% [IC 95%: 20-31] ou seja, 50 amostras encontravam-se parasitadas com um ou mais parasitas gastrointestinais. Estudos realizados em regiões limitadas de Portugal indicam prevalências de parasitas GI semelhantes. A prevalência observada no distrito de Lisboa em 2011, num estudo realizado em vários cães da cidade foi de 24.6% de amostras com parasitas gastrointestinais (Lebre, 2011). Na região de Ponte de Lima, Norte de Portugal foi observada a prevalência de 63.17% em amostras

fecais de animais provenientes de ambientes rurais, cães de caça e amostras fecais colhidas em espaços públicos (Mateus, Castro, Ribeiro & Vieira-Pinto, 2014). A prevalência mais alta registou-se em cães de caça (81.19%), seguido das amostras colhidas em espaços públicos (59.8%) e por fim os cães de áreas rurais (57.44%). Também na região rural de Cantanhede a prevalência registada foi de 58.8% (Cardoso, Costa, Figueiredo, Castro & Conceição, 2014), e na região metropolitana do Porto, animais sem sintomatologia gastrointestinal apresentaram prevalência de 20.6% e animais com sintomatologia gastrointestinal 33.7% (Neves, Lobo, Simões, Cardoso, 2014). Na vila de Óbidos, no distrito de Leiria, região centro, a prevalência observada foi de 50% (Crespo, Rosa & Almeida, 2010) e em Santarém, também na região centro a prevalência foi inferior, concretamente de 13.8% (Crespo, Rosa & Almeida, 2011). Na cidade de Évora a prevalência registada foi de 39.2% (Ferreira et al., 2011). Um estudo realizado em canídeos silvestres região norte de Portugal, considerados importantes na manutenção da endemicidade de parasitoses gastrointestinais e outras doenças infecciosas, a prevalência de parasita GI observada foi 72.9% (Silva, 2010). Considerando os estudos realizados por Silva (2010) e Mateus et al. (2014) na região Norte de Portugal, a elevada prevalência em canídeos silvestres e cães de caça sugere que a partilha de espaços durante as épocas de caça permite que se perpetue a transmissão de parasitas gastrointestinais entre estes dois grupos de canídeos. Em Espanha um estudo revelou a prevalência de 71.39% de parasitas gastrointestinais em cães que foram levados ao Centro de Controlo Animal de Córdoba. Através das técnicas coprológicas verificou-se a prevalência de 68.53%, contrastando com animais sujeitos a necrópsia, registando nestes a prevalência de 85.67% (Martínez-Moreno, 2007), revelando que a necrópsia apresenta maior sensibilidade que técnicas coprológicas usualmente utilizadas.

Apesar da elevada densidade animal presente nos canis de Portugal os animais não apresentam acesso completamente livre a espaços exteriores, quando se compara com cães de caça ou canídeos silvestres, e deve considerar-se também que, provavelmente existe desparasitação ocasional, conforme a entrada no canil ou quando os animais apresentam sinais clínicos sugestivos de parasitismo gastrointestinal, daí que a prevalência neste estudo seja menor que nos estudos de Mateus et al. (2014), e de Silva (2010). As condições ambientais dos animais no estudo efetuado por Lebre (2011) são semelhantes às condições dos animais abrangidos neste estudo justificando a semelhança de resultados. A prevalência de parasitas gastrointestinais em canis de Portugal, avaliada no presente estudo, encontra-se entre as prevalências registadas anteriormente em estudos realizados em áreas geográficas menores: 13.8% (Crespo et al., 2011) a 63.17% (Mateus et al., 2014), ainda que possa existir variação nas condições ambientais e manifestações clínicas dos animais avaliados.

Das classes observadas, a mais predominante foi a classe dos nemátodes com uma prevalência de 17%, seguido dos protozoários com 8.5% e, por fim, os céstodes com uma prevalência de 3.5%. Segundo Urquhart et al. (1996) e Bowman (2009) os nemátodes representam a classe com maior prevalência em canídeos domésticos e deve-se ter em especial atenção o facto de algumas espécies desta classe apresentarem elevada importância em de Saúde Pública. Este estudo confirma a elevada prevalência desta classe também em canis Portugal. A facilidade de infecção entre hospedeiros definitivos é elevada no caso dos nemátodes e protozoários, pois não existe a necessidade de um hospedeiro intermediário para completar o ciclo de vida. A necessidade de hospedeiros intermediários, no caso dos céstodes, permite que possam existir interferências no ciclo de vida, quando deixam de existir condições viáveis para a presença do hospedeiro intermediário (p.e. exterminação de pulgas no caso de *Dipylidium caninum*). A necessidade de hospedeiros intermediários pode ser uma das razões para a prevalência dos céstodes ser relativamente inferior.

Outros estudos confirmam esta prevalência relativa entre classes, segundo Mateus et al. (2014) os nemátodes são a classe mais prevalente, seguido dos protozoários e céstodes com prevalências respetivas de 29.32%, 3.18% e 0.92%. No estudo realizado em Córdoba, Espanha (Martínez-Moreno, 2007) os nemátodes também foram a classe predominante, seguido dos protozoários e, por fim, os céstodes, com prevalências de 33.27%, 31.83% e 15.77% respetivamente. Em alguns estudos os protozoários foram a classe com maior prevalência, contudo os nemátodes também apresentaram prevalência relativamente alta (Ferreira et al., 2011) (Neves et al., 2014). Segundo Ferreira et al. (2011) a elevada prevalência de protozoários pode ser explicada pelo facto dos produtos comumente utilizados para desparasitação interna não apresentarem total eficácia contra parasitas desta classe.

Através das técnicas de flutuação e sedimentação fecal observou-se que helmintes da família Ancylostomatidae apresentaram a prevalência mais elevada, com 11%. Estudos realizados em Portugal mostram prevalências semelhantes, encontrando-se este parasita constantemente entre os mais prevalentes. Em Évora (Ferreira et al., 2011) a prevalência de Ancylostomatidae foi de 6.1% e no estudo realizado na região de Lisboa (Lebre, 2011) a prevalência foi de 9.5%. Outros estudos internacionais apresentam valores semelhantes nomeadamente Fontanarrosa et al. (2006) e Funada et al. (2007), indicados no Anexo 1. Na região do Porto (Neves et al., 2014) não se registou a presença de Ancylostomatidae e, na região centro-norte, Cantanhede (Cardoso et al., 2014) foi registada uma prevalência substancialmente superior, de 40.9%, provavelmente por ser uma região rural, sem limpeza regular de áreas contaminados com ovos de Ancylostomatidae e pela possibilidade de existir elevada densidade de cães de pastoreio ou de caça. Em Ponte de Lima (Mateus et al., 2014), na região

norte, registou-se uma prevalência substancialmente elevada, principalmente em cães de caça com 70.3% das amostras com Ancylostomatidae, quando comparado com amostras colhidas em jardins públicos (44.59%) e cães de quintas (31.28%). Outros estudos revelaram prevalências inferiores (Barutzki & Schaper, 2011) (Pullola, Vierimaa, Saari, Virtala, Nikander & Sukura, 2006).

Os distritos que apresentaram maior prevalência foram Castelo Branco e Évora, com 20% das amostras positivas, seguido de Beja com 17,2%, Guarda com 13.3%, Portalegre com 9.1% e por fim Bragança com 7.7%. Nos distritos de Lisboa e Faro não foram observadas infeções por Ancylostomatidae. Estes resultados apresentam diferenças consideráveis relativamente aos estudos acima referidos. A prevalência observada em Évora foi francamente superior á observada por Ferreira et al. (2011). As diferenças observadas poderão ser justificadas pela elevada densidade animal no canil onde se realizou a colheita de amostras do presente estudo, deficientes medidas higiénicas e de desinfeção, acompanhado de um protocolo de desparasitação ineficiente. O resultado nulo em Lisboa é inferior ao observado por Lebre (2011), contudo deve considerar-se que os resultados estão dependentes das condições higiénicas e sanitárias a que os animais estão expostos, bem como dos protocolos de desparasitação interna em curso no momento da colheita de amostras. Relativamente ao canil de Lisboa sabe-se que recentemente decorreram remodelações das instalações, implementação de medidas higiénicas mais rigorosas e os animais são vacinados e desparasitados interna e externamente à entrada e mantidos em quarentena durante um ou dois meses, conforme a indicação do médico veterinário responsável. Para além desta alteração, o estudo de Lebre (2011) incluiu outros canis da cidade de Lisboa, com uma densidade de animais muito mais elevada. A variação das prevalências nos canis de Lisboa reforça a importância das medidas higiénico-sanitárias, implementação de períodos de quarentena e protocolos de desparasitação eficazes.

As coccídias do género *Cystoisospora* apresentaram uma prevalência de 8%, sendo o segundo parasita observado com maior frequência. O distrito que registou prevalência mais elevada foi Portalegre, com 21.2% das amostras positivas a género *Cystoisospora*. De seguida Beja apresenta uma prevalência de 13.8%, Guarda com 13.3%, Lisboa com 6.9% e por fim Faro com 4.3%. Os restantes distritos, Bragança, Castelo Branco e Évora não registaram infeções por esta coccídia. Em determinados estudos este parasita regista prevalências elevadas sendo o primeiro ou o segundo encontrado com maior frequência. Em Portugal os valores mais próximos registaram-se no Porto (Neves et al., 2014), que apresentou uma prevalência igual, de 8%. No distrito de Lisboa (Lebre, 2011) a prevalência foi de 12.1% e em Évora de 5.4% (Ferreira et al., 2011). Em Cantanhede, na região centro-norte de Portugal, a prevalência foi

mais baixa, de 4% (Cardoso et al., 2014). Na região de Ponte de Lima a prevalência observada foi de 1.54% em cães de quinta, 3.04% em amostras colhidas de jardins públicos e 4.95% em cães de caça (Mateus et al., 2014). As infecções por *Cystoisospora* spp. são bastante comuns, particularmente em animais jovens (Lappin, 2010), a sua distribuição é mundial (Bowman 2009). Estudos publicados indicam que infecções por coccídias deste género estão presentes em 3-38% dos cães e 36% dos gatos na América do Norte (CDC, 2013). No presente estudo o género *Cystoisospora* foi o segundo parasita com maior distribuição geográfica, estando presente em cinco dos oito distritos (62.5%).

Toxocara canis obteve uma prevalência global de 5%, a prevalência mais alta observou-se no distrito da Guarda, com 13.3% das amostras parasitadas, seguido pelo distrito de Beja com 10.3%, Bragança com 7.7%, Évora com 5%, Faro com 4.3% e por fim a prevalência de 3.45% em Lisboa. Em Castelo Branco e Portalegre não se registou a presença de *T. canis*.

Ancylostomatidae e *Toxocara canis* apresentam maior distribuição geográfica, tendo em conta que surgem em 75% (6/8) dos distritos abrangidos pelo estudo.

Estudos realizados em Portugal apresentaram prevalências de *T. canis* entre os 2% e 11%, verificou-se prevalências superiores na região norte, nomeadamente no Porto com prevalência de 5.1% (Neves et al., 2014), Cantanhede com prevalência de 8% (Cardoso et al., 2014), e Ponte de Lima com prevalências entre os 7.43% e os 10.89% (Mateus et al., 2014), quando comparadas às prevalências observadas nas regiões centro-sul, como em Lisboa (Lebre, 2011) em que se observou a prevalência de 2.8%, e em Évora (Ferreira et al., 2011) com uma prevalência de 2%. Contudo, neste estudo não se verificou esta tendência, pois as menores prevalências foram observadas na região centro-norte e centro-sul, contrastando com prevalências mais altas nas regiões norte (Guarda e Bragança) e sul (Beja). Outro estudo recente, realizado na região centro (Lisboa), indicou prevalências de *Toxocara* spp. bastante superiores, concretamente 63.2% em amostras de solo de parques públicos e 15.8% em fezes colhidas nestes mesmos parques (Otero et al., 2014). Estudos internacionais indicam valores semelhantes aos observados em Portugal, nomeadamente na Alemanha com 6.1% (Barutzki & Schaper, 2011) e Argentina com 11% (Fontanarrosa et al., 2006). Em Espanha a prevalência observada foi substancialmente superior 17.72% (Martínez-Moreno, 2007).

Os céstodes pertencentes à família Taeniidae apresentaram uma prevalência global de 3.5%. O distrito com prevalência mais elevada de Taeniidae foi Castelo Branco com 12%, seguido do distrito de Beja com 6.9%, Guarda com uma prevalência de 6.67% e por fim Bragança com 3.8%. Os distritos de Portalegre, Lisboa, Évora e Faro não registaram qualquer ocorrência de parasitas desta família, estando presente em apenas 50% dos canis alvo de colheita de amostras fecais. Porém, nos distritos onde foi registada a sua presença, a

prevalência é considerável, tendo em conta a necessidade de um hospedeiro intermediário que, no local em questão, não está disponível. Em Portugal foram detetadas prevalências de 1,1% em Lisboa (Lebre, 2011). Na região metropolitana do Porto não foi observada a presença deste parasita (Neves et al., 2014). Em regiões rurais como Cantanhede, zona centro norte, a prevalência detetada foi de 1.7% (Cardoso et al., 2014) e em Ponte de Lima foi de 0.34% em amostras colhidas em jardins públicos, 0.51% em cães de quinta e 1.98% em cães de caça (Mateus et al., 2014). Na região norte foi investigada a prevalência de parasitas da família Taeniidae no ciclo silvestre, concretamente no lobo ibérico e na raposa vermelha, sendo apenas detetada a presença no lobo ibérico (2,8%) (Silva, 2010). Também no ciclo silvestre, Guerra et al. (2013) observou a prevalência de Taeniidae de 23.5% no lobo ibérico (*Canis lupus signatus*). No presente estudo observou-se que parasitas da família Taeniidae apresentaram uma prevalência considerável, tendo em conta o potencial zoonótico dos parasitas desta família. O ciclo de vida indireto do parasita obriga a presença de hospedeiros intermediários como bovinos, ovinos e coelhos para perpetuar a disseminação. Desta forma, o mais provável é que estes animais tenham sido infetados antes da entrada no canil, o que é bastante presumível pois os distritos em que foi registada a sua presença (Castelo Branco, Guarda, Bragança e Beja) apresentam muitas áreas rurais com animais de produção, zonas de caça e contacto com o ciclo silvestre. Contudo a transmissão dentro do canil pode acontecer, caso haja predação de roedores infetados com *E. multilocularis*, alojados em quistos alveolares, no pulmão do roedor. Apesar de *E. multilocularis* não estar referido em Portugal e a raposa ser o hospedeiro definitivo habitual, não há estudos que comprovem a ausência de *E. multilocularis*. É uma espécie muito importante, pois *E. multilocularis* também é responsável pela equinococose alveolar em humanos (CDC, 2013c). Seria importante classificar a espécie dos ovos de Taeniidae encontrados e deduzir a origem da infeção e o risco real para os animais e as pessoas que contactam diariamente com os animais infetados.

Toxascaris leonina e *Trichuris vulpis* apresentaram prevalências de 1.5% (3/200). *Toxascaris leonina* foi observada em três distritos, Guarda teve a prevalência mais alta com 6.67%, seguido de Bragança com 3.8% e por fim Beja com uma prevalência de 3.4%. Os distritos de Castelo Branco, Portalegre, Lisboa, Évora e Faro não registaram qualquer infeção por *T. leonina*. Em Portugal a prevalência mais alta até à data foi observada em canídeos silvestres, com uma prevalência de 5.3% (Silva, 2010). Em cães a prevalência observada foi sempre inferior à detetada neste estudo, concretamente no Porto de 0.6% (Neves et al., 2014) e em Ponte de Lima de 0.68% (Mateus et al., 2014). Em Cantanhede não foi detetada a presença de *T. leonina* (Cardoso et al., 2014). Nas cidades onde não se observou a presença de *T. leonina*,

anteriormente esta já foi detetada, na região de Lisboa a prevalência de 4.5% (Lebre, 2011) e em Évora de 0.7% (Ferreira et al., 2011).

Tal como *T. leonina*, *Trichuris vulpis* foi observado em três distritos, o distrito com maior prevalência foi Castelo Branco com 4%, seguido de Bragança com 3.8% e por fim Portalegre com uma prevalência de 3%. Assim, não se registou a presença de *T. vulpis* no distrito da Guarda, Lisboa, Évora, Beja e Faro. Estudos realizados em Portugal indicam prevalências relativamente inferiores, em Lisboa (Lebre, 2011) e Porto (Neves et al., 2014) a prevalência foi de 1.1%, Évora registou a prevalência de 0.7% (Ferreira et al., 2011) e no distrito de Santarém, em regiões rurais a prevalência observada foi de 2.6% (Crespo & Jorge, 2000). Curiosamente, nas regiões rurais de Ponte de Lima e Cantanhede foram detetadas prevalências francamente superiores. Entre 32.82% e 49.5% em Ponte de Lima (Mateus et al., 2014) e 29.9% em Cantanhede (Cardoso et al., 2014). Considerando os resultados realmente superiores nas regiões rurais, pressupõe-se que nestes locais a higienização seja menos eficaz pois geralmente os animais frequentam espaços em que o solo é composto por terra e vegetação. O facto do ciclo de vida de *Trichuris vulpis* ser direto implica que a transmissão entre hospedeiros definitivos seja eficaz e a elevada resistência dos ovos a condições atmosféricas contribui para que, em determinados locais, a prevalência seja superior (Bowman, 2009).

Dos parasitas gastrointestinais observados, apenas *T. leonina*, *T. vulpis* e *Cystoisospora* não apresentam qualquer risco para a Saúde Pública, mediante transmissão a humanos. Ancylostomatidae, que apresentou a prevalência mais elevada, é responsável pela síndrome da larva migrante cutânea (LMC) que pode ser causada por qualquer espécie de *Ancylostoma*, mas a espécie *A. braziliense* provoca lesões extensas e com maior frequência, onde é endémica (CAPC, 2012). Na ancilostomose humana as lesões são geralmente auto-limitantes, contudo altamente pruriginosas. Ocasionalmente, *A. caninum* pode causar a síndrome da larva migrante visceral (LMV) que pode provocar graves enterites eosinofílicas (CAPC, 2012).

Toxocara canis também é considerado um agente zoonótico importante, responsável pelas síndromes de larva migrante visceral (LMV), ocular (LMO) e nervosa (LMN). A síndrome de larva migrante visceral é caracterizada por hepatomegália, doença pulmonar e eosinofilia; a larva migrante ocular pode provocar retinite granulomatosa unilateral e, no sistema nervoso pode conduzir a doença neurológica progressiva. Caso a infeção seja específica pode provocar dor abdominal crónica ou desenvolver sintomatologia inespecífica (CAPC, 2012). Apesar de a doença ser mais comum em crianças, é necessário que adultos, em contacto diário com estes animais, sejam informados e fiquem cientes dos riscos e das medidas profiláticas a tomar, principalmente tratadores, veterinários e voluntários.

A maioria das amostras com parasitas GI apresentou infecção simples 84%, mas 16% (8/50) das amostras apresentou infecção por duas ou mais espécies de parasitas gastrointestinais. A infecção mista por *Ancylostoma* e *Cystoisospora* spp. foi a mais comum, representando 50% das coinfeções e 2% no total de amostras sujeitas a análise. Estes valores são justificados pela maior prevalência observada destes parasitas. Das coinfeções 25% (2/8) foram provocadas por *Toxocara canis*, *Toxascaris leonina* e *Cystoisospora* spp, correspondendo a 1% do total de amostras. Observou-se uma amostra, 0.5% do total de amostras (1/200), infetada por Ancylostomatidae e *Toxocara canis* e, com a mesma frequência a infecção por Ancylostomatidae, *Toxocara canis* e Taeniidae. No estudo de Neves, et al (2014) a infecção mista por *Cystoisospora* spp e *Toxocara canis* em animais saudáveis teve uma prevalência de 1.7% e em animais com sintomatologia gastrointestinal foi de 2.1%. No estudo de Mateus et al, (2014), a coinfeção por Ancylostomatidae e *Trichuris vulpis* foi a mais comum nos três grupos de amostras: amostras de jardins públicos, de cães de quinta e amostras de cães de caça, com valores de 17.91, 10.77 e 34.65 respetivamente. Tal como se verificou no presente estudo, a coinfeção mais comum observada por de Mateus et al. (2014) também ocorreu entre os parasitas mais prevalentes (Ancylostomatidae e *Trichuris vulpis*). A coinfeção por Ancylostomatidae e *Cystoisospora* spp. foi 0.38%, detetada em amostras colhidas em parques públicos, a infecção por Ancylostomatidae e *Toxocara canis* teve uma prevalência entre os 2 e 3% nos três grupos e a infecção mista por Ancylostomatidae, *Toxocara canis* e Taeniidae apenas ocorreu em cães de caça com uma prevalência de 1%. Neste estudo não se verificou coinfeção por *T. canis*, *T. leonina* e *Cystoisospora* spp. A título de curiosidade, no estudo de Mateus et al. (2014), verificou-se que nos três grupos o risco de infecção simples é igual, contudo o risco de infecção mista é maior nos cães de caça, quando comparado com os outros dois grupos analisados.

4.2. Parasitas Cardiopulmonares

4.2.1. Filarioses: Prevalência global e distrital

A prevalência global detetada no presente estudo de *D. immitis* foi de 2.7% (7/264), sendo detetada, a nível distrital, uma prevalência de 8.9% (6/45) em Beja, 6.67% (1/15) na Guarda, 2.7% (1/37) em Faro e 2.5% (1/40) no distrito de Castelo Branco. Os distritos de Bragança, Portalegre, Lisboa e Évora não apresentaram qualquer amostra positiva, quer ao teste de Knott, quer ao teste rápido de deteção de antigénio. A distribuição geográfica foi ampla, sendo detetada presença de *D. immitis* na região Norte, Centro e Sul de Portugal, ainda que não tenha sido detetada em todos os distritos. Contudo, como indicado no estudo de Alho et

al. (2014e), em Portugal o risco de transmissão de *Dirofilaria* é potenciado pelas condições ambientais adequadas, principalmente na Madeira, Faro, Lisboa e Porto.

Estudos realizados em Portugal apresentam frequências semelhantes de *D. immitis*, contudo quando se compara a nível regional, os resultados não são concordantes. No estudo realizado por Cardoso et al. (2012) é indicado que na região Norte 2.9% dos animais foram positivos a *D. immitis*, inferior à frequência de 6.67% observada no distrito da Guarda e em Lisboa o mesmo autor detetou a prevalência de 2.4%, contrariamente aos 0% observados. Na região Centro, Cardoso et al. (2012) observaram a prevalência de 0.9%, bastante inferior à frequência de 2.5% observada no presente estudo em Castelo Branco. Outro estudo realizado na região centro-litoral, na Figueira da Foz, indica uma prevalência bastante superior, de 27.3% (Vieira et al., 2014b), tal como no estudo de Alho et al. (2014d) onde se observou a prevalência de 24.8% em Setúbal, 13.8% em Coimbra e 13.2% em Santarém. Na região do Alentejo observou-se *D. immitis* em 4.7% das amostras de Cardoso et al. (2012), onde, no presente estudo, foi detetada a prevalência de quase o dobro (8.9%). Os valores referidos de Cardoso et al. (2012) são de animais aparentemente saudáveis, pois neste estudo também foram avaliados animais suspeitos de CVBD que, apresentaram consistentemente prevalências bastante superiores como indicado no anexo 3. Neste sentido deve considerar-se que o presente estudo foi realizado em animais assintomáticos, um contexto que não favorece a sensibilidade de alguns dos métodos de diagnóstico de infeção de *D. immitis*, e como tal, estes resultados podem subestimar e não corresponder ao número real de infeções na população. Outros aspetos a considerar são os métodos utilizados para deteção de *D. immitis*, nomeadamente a técnica de Knott e o kit rápido de deteção de antigénio (Witness®*Dirofilaria*). A utilização dos dois testes simultaneamente em todas as amostras permitiu aumentar a sensibilidade, na medida em que apenas uma amostra positiva (14.3%) foi concordante nos dois testes e os restantes resultados positivos (3/7, 48.9%) foram detetados apenas por um dos métodos. O teste rápido para deteção de antigénios de *D. immitis* apresenta uma sensibilidade de 100% quando existe presença de duas ou mais fêmeas adultas e especificidade de 98.3% (Zoetis, 2014). Contudo o estudo de Watier-Grillot, Marié, Cabre, & Davoust (2011) indicam uma sensibilidade de 78% e a especificidade varia de 71% a 95%. Falsos negativos no teste rápido podem ocorrer devido à sensibilidade intrínseca do teste, ou por outros fatores como a baixa carga parasitária, nomeadamente relação entre machos e fêmeas adultos, que segundo Rocha, (2010) diminui a sensibilidade dos testes em 25%. A presença de fêmeas adultas imaturas, ou a morte das fêmeas adultas também pode conduzir a falsos negativos. Os testes são de execução simples, contudo as indicações do fabricante devem ser respeitadas para obtenção de resultados fiáveis.

Das quatro amostras positivas ao teste rápido, três apresentavam-se amicrofilarémicas (75%). Nestes casos a utilização exclusiva da técnica de Knott indicariam falsos negativos. A amicrofilarémia em animais com dirofilariose pode ocorrer devido a vários fatores:

- Tratamento do animal com microfilaricidas (lactonas macrocíclicas) quer em regime profilático ou terapêutica específica para a dirofilariose, antes da colheita da amostra (Bowman, 2009);
- A existência de parasitas adultos do mesmo sexo não permite a reprodução e a produção de microfilárias (Bowman, 2009);
- A própria imunidade do hospedeiro pode neutralizar totalmente ou parte das microfilárias, diminuindo a possibilidade de encontrar microfilárias na amostra (Bowman, 2009);
- A colheita da amostra entre os 5 e os 6.5 mpi determina resultados positivos no teste rápido, pois já existem antígenos contra *D. immitis*, porém não houve tempo para produção de microfilárias (Bowman, 2009);
- A sensibilidade da técnica de Knott não permite detetar todas as infeções, pois no estudo de Martini et al. (1991) a sensibilidade obtida da técnica de Knott modificada foi de 91%;
- Falhas do operador a executar técnica, na medida em que a centrifugação pode ser insuficiente, não ficando as microfilárias no sedimento que posteriormente é observado (Shapiro, 2010);
- A experiência do operador na observação das microfilárias pode ter efeito na especificidade do teste, pois existem outras microfilárias como *Acanthocheilonema* spp. e *D. repens* que devem ser diferenciadas pela observação da morfologia, medição ou utilização da técnica de fosfatase ácida (Shapiro, 2010).

Para diagnosticar eficazmente um animal com dirofilariose deve considerar-se, para além dos testes de diagnóstico disponíveis, o estado geral, a sintomatologia apresentada ou presença de doenças concomitantes. Outros fatores importantes a considerar é se o animal frequenta zonas endémicas para *D. immitis*, a exposição do animal ao vetor, medidas profiláticas utilizadas regularmente entre outros. Assim em termos práticos, num animal com sintomatologia cardiorrespiratória indicativa de dirofilariose, deve sobretudo proceder-se à estabilização do animal e fazer o diagnóstico diferencial de dirofilariose e outras cardiomiopatias comuns com recurso a outras técnicas de diagnóstico como ecocardiografia ou exames radiográficos.

4.2.2. Filarioses: Prevalência detetada por grupos (porte, pelagem, sexo e idade).

Não se detetaram diferenças significativas da frequência de *D. immitis* entre os portes grande, médio e pequeno ($p = 0.24$). Porém os animais de grande porte apresentaram uma prevalência superior (4.9%), quando comparado com animais de médio (1.5%) e pequeno porte (0%). Os cães de grande porte geralmente são escolhidos para funções de guarda ou pastório e pelo facto destes animais passarem mais tempo no exterior, e habitualmente apresentarem maior porte e superfície corporal, estando por isso mais expostos ao vetor, seria de esperar encontrar uma associação, contudo estes dados não forneceram essa evidência. No estudo de Vieira et al. (2014b) os animais de raças de grande porte apresentaram maior risco de contrair infeção por *D. immitis*, tal como animais de que permanecem no exterior e em ambientes rurais.

Relativamente ao comprimento do pêlo também não se detetou qualquer diferença significativa das frequências observadas em animais de pêlo comprido e pêlo curto ($p = 0.7174$). Os animais do sexo feminino apresentaram uma prevalência de *D. immitis* francamente superior, quando comparado com indivíduos do sexo masculino ($p = 0.045$). Contudo na bibliografia consultada não está indicado o sexo como um fator de risco e não existem fatores fisiológicos ou comportamentais, quer do hospedeiro, quer do vetor, que justifiquem estes valores.

Dos animais positivos a *D. immitis*, 42.9% estão na faixa etária dos 11-15 anos, uma frequência bastante elevada, quando comparada com a frequência observada nos grupos etários 0-5 anos, 6-10 anos e mais de 15 anos. Outros estudos consultados não indicaram o fator idade como um fator de risco, tal como não são indicados fatores fisiológicos ou comportamentais que justifiquem esta distribuição. Contudo a maioria dos animais sujeitos a colheita de amostras no distrito de Beja, onde foi observada a maior prevalência de *D. immitis*, incluíam-se nesta faixa etária o que pode justificar esta distribuição de frequências, não se devendo, portanto a alguma característica intrínseca dos animais desta faixa etária.

4.2.3. Metastrongilídeos

No presente estudo não foram observadas amostras positivas para metastrongilídeos nas 200 amostras fecais analisadas. O método utilizado foi a técnica de Baermann, um método bastante simples, de fácil interpretação e de baixo custo. Constitui atualmente o método de eleição (*gold standard*) para o diagnóstico de *A. vasorum* (Alho et al., 2013) e, em comparação com outras técnicas coprológicas utilizadas habitualmente, apresenta elevada especificidade e sensibilidade aceitável (Nabais, 2012). Porém existem fatores biológicos do parasita que podem dificultar a sua pesquisa. Como já referido anteriormente, os períodos pré-

patentes de *A. vasorum* são longos e bastante variáveis, podendo ir de 28 a 108 dias (CAPC, 2007). A colheita de amostras fecais durante este período conduz a resultados falsamente negativos. Outra limitação a considerar é a excreção irregular e intermitente de L₁ nas fezes, registando-se dois picos, aproximadamente aos 90 e aos 270 dias pós infecção, com possibilidade de reinfeção (Oliveira-Júnior et al., 2006), por esse motivo é aconselhado colher material fecal durante, pelo menos, três dias consecutivos (Ferdushy & Hasan, 2010). Por motivos de ordem prática foi apenas possível colher amostras fecais de um dia, diminuindo a possibilidade de deteção de animais positivos a *A. vasorum*. Para realização da técnica de Baermann é aconselhada a utilização de amostras frescas (Alho, 2013), contudo neste estudo as amostras foram sujeitas inevitavelmente ao transporte para o laboratório, por vezes de longas distâncias. Ainda que as amostras tenham sido armazenadas em câmaras de refrigeração, este transporte e o posterior armazenamento a 4°C de vários dias até ao processamento, pode ter causado algum impacto na viabilidade das larvas, impossibilitando a migração destas e a posterior observação. Tendo em conta os fatores biológicos do parasita, o número de amostras colhidas por animal e as limitações de ordem prática, considera-se que a prevalência de *A. vasorum* seja superior. Estudos realizados em Portugal são escassos, pelo que a prevalência real de *Angiostrongylus vasorum* não é evidente. Nabais (2012) obteve uma prevalência de 2% (1/50) de *A. vasorum* em cães na região de Lisboa. Através de métodos serológicos detetou-se nos distritos de Coimbra, Santarém e Setúbal, uma prevalência de 1.17% em dois testes de ELISA, 1.76% no teste de deteção de antígeno e 2.35% no teste de deteção de anticorpo (*sandwich*-ELISA) (Alho et al., 2014f). Em canídeos selvagens, concretamente na raposa, detetou-se uma prevalência de 16.1%, na região de Dunas de Mira, utilizado a necrópsia como método para pesquisa das várias parasitoses (Eira et al., 2006). A elevada prevalência podem indicar estes hospedeiros como reservatório de *A. vasorum*. A análise dos estudos supracitados indicam variação dos resultados obtidos consoante os métodos de diagnóstico. Estima-se que a prevalência de *A. vasorum* seja superior à encontrada no presente estudo, pelo que devem ser realizados mais estudos para pesquisa de metastrongilídeos, com recurso a várias técnicas de diagnóstico, com o objetivo de determinar a prevalência real destes parasitas.

5. Conclusão

A componente prática do estágio curricular, realizado no Hospital Veterinário das Laranjeiras, permitiu consolidar e pôr em prática a matéria assimilada ao longo do curso, mas também contribuiu para adquirir novos conhecimentos e competências, enquadrados na clínica médica e cirúrgica, bem como interiorizar comportamentos adequados ao exercício da profissão.

No estágio no laboratório de doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária, ULisboa, adquiriram-se conhecimentos laboratoriais fundamentais à realização deste estudo, para além de adquirir prática em técnicas laboratoriais bastante úteis, pois fornecem bastante informação, a baixo custo necessitando de pouco material, o que é essencial tendo em conta a conjuntura socioeconómica atual.

Os resultados apresentados relativamente à pesquisa de parasitas gastrintestinais, com especial atenção para a prevalência global de 25%, vão ao encontro de diversos estudos realizados em Portugal e internacionalmente, e permitiu avaliar a carga parasitária em animais mantidos em canis com elevada densidade animal e, por vezes sujeitos a protocolos de desparasitação ineficientes. É de salientar a importância, não só em termos de saúde animal, mas também em termos de saúde pública, das elevadas prevalências observadas de parasitas com potencial zoonótico conhecido, nomeadamente *Ancylostomatidae* (11%), *Toxocara canis* (5%) e *Taeniidae* (3.5%).

A prevalência encontrada de *Dirofilaria immitis* (2.7%) vem complementar a informação já existente em Portugal e permite estimar a prevalência relativa dos distritos avaliados. Estes resultados indicam a necessidade de reforçar as medidas profiláticas para controlo de helmintes cardiopulmonares. Neste estudo não foram observadas formas parasitárias de *A. vasorum* porém, através de outros estudos, sabe-se que Portugal é endémico para este parasita e devem ser consideradas medidas de controlo eficazes.

A avaliação dos oito distritos de Norte a Sul permitiu mostrar a carga parasitária gastrointestinal e cardiopulmonar existente nos animais mantidos em canis, e a sua caracterização permite reforçar a existência de parasitas com potencial zoonótico e alta distribuição a nível geográfico, evidenciando risco para saúde das pessoas que contactam diariamente com os animais em questão. Portanto, a educação de funcionários e voluntários dos canis deve ser reforçada regularmente através de medidas educativas, bem como as medidas de higiene e desinfeção, para além de um protocolo eficaz de desparasitação dos animais dos canis de Portugal.

V. BIBLIOGRAFIA

- Abdel-Hafez, S. K., Kamhawi, S. A. & El-Shehabi, F. S. (1999). Prevalence of intestinal helminths of dogs and foxes from Jordan. *Parasitology Research*, 85, pp: 928–934. Acedido em Mar., 3, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10540955>
- Adinezadeh, A., Kia, E. B., Mehdi, M. S. S., Rokni, M. B. & Zabihollah Z, Z. G. M. (2013). Endoparasites of Satory Dogs in Maskkad Razavi Province, Northeast Iran Wit Special Reference to Zoonotic Parasites. *Iranian J Parasitol*, 8 (3), pp: 459–466. Acedido a Mar, 3, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3887249/>.
- Alho, A. M., Nabais, J. & Carvalho, L. M. (2013). A importância da Técnica de Baermann na clínica de pequenos animais. *Clínica Animal*, 1 (3), 28 – 31. Acedido em Set., 2, 2014. Disponível em: http://www.researchgate.net/publication/247777497_A_importncia_da_Tcnica_de_Baermann_na_clnica_de_pequenos_animais.
- Alho, A. M., Belo, S., Meireles, J. & Madeira de Carvalho, L. (2014a). Dirofilariose Canina e Felina, uma Parasitose em Evolução (I) – Etiologia, Biologia e Epidemiologia. *Clínica Animal*, 25, 20 – 25.
- Alho, A. M., Belo, S., Meireles, J. & Madeira de Carvalho, L. (2014b). Dirofilariose Canina e Felina, uma Parasitose em Evolução (II) – Fisiopatologia, Diagnóstico e Terapêutica. *Clinica Animal*, 25, 26 – 32.
- Alho, A.M. Félix, L.B. Meireles, J., Belo, S. & Madeira de Carvalho L. (2014c) Parasitoses Gastrointestinais e Cardiopulmonares em canídeos – estudo epidemiológico em canis de Portugal Continental. XVII Congresso Sociedade Portuguesa de Parasitologia, Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, 21 Nov, 2014, Coimbra. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 20, 1/2, pp.122 - 123.
- Alho, A. M., Landum, M., Ferreira, C., Meireles, J., Gonçalves, L., de Carvalho, L. M., & Belo, S. (2014d). Prevalence and seasonal variations of canine dirofilariosis in Portugal. *Veterinary Parasitology*, 206(1-2), pp:99–105. Acedido a Jan, 14, 2014. Disponível em <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.08.014>.
- Alho, A., Nunes, T., Rinaldi, L., Meireles, J., Belo, S., Deplazes, P., & Madeira de Carvalho, L. (2014e). Transmission risk of Dirofilariosis in Portugal. *Parasites & Vectors*, 7 (Suppl 1), O16. Acedido em Set., 15, 2014. Disponível em: <http://www.parasitesandvectors.com/content/7/S1/O16>.
- Alho, A., Schnyder, M., Meireles, J., Belo, S., Deplazes, P. & Madeira de Carvalho, L. (2014f). Preliminary results on the seroprevalence of *Angiostrongylus vasorum* and co-infection with *Dirofilaria immitis* in shelter dogs from Portugal. *Parasites & Vectors*, 7 (Suppl 1). Acedido a Set., 15, 2014. Disponível em: <http://www.parasitesandvectors.com/content/7/S1/O26>.

- Allan, J. C. & Craig, P. S. (2006). Coproantigens in taeniasis and echinococcosis. *Parasitology International*, 55, pp:75–80. Acedido a Abr., 7, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16337428>
- Almeida, C. (2010). *Prevalência de Dirofilariose Felina da região do Sado*. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa.
- American heartworm Society |AHS| (2014). *Current Canine Guidelines for the Prevention, Diagnosis, and Management of Infection in Dogs*. EUA: AHS. Acedido a Ago., 8 de 2014. Disponível em: <https://www.heartwormsociety.org/veterinary-resources/american-heartworm-society-guidelines>.
- Associação Portuguesa da Indústria Farmacêutica- Apifarma (2015). Acedido a Jun. 2, 2015. Disponível em: <http://www.apifarma.pt/simposiumvet/Paginas/Pesquisaavancada.aspx>
- Ballwebber, L. R. (2001). *The Practical Veterinarian – Veterinary Parasitology*. (1st ed.). USA: Butterworth–Heinemann.
- Baños, P.D., Baños, N.D. & Morrondo-Pelayo, M.P. (1999). Nematodosis: Toxocarosis, Toxascaris, Ancilostomosis, Tricuriosis, Estrongiloidosis, Espirocercosis, Olulanosis. In Cordero del Campillo M., Rojo Vazquez F.A., Martinez Fernandez, A.R., Sanchez Acedo, M.C., Hernandez Rodriguez, S., Navarrete Lopez-Cozar, I., Diez Banos, P., Quiroz Romero, H., Carvalho Varela, M. *Parasitologia Veterinária*. (pp. 636-651) Madrid: McGraw-Hill-Interamericana de Espana, S.A.U.
- Barçante, J. M. P., Barçante, T. a, Ribeiro, V. M., Oliveira-Junior, S. D., Dias, S. R. C., Negrão-Corrêa, D. & Lima, W. S. (2008). Cytological and parasitological analysis of bronchoalveolar lavage fluid for the diagnosis of *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs. *Veterinary Parasitology*, 158 (1-2), pp: 93–102. Acedido em Set., 20 de 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18842343>.
- Barr, S. C., Bowman, D. D., (2006). *The 5-minute Veterinary Consult Clinical Companion — Canine and Feline Infectious Diseases and Parasitology*. (1st ed.). Iowa, USA: Blackwell Publishing.
- Barutzki, D., Schaper, R. (2011). Results of parasitological examinations of faecal samples from cats and dogs in Germany between 2003 and 2010. *Parasitology Research*, 109 (1), pp: 45–60. Acedido a Fev. 12, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21739375>
- Böhm, C., Schnyder, M., Thamsborg, S. M., Thompson, C. M., Trout, C., Wolken, S., Schnitzler, B. (2014). Assessment of the combination of spinosad and milbemycin oxime in preventing the development of canine *Angiostrongylus vasorum* infections. *Veterinary Parasitology*, 199 (3-4), pp: 272–7. Acedido em Set., 11, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24269160>
- Bourguinat, C., Keller, K., Blagburn, B., Schenker, R., Geary, T. G. & Prichard, R. K. (2011). Correlation between loss of efficacy of macrocyclic lactone heartworm anthelmintics and P-glycoprotein genotype. *Veterinary Parasitology*, 176 (4), pp: 374–381. Acedido em Ago., 18, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21300438>

- Bowman, Dwight D. (2009). *Georgis' Parasitology for Veterinarians*. (9th ed.) USA: Elsevier Health Sciences.
- Brown, H. E., Harrington, L. C., Kaufman, P. E., McKay, T., Bowman, D. D., Nelson, C. T., Wang, D. & Lund, R. (2012). Key factors influencing canine heartworm, *Dirofilaria immitis*, in the United States. *Parasites & Vectors*, 5 (245), pp: 1-17. Acedido em Ago., 11, 2014. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3523980&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Cabello, R. R., Ruiz, A. C., Feregrino, R. R., Romero, L. C., Feregrino, R. R. & Zavala, J. T. (2011). *Dipylidium caninum* infection. *BMJ Case Reports*, 3 (6). Acedido em Mar. 15 de 2014. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3229318&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Canine Vector-Borne Disease |CVBD| (2012). *Canine Heartworm Disease*. Acedido a Set. 29, 2014. Disponível em: <http://www.cvbd.org/en/mosquito-borne-diseases/heartworm-disease/treatment/>.
- Canine Vector-Borne Disease |CVBD| (2014). *Mosquito-Borne Diseases – Heartworm Disease*. Acedido a Set. 18, 2014. Disponível em <http://www.cvbd.org/en/mosquito-borne-diseases/heartworm-disease/>.
- Canine Vector-Borne Disease |CVBD| (2014b). *Subcutaneous Dirofilariosis*. Acedido a Set. 25, 2014. Disponível em: <http://www.cvbd.org/en/mosquito-borne-diseases/subcutaneous-dirofilariosis/>.
- Capuano, D. M. & Rocha, G. D. M. (2006). Ocorrência de parasitas com potencial zoonótico em fezes de cães coletadas em áreas públicas do município de Ribeirão Preto, SP, Brasil. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 9 (1), pp:81– 86. Acedido em Fev., 15, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-790X2006000100010>.
- Cardoso, L., Mendão, C. & Madeira de Carvalho, L. (2012). Prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma* spp. and *Leishmania infantum* in apparently healthy and CVBD-suspect dogs in Portugal - A national serological study. *Parasites & Vectors*, 5 (1), 62. Acedido em Ago., 4, 2014. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3353209&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Cardoso, A. S., Costa, I. M. H., Figueiredo, C., Castro, A. & Conceição, M. A. P. (2014). The occurrence of zoonotic parasites in rural dog populations from northern Portugal [Abstract]. *Journal Helminthology*, 88 (2), pp: 203– 209. Acedido em Mar., 14, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23388655>.
- Carretón, E., Corbera, J. a, Juste, M. C., Morchón, R., Simón, F. & Montoya-Alonso, J. a. (2011). *Dirofilaria immitis* infection in dogs: cardiopulmonary biomarker levels. *Veterinary Parasitology*, 176 (4), pp: 313–6. Acedido em Ago., 4, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21310535>.

- Centers for Disease Control and Prevention |CDC| (2010). *Parasites - Angiostrongyliasis (also known as Angiostrongylus Infection)*. Acedido a Set. 30, 2014. Disponível em: <http://www.cdc.gov/parasites/angiostrongylus/index.html>.
- Centers for Disease Control and Prevention |CDC| (2012). *Parasites – Dirofilaria*. Acedido a Set. 24, 2014. Disponível em: http://www.cdc.gov/parasites/dirofilaria/biology_d_immitis.html.
- Centers for Disease Control and Prevention |CDC| (2012b). *Parasites - Zoonotic Hookworm*. Acedido a Fev. 28, 2014. Disponível em: <http://www.cdc.gov/parasites/zoonotichookworm/>.
- Centers for Disease Control and Prevention |CDC| (2013). *DPDx – Laboratory Identification of Parasitic Diseases of Public Health Concern: Cystoisosporiasis*. Acedido a Set. 17, 2014. Disponível em: <http://www.cdc.gov/dpdx/cystoisosporiasis/index.html>.
- Centers for Disease Control and Prevention |CDC| (2013b). *DPDx – Laboratory Identification of Parasitic Diseases of Public Health Concern: Dipylidium caninum Infection*. Acedido a Set. 17, 2014. Disponível em: <http://www.cdc.gov/dpdx/dipylidium/index.html>.
- Centers for Disease Control and Prevention |CDC| (2013c). *DPDx – Laboratory Identification of Parasitic Diseases of Public Health Concern: Echinococcosis*. Acedido a Set. 16, 2014. Disponível em <http://www.cdc.gov/dpdx/echinococcosis/index.html>.
- Coelho, W. M., Amarante, A. F., Apolinário, C., Coelho, N. M., Bresciani, K. D. (2011). Occurrence of *Ancylostoma* in dogs, cats and public places from Andradina City, São Paulo State, Brazil. *Rev Instituto de Medicina Tropical*, 53 (4), pp:181–184. Acedido a Fev., 18, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21915459>.
- Companion Animal Parasite Council |CAPC| (2007). *Parasites of Other Systems – Lungworms*. Acedido a Set. 25, 2014. Disponível em: <http://www.capcvet.org/capc-recommendations/lungworms>.
- Companion Animal Parasite Council |CAPC| (2012). *Intestinal Parasites: Nematodes: Ascarid (Also Roundworm, also Toxocara)*. Acedido em Abril 2, 2014. Disponível em: <http://www.capcvet.org/capc-recommendations/ascarid-roundworm/>.
- Companion Animal Parasite Council |CAPC| (2012b). *Intestinal Parasites: Nemátodes: Hookworms*. Acedido em Março 26, 2014. Disponível em: <http://www.capcvet.org/recommendations/hookworms.html>.
- Companion Animal Parasite Council |CAPC| (2013). *Intestinal Parasites - Cyclophyllidean Tapeworms*. Acedido em Abril 28, 2014. Disponível em: <http://www.capcvet.org/capc-recommendations/cyclophyllidean-tapeworms>.
- Companion Animal Parasite Council |CAPC| (2014). *Canine Heartworm*. Acedido a Set. 29, 2014. Disponível em: <http://www.capcvet.org/capc-recommendations/canine-heartworm>.

- Conboy, G. A. (2009). Cestodes of Dogs and Cats in North America. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 39 (6), 1075-1090. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0195561609000977>.
- Conboy, G. A. (2011). Canine angiostrongylosis: the French heartworm: an emerging threat in North America. *Veterinary Parasitology*, 176 (4), pp: 382–9. Acedido em Set., 29, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21310537>.
- Crespo, M. V. M. & Jorge, A. T. (2000). Contaminação parasitária, por ovos de helmintes de alguns jardins e parque públicos das cidades de Almeirim e do Cartaxo. *Acta parasitológica portuguesa*, 7 (1/2), pp:43-47. Acedido em Abr., 12, 2014. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.15/146>.
- Crespo, M. V., Rosa, F. & Almeida, J. P. (2010). *Eliminação parasitária em fezes de canídeos no Concelho de Óbidos - estudo por freguesias*. XIV Congresso Português de Parasitologia, Porto, 8-10 Setembro. Acedido em Abr., 12, 2014. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.15/313>.
- Crespo, M. V., Rosa, F. & Almeida, J. P. (2011). *Parasitismo em canídeos do Concelho de Óbidos*. V Congresso de Ciências Veterinárias: livro de resumos. Res. p. 136. Acedido em Abr., 12, 2014. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10400.15/642>.
- Cringoli, G. (2006). FLOTAC, a novel apparatus for a multivalent faecal egg count technique [abstract] [versão electrónica]. *Parassitologia*, 48 (3), 381 – 384. Acedido em Ago, 13, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17176947>.
- Cury, M. C., Guimarães, M. P., Lima, W. S., Caldeira, M. C. M., Couto, T. R., Murta, K., Carvalho, M G. & Baptista, J. M. B. (2005). Biochemical serum profiles in dogs experimentally infected with *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866). *Veterinary Parasitology*, 128 (1-2), pp: 121–7. Acedido a Set., 12, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15725541>.
- Dubná, S., Langrová, I., Jankovská, I., Vadlejch, J., Pekár, S., Nápravník, J. & Fechtner, J. (2007). Contamination of soil with *Toxocara* eggs in urban (Prague) and rural areas in the Czech Republic. *Veterinary Parasitology*, 144 (1-2), pp: 81– 6. Acedido a Fev., 25, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17049747>.
- Eckert, J., Conraths, F. J. & Tackmann, K. (2000). Echinococcosis: an emerging or re-emerging zoonosis. *International Journal for Parasitology*, 30, pp:1283– 1294. Acedido em Mar., 17, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11113255>.
- Eira, C., Vingada, J., Torres, J., Miquel, J. (2006). The Helminth Community of the Red Fox, *Vulpes Vulpes*, In Dunas de Mira (Portugal) and its effect on host condition. *Wildlife Biology in Practice*, 2 (1), pp:26– 36. Acedido em Abr., 22, 2014. Disponível em: <http://www.socpvs.org/journals/index.php/wbp/article/view/10.2461-wbp.2006.2.5>.
- European Scientific Counsel Companion Animal Parasites [ESCCAP]. (2010). *ESCCAP Guidelines – Worm control in Dogs and Cats*. UK: ESCCAP. Acedido em Jul., 7, 2014. Disponível em <http://www.esccap.org/#2>.

- Ferdushy, T. & Hasan, M. T. (2010). *Angiostrongylus vasorum*: the “French Heartworm”. *Parasitology Research*, 107 (4), pp:765– 71. Acedido a Set., 15, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20714748>.
- Ferreira, F. S., Pereira-Baltasar, P., Parreira, R., Padre, L., Vilhena, M., Távora Tavira, L., Atouguia, J. & Centeno-Lima, S. (2011). Intestinal parasites in dogs and cats from the district of Évora, Portugal. *Veterinary Parasitology*, 179 (1-3), pp: 242– 5. Acedido a Jun., 12, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21377803>.
- Fontanarrosa, M. F., Vezzani, D., Basabe, J. & Eiras, D. F. (2006). An epidemiological study of gastrointestinal parasites of dogs from Southern Greater Buenos Aires (Argentina): Age, gender, breed, mixed infections, and seasonal and spatial patterns. *Veterinary Parasitology*, 136 (3-4), pp: 283–295. Acedido em Fev. 16, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16364551>.
- Foreyt, William J. (2001). *Veterinary Parasitology Reference Manual*. (5th ed.) USA: Iowa State University Press.
- Fourie, J. J., Crafford, D., Horak, I. G. & Stanneck, D. (2013). Prophylactic treatment of flea-infested dogs with an imidacloprid / flumethrin collar (Seresto®, Bayer) to preempt infection with *Dipylidium caninum*. *Parasitology Research*, 112 (2013), pp: 33– 46. Acedido e Mai., 4, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23771717>.
- Fox, J. (2005). The R Commander: a Basic Statistics Graphical User Interface to R. *Journal of Statistics Software*, 14 (9):1-42.
- Funada, M. R., Pena, H. F. J., Soares, R. M., Amaku, M., & Gennari, S. M. (2007). Frequência de parasitos gastrintestinais em cães e gatos atendidos em Hospital-escola veterinário da cidade de São Paulo. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 59 (5), pp: 1338– 1340. Acedido em Fev., 25, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352007000500038>.
- Gallagher, B., Brennan, S. F., Zarelli, M. & Mooney, C. T. (2012). Geographical, clinical, clinicopathological and radiographic features of canine angiostrongylosis in Irish dogs: a retrospective study. *Irish Veterinary Journal*, 65 (1), p:5. Acedido em Set., 18, 2014. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3349590&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Gawor, J., Borecka, A., Zarnowska, H., Marczyńska, M., & Dobosz, S. (2008). Environmental and personal risk factors for toxocariasis in children with diagnosed disease in urban and rural areas of central Poland. *Veterinary Parasitology*, 155 (3-4), pp: 217– 22. Acedido em Mar., 7, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18584968>.
- Genchi, C., Rinaldi, L., Cascone, C., Mortarino, M. & Cringoli, G. (2005). Is heartworm disease really spreading in Europe? *Veterinary Parasitology*, 133 (2-3), pp: 137–48. Acedido em Ago., 16, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15885913>.

- Genchi, C., Rinaldi, L. & Cringoli, G. (2007). *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections. *Advances in Parasitology*, 66, 193 – 285. Acedido em Ago., 14, 2014. Disponível em: http://www.parassitologia.unina.it/filarie_zagabria.pdf#page=102.
- Genchi, C., Rinaldi, L., Mortarino, M., Genchi, M., Cringoli, G. (2009). Climate and *Dirofilaria* infection in Europe. *Veterinary Parasitology*, 163 (4), pp:286– 92. Acedido em Ago., 16, 2014. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19398159>.
- Genchi, C., Mortarino, M., Rinaldi, L., Cringoli, G., Traldi, G. & Genchi, M. (2011). Changing climate and changing vector-borne disease distribution: the example of *Dirofilaria* in Europe. *Veterinary Parasitology*, 176 (4), pp:295–9. Acedido em Ago., 14, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21300439>.
- Guerra, D., Armua-Fernandez, M.T., Silva, M., Bravo, I., Santos, N., Deplazes, P., Madeira de Carvalho, L.M. (2013). Taeniid species of the Iberian wolf (*Canis lupus signatus*) in Portugal with special focus on *Echinococcus* spp. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 2, 50-53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijppaw.2012.11.007>
- Guo, Z., Li, W., Peng, M., Duo, H., Shen, X., Fu, Y., Irie, T., Gan, T., Kirino, Y., Nasu, T., Horii, Y. & Nonaka, N. (2014). Epidemiological Study and Control Trial of Taeniid Cestode Infection in Farm Dogs in Qinghai Province, China. *Journal of Veterinary Medical Science*, 76 (3), pp: 395–400. Acedido em Abr., 13, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24257329>.
- Hegglin, D., & Deplazes, P. (2013). Control of *Echinococcus multilocularis*: strategies, feasibility and cost-benefit analyses. *International Journal for Parasitology*, 43 (5), pp: 327–37. Acedido em Abr., 13, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23384814>.
- Helm, J. R., Morgan, E. R., Jackson, M. W., Wotton, P. & Bell, R. (2010). Canine angiostrongylosis: an emerging disease in Europe. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*. 20 (1), pp: 98–109. Acedido em Set., 13, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20230439>.
- Instituto Português do Mar e da Atmosfera [IPMA]. (2014). *Boletim Climatológico Sazonal - Primavera de 2014*. Lisboa: IPMA. Disponível em: <https://www.ipma.pt/pt/publicacoes/boletins.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=-1>.
- Jenkins, D. J., Romig, T., & Thompson, R. C. a. (2005). Emergence/re-emergence of *Echinococcus* spp.: a global update. *International Journal for Parasitology*, 35 (11-12), pp: 1205–19. Acedido em Abr., 17, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16157340>.
- Koch, J., & Willesen, J. L. (2009). Canine pulmonary angiostrongylosis: an update. *Veterinary Journal* (London, England: 1997), 179 (3), pp: 348–59. Acedido em Out., 6, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18180185>.

- Kramer, L., Grandi, G., Passeri, B., Gianelli, P., Genchi, M., Dzimianski, M. T., Supakorndej, P., Mansour, a M., Supakorndej, N., McCall, S D. & McCall, J. W. (2011). Evaluation of lung pathology in *Dirofilaria immitis* experimentally infected dogs treated with doxycycline or a combination of doxycycline and ivermectin before administration of melarsomine dihydrochloride. *Veterinary Parasitology*, 176 (4), pp:357– 60. Acedido em Set., 8, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21292403>.
- 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 – 5. Acedido em Jun., 3, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20937494>.
- Lebre, F. L. M. C. R. (2011). *Rastreo de parasitas Gastrintestinais e seu impacto zoonótico em cães de canil da cidade de Lisboa*. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa.
- Li, Z., Galvin, B. D., Raverdy, S. & Carlow, C. K. S. (2011). Identification and characterization of the cofactor-independent phosphoglycerate mutases of *Dirofilaria immitis* and its *Wolbachia* endosymbiont. *Veterinary Parasitology*, 176 (4), pp:350–6. Acedido em Ago., 23, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21324604>.
- Lightowers, M.W., Colebrook, A.L., Gauci, C.G., Gauci, S.M., Kyngdon, C.T., Monkhouse, J.L., Vallejo Rodriguez, C., Read, A.J., Rolfe, R.a. & Sato, C. (2003). Vaccination against cestode parasites: anti-helminth vaccines that work and why. *Veterinary Parasitology*, 115 (2), pp: 83–123. Acedido em Mar., 27, 2014. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401703002024>.
- Magnis, J., Lorentz, S., Guardone, L., Grimm, F., Magi, M., Naucke, T. J. & Deplazes, P. (2013). Morphometric analyses of canine blood microfilariae isolated by the Knott's test enables *Dirofilaria immitis* and *D. repens* species-specific and *Acanthocheilonema* (syn. *Dipetalonema*) genus-specific diagnosis. *Parasites & Vectors*, 6 (1), p:48. Acedido em Ago., 6, 2014. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3598535&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Macpherson, C. N. L. (2013). The epidemiology and public health importance of toxocaríasis: a zoonosis of global importance. *International Journal for Parasitology*, 43(12-13), 999–1008. Acedido em Dez., 17, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23954435>
- Marks, Stanley L. (2005). *Infectious and Parasitic Diseases*. In: Edward H., James S. & David W. (Eds.), *BSAVA - Manual of Canine and Feline Gastroenterology*. (2nd ed). UK: British Small Animals Veterinary Association.
- 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), pp:7– 13. Acedido em Fev., 12, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16971046>.
- Martini, M., Poglayen, G., Capelli, G. & Roda, R. (1991). Diagnosis of canine filariosis: relative sensitivity and specificity of some haematological techniques. [Abstract]

Angew Parasitology. 32 (3), pp:133-6. Acedido em Ago., 9, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1928796>-

- 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), pp: 9050–67. Acedido em Abr., 18, 2014. Disponível em <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4199006&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- McCall, J. W., Kramer, L., Genchi, C., Guerrero, J., Dzimianski, M. T., Supakorndej, P., Mansour, A., McCall, S D., Supakorndej, N., Grandi, G. & Carson, B. (2011). Effects of doxycycline on early infections of *Dirofilaria immitis* in dogs. *Veterinary Parasitology*, 176 (4), pp: 361– 7. Acedido em Set., 16, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21345592>.
- McCall, J. W., Kramer, L., Genchi, C., Guerrero, J., Dzimianski, M. T., Mansour, A, McCall, S.D., Carson, B. (2014). Effects of doxycycline on heartworm embryogenesis, transmission, circulating microfilaria, and adult worms in microfilaremic dogs. *Veterinary Parasitology*, 206(1-2), pp:5–13.
- Miranda, B. O. (2011). *Contribuição para o estudo da prevalência de Dirofilariose Felina na Sub-Região do Baixo Vouga*. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.
- Montoya-Alonso, J. a, Carretón, E., Corbera, J. a, Juste, M. C., Mellado, I., Morchón, R. & Simón, F. (2011). Current prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs, cats and humans from the island of Gran Canaria, Spain. *Veterinary Parasitology*, 176 (4), pp: 291–4. Acedido em Set., 17, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21310532>.
- Montresor, A. & Palmer, K. (2006). Taeniasis/cysticercosis trend worldwide and rationale for control. *Parasitology International*, 55, pp: 301–3. Acedido em Abr., 10, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16337431>.
- Morchón, R., Carretón, E., González-Miguel, J. & Mellado-Hernández, I. (2012). Heartworm Disease (*Dirofilaria immitis*) and Their Vectors in Europe - New Distribution Trends. *Frontiers in Physiology*, 3 (196). Acedido em Out., 6, 2014. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3372948&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Morgan, E. R., Shaw, S. E., Brennan, S. F., Waal, T. D. De, Jones, B. R., Mulcahy, G. (2005). *Angiostrongylus vasorum* : a real heartbreaker. *Trends in Parasitology*, 21 (2), pp: 49 – 51. Acedido em Set., 30, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15664523>.
- Morgan, E. R., Jefferies, R., Krajewski, M., Ward, P. & Shaw, S. E. (2009). Canine pulmonary angiostrongylosis: the influence of climate on parasite distribution. *Parasitology International*, 58 (4), pp:406– 10. Acedido em Set., 30, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19683596>.

- Morgan, E. R., Jefferies, R., van Otterdijk, L., McEniry, R. B., Allen, F., Bakewell, M. & Shaw, S. E. (2010). *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs: Presentation and risk factors. *Veterinary Parasitology*, 173 (3-4), pp:255–61. Acedido em Out., 18, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20692767>.
- Morgan, E. R., & Shaw, S. (2010). *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs: continuing spread and developments in diagnosis and treatment. *The Journal of Small Animal Practice*, 51 (12), pp: 616–21. Acedido em Out., 23, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20964690>.
- Musa, M., & Bajalan, M. (2010). Prevalence of intestinal helminths in stray dogs of Kalar city/ Sulaimani province. *Iraqi Journal of Veterinary Medicine*, 34 (1), pp: 151– 157. Acedido em Mar., 13, 2014. Disponível em: <http://www.iasj.net/iasj?func=fulltext&aId=43168>
- Nabais, J. N. P. (2012). *Infecção por Aelurostrongylus abstrusus e Angiostrongylus vasorum (Nematoda: Angiostrongylidae), em gatos e cães no distrito de Lisboa, Portugal*. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa.
- Neira, P. O., Leonor, J. M. & Muñoz, N. S., (2008). Infección por *Dipylidium caninum* en un preescolar. Presentación del caso y revisión de la literatura. *Revista Chilena de Infectología*, 25 (6), pp: 465–471. Acedido em Mai., 22, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182008000600010%20>.
- 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 (3-4), pp: 295–8. Acedido em Out, 29, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24433853>.
- Ngui, R., Lim, Y. L., Traub, R., Mahmud, R. & Mistam, M. S., (2012). Epidemiological and genetic data supporting the transmission of *Ancylostoma ceylanicum* among human and domestic animals. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 6 (2), pp: 1522. Acedido em Fev., 10, 2014. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3274503&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Oliveira-Júnior, S. D., Barçante, J. M. P., Barçante, T. a, Ribeiro, V. M. & Lima, W. S. (2004). Ectopic location of adult worms and first-stage larvae of *Angiostrongylus vasorum* in an infected dog. *Veterinary Parasitology*, 121 (3-4), pp:293–6. Acedido em Set., 8, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15135869>.
- Oliveira-Júnior, S. D., Barçante, J. M. P., Barçante, T. a, Dias, S. R. C. & Lima, W. S. (2006). Larval output of infected and re-infected dogs with *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) Kamensky, 1905. *Veterinary Parasitology*, 141 (1-2), pp:101–6. Acedido em Set., 8, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16769176>.
- Otero, D., Nijse, R., Gomes, L., Alho, A., Overgaauw, P., Hoek, D., Madeira de Carvalho, L.M. (2014) - Prevalência de ovos de *Toxocara* spp. no solo de parques públicos da

área da Grande Lisboa, Portugal – Resultados preliminares. *Acta Parasitológica Portuguesa*, 20 (1/2), 47-50.

- Papazahariadou, M., Founta, A., Papadopoulos, E., Chliounakis, S., Antoniadou-Sotiriadou, K. & Theodorides, Y. (2007). Gastrointestinal parasites of shepherd and hunting dogs in the Serres Prefecture, Northern Greece. *Veterinary Parasitology*, 148 (2), pp:170– 3. Acedido em Mai., 18, 2014. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17573197>.
- Paradies, P., Schnyder, M., Capogna, A., Lia, R. P. & Sasanelli, M. (2013). Canine Angiostrongylosis in Naturally Infected Dogs: Clinical Approach and Monitoring of Infection after Treatment. *The ScientificWorld Journal*, 1 (8). Acedido em Out., 11, 2014. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3891238/>.
- Peribáñez, M. A., Lucientes, J., Arce, S., Morales, M., Castillo, J. A., & Gracia, J. (2001). Histochemical differentiation of *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens* and *Acanthocheilonema dracunculoides* microfilariae by staining with a commercial kit, Leucognost-SP ®. *Veterinary Parasitology*, 102, 173–175. Acedido em Jul, 17, 2014. Disponível em <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401701005167>
- Petry, G., Kruedewagen, E., Kampkoetter, A. & Krieger, K. (2011). Efficacy of emodepside/toltrazuril suspension (Procox® oral suspension for dogs) against mixed experimental *Isospora felis/Isospora rivolta* infection in cats. *Parasitology Research*, 109, pp:29–36. Acedido em Jun., 3, 2014. Disponível em <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21739373>.
- Pullola, T., Vierimaa, J., Saari, S., Virtala, A. M., Nikander, S. & Sukura, A. (2006). Canine intestinal helminths in Finland: Prevalence, risk factors and endoparasite control practices. *Veterinary Parasitology*, 140 (3-4), pp:321–326. Acedido em Mar., 26, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16650936>.
- Quirós, J. L., Jiménez, E., Bonilla, R., Arce, I., Hernández, C. & Jiménez, Y. (2011). Abdominal angiostrongyliasis with involvement of liver histopathologically confirmed: a case report. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 53 (4), 219–222. Acedido em Out., 3, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0036-46652011000400008>.
- R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for statistical computing, Vienna, Austria. Disponível em: <http://www.R-project.org/>
- Reiczigel, J., Földi, J., & Ózsvári, L. (2010). Exact confidence limits for prevalence of a disease with an imperfect diagnostic test. *Epidemiology and Infection*. 138: 1674-1678.
- Reifur, L., Thomaz-Soccol, V. & Montiani-Ferreira, F. (2004). Epidemiological aspects of filariasis in dogs on the coast of Paraná state, Brazil: with emphasis on *Dirofilaria immitis*. *Veterinary Parasitology*, 122 (4), pp:273–86. Acedido em Fev., 23, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15262005>.
- Rocha, C. A. R. (2010). *Dirofilaria immitis e Dirofilariose canina: um estudo retrospectivo*. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Ciências Veterinárias. Vila Real: Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro.

- Rohrbach, B. W., Lutzy, A. & Patton, S. (2011). Attributes, knowledge, beliefs, and behaviors relating to prevention of heartworm in dogs among members of a national hunting dog club. *Veterinary Parasitology*, 176 (4), pp: 324–32. Acedido em Jul., 16, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21310533>.
- Shapiro, Leland S. (2010). *Pathology & Parasitology for Veterinary Technicians*. (2nd ed.). USA: Delmar, Cengage Learning.
- Schnyder, M., Fahrion, a, Ossent, P., Kohler, L., Webster, P., Heine, J. & Deplazes, P. (2009). Larvicidal effect of imidacloprid/moxidectin spot-on solution in dogs experimentally inoculated with *Angiostrongylus vasorum*. *Veterinary Parasitology*, 166 (3-4), pp: 326–32. Acedido em Ago., 21, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19800738>.
- Schnyder, M., Maurelli, M. P., Morgoglione, M. E., Kohler, L., Deplazes, P., Torgerson, P & Rinaldi, L. (2011). Comparison of faecal techniques including FLOTAC for copromicroscopic detection of first stage larvae of *Angiostrongylus vasorum*. *Parasitology Research*, 109 (1), pp:63–9. Acedido em Set., 29, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21181189>
- Schnyder, M. & Deplazes, P. (2012). Cross-reactions of sera from dogs infected with *Angiostrongylus vasorum* in commercially available *Dirofilaria immitis* test kits. *Parasites & Vectors*, 5 (1), p.258. Acedido em Ago., 21, 2014. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3503614&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Schnyder, M., Schaper, R., Bilbrough, G., Morgan, E. R. & Deplazes, P. (2013). Seroepidemiological survey for canine angiostrongylosis in dogs from Germany and the UK using combined detection of *Angiostrongylus vasorum* antigen and specific antibodies. *Parasitology*, 140 (11), pp:1442–50. Acedido em Set., 29, 2014. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3762218&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Schnyder, M., Stebler, K., Naucke, T. J., Lorentz, S., & Deplazes, P. (2014). Evaluation of a rapid device for serological in-clinic diagnosis of canine angiostrongylosis. *Parasites & Vectors*, 7 (72), pp:1–7. Acedido em Set., 29, 2014. Disponível em: <http://www.parasitesandvectors.com/content/7/1/72>.
- Schrey, C. F. & Trautvetter, E. (1998). Canine and feline heartworm disease – diagnosis and therapy. *Waltham Focus*, 8 (2), pp: 23–30. Acedido em Ago., 21, 2014. Disponível em: <http://www.bearscompnewfs.com/health/Waltham%20Center/Canine%20and%20Feline%20Heartworm%20Disease%20-%20Diagnosis%20and%20Therapy.pdf>.
- Schucan, A, Schnyder, M., Tanner, I., Barutzki, D., Traversa, D., & Deplazes, P. (2012). Detection of specific antibodies in dogs infected with *Angiostrongylus vasorum*. *Veterinary Parasitology*, 185 (2-4), pp:216–24. Acedido em Set., 29, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22051072>.
- Silva, M. S. S. (2010). *Rastreo de parasitas gastrintestinais, pulmonares, cutâneos e musculares em canídeos domésticos e silvestres no Norte de Portugal*. Dissertação de

Mestrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa.

- Simón, F., Siles-Lucas, M., Morchón, R., González-Miguel, J., Mellado, I., Carretón, E. & Montoya-Alonso, J. A. (2012). Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. *Clinical Microbiology Reviews*, 25 (3), pp: 507– 44. Acedido em Ago., 21, 2014. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3416488&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Synbiotics Corporation (2014). Canine Witness®*Dirofilaria*. Acedido a Out. 15, 2014. Disponível em: <http://www.synbiotics.com>.
- Tarello, W. (2002). Case report Cutaneous lesions in dogs with *Dirofilaria repens* (*Nochtiella*) infestation and concurrent tick-borne transmitted diseases. *Veterinary Dermatology*, 13, pp: 267–274. Acedido em Ago., 27, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12358611>.
- Traversa, D. (2011). Are we paying too much attention to cardio-pulmonary nematodes and neglecting old-fashioned worms like *Trichuris vulpis*? *Parasites & Vectors*, 4 (1), p:32. Acedido em Jun., 25, 2014. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3063211&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Traversa, D. (2012). Pet roundworms and hookworms: A continuing need for global worming. *Parasites & Vectors*, 5 (91), pp: 1–19. Acedido em Mar., 27, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3418564/>.
- Traversa, D., Di Cesare, A., Meloni, S., Frangipane di Regalbano, A., Milillo, P., Pampurini, F. & Venco, L. (2013). Canine angiostrongylosis in Italy: occurrence of *Angiostrongylus vasorum* in dogs with compatible clinical pictures. *Parasitology Research*, 112 (7), pp: 2473–80. Acedido em Out., 3, 2014. Disponível em: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3683398&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Urquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.L., Dunn, A.M. & Jennings, F.W., (1996). *Veterinary Parasitology*. (2nd ed.). Oxford: Blackwell Publishing.
- Vezzani, D. & Carbajo, A. E. (2006). Spatial and temporal transmission risk of *Dirofilaria immitis* in Argentina. *International Journal for Parasitology*, 36 (14), pp:1463–72. Acedido em Ago., 28, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17027990>.
- Vieira, L., Silvestre-Ferreira, a C., Fontes-Sousa, a P., Balreira, a C., Morchón, R., Carretón, Vilhena, E. H., Simón, F., Montoya-Alonso, J. a. (2014a). Seroprevalence of heartworm (*Dirofilaria immitis*) in feline and canine hosts from central and northern Portugal. *Journal of Helminthology*, pp:1–5.
- Vieira, A. L., Vieira, M. J., Oliveira, J. M., Simões, A. R., Diez-Baños, P., & Gestal, J. (2014b). Prevalence of canine heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) in dogs of central Portugal. *Parasite* (Paris, France), 21, 5. Acedido em Set., 3, 2014. Disponível em:

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3927308&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.

- Watier-Grillot, S., Marié, J.-L., Cabre, O., & Davoust, B. (2011). Survey of Canine *Dirofilaria immitis* Infection in New Caledonia. *Veterinary Medicine International*, 2011, 380680. Acedido em Set., 10, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3087388/>.
- Willesen, J. L., Jensen, A. L., Kristensen, A. T. & Koch, J. (2009). Haematological and biochemical changes in dogs naturally infected with *Angiostrongylus vasorum* before and after treatment. *Veterinary Journal* (London, England: 1997), 180 (1), pp: 106–11. Acedido em Out, 12, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18083051>.
- Woodhall, D. M., Eberhard, M. L. & Parise, M. E. (2014). Neglected parasitic infections in the United States: toxocariasis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 90(5), pp: 810–3. Acedido em Dez., 17 de 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4015569/>.
- Yuasa, Y., Hsu, T.H., Chou, C.C., Huang, C.C., Huang, W.C., & Chang, C.C. (2012). The comparison of spatial variation and risk factors between mosquito-borne and tick-borne diseases: Seroepidemiology of *Ehrlichia canis*, *Anaplasma* species, and *Dirofilaria immitis* in dogs. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 35 (6), pp: 599–606. Acedido em Set., 19, 2014. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22925931>.
- Zajac, A. M. & Conboy, G. A., (2012). *Veterinary Clinical Parasitology*. (8th ed.). UK: John Wiley & Sons, Inc.
- Zoetis (2014). *Witness®Dirofilária: Product Performance*. Acedido a Nov. 22, 2014. Disponível em: <https://www.zoetis.com.au/products/466/witness-dirofilariareg.aspx>

VI. ANEXOS

Anexo 1: Valor e prevalências (%) de nemátodos gastrointestinais em amostras de fezes e solo de canídeos domésticos e silvestres, em diferentes países, incluindo Portugal.

	Ancylostomatidae	Ascarididae		<i>T. vulpis</i>
		<i>T. canis</i>	<i>T. leonina</i>	
Cantanhede, Portugal ¹ [n=301]	(123) 40.9% [35.3%-46.5%]	(24) 8% [5.2%-11.5%]	-	(90) 29.9% [24.8%-35.3%]
Lisboa, Portugal ² [n _A =151; n _B =135]	-	A: (80) 53% [45%-61%]; B: (8) 6% [2.6%-11.2%]	-	-
Ponte de Lima, Portugal ³ [n _A =296; n _B =195; n _C =101]	A: (132) 44.59% [39%-50.3%] B: (61) 31.28% [25%-38.2%] C: (71) 70.30% [60.5%-78.9%]	A: (22) 7.43% [4.8%-11%] B: (22) 11.3% [7.2%-16.5%] C: (11) 10.9% [5.8%-18.5%]	A: (22) 7.43% [4.8%-11%] - - -	A: (2) 34.46% [0.1%- 2.4%] B: (64) 32.82% [26.3%-39.7%] C: (50) 49.50% [39.5%-59.5%]
Porto, Portugal ⁴ [n _H = 175; n _D = 193]	-	H: (9) 5.1% [2.6%-9.5%] D: (15) 7.8% [4.4%-12.3%]	-	H: (2) 1.1% [0.2%- 4%] D: (5) 2.6% [1%- 5.8%]
Évora, Portugal ⁵ [n= 148]	(9) 6.1% [3.2%-11.2%]	(3) 2% [0.5%-5.8%]	(1) 0.7% [0-3.5%]	(1) 0.7% [0-3.5%]
Lisboa, Portugal ⁶ [n=179]	(17) 9.5% [5.7%-14.6%]	(5) 2.8% [1.1%-6.2%]	(8) 4.5% [2-8%.5%]	(2) 1.1% [0.2%-3.9%]
Norte de Portugal ⁷ [n=284]	(147) 51.8% [45.9%-57.6%]	(35) 12.3% [8.8%-16.6%]	(15) 5.3% [3%-8.5%]	(11) 3.9% [1.9%-6.7%]
Espanha ⁸ [n=1800]	(599) 33.8% [31.1%-35.5%]	(319) 17.72% [16%-19.5%]	(269) 14.9% [13%-16.7%]	(30) 1.67% [1.1%-2.4%]
Alemanha ⁹ [n=21516]	(473) 2.2% [2%-2.4%]	(1313) 6.1% [5.8%-6.4%]	(129) 0.6% [0.5%-0.7%]	(258) 1.3% [1.1%-1.4%]
Serres Prefecture, Norte da Grécia ¹⁰ [n=281]	(8) 2.8% [1.3%-5.4%]	(36) 12.8% [9.3%-17.2%]	(2) 0.7% [0.1%-2.5%]	(27) 9.6% [6.4%-13.6%]
Finlândia ¹¹ [n=541]	(14) 2.6% [1.5%-4.3%]	(17) 3.1% [1.9%-4.9%]	-	(1) 0.2% [0-1%]
São Paulo, Brasil ¹² [n=1755]	(223) 12.7% [11.2%-14.3%]	(46) 2.6% [1.9%-3.5%]	-	(31) 1.8% [1.2%-2.5%]
Argentina ¹³ [n=2193]	(285) 13.4% [11.6%-14.5%]	(241) 11% [9.7%-12.4%]	-	(219) 10.1% [8.8%-11.3%]

Intervalo de Confiança de 95%

¹(Cardoso et al., 2014); ²(Otero et al., 2014. A- Amostras de solo de parques públicos; B- Amostras fecais colhidas em parques públicos); ³(Mateus et al., 2014. A- amostras fecais colhidas em jardins públicos; B- amostras fecais colhidas em quintas agrícolas; C- amostras fecais de cães de caça); ⁴(Neves et al., 2014. H-amostras de cães aparentemente saudáveis; D- amostras de cães com sinais de doença gastrointestinal); ⁵(Ferreira et al., 2011); ⁶(Lebre, 2011); ⁷(Silva, 2010); ⁸(Martínez-Moreno et al., 2007); ⁹(Barutzki & Schaper, 2011); ¹⁰(Papazahariadou, Founta, Papadopoulos, Chliounakis, Antoniadou-Sotiriadou & Theodorides, 2007); ¹¹(Pullola et al., 2006); ¹²(Funada et al., 2007); ¹³(Fontanarrosa et al., 2006).

Anexo 2: Ocorrência e prevalência (%) de céstodes em diversos países, incluindo Portugal.

	Taeniidae	Echinococcus	Dipylidiidae
	<i>Taenia</i> spp.	<i>Echinococcus</i> spp.	<i>D. caninum</i>
Portugal, Lisboa ¹ [n=179]	(1) 0,6% [0-2,9%]		(2) 1,1% [0,2%-3,9%]
Portugal, Norte ² [n=284]	(8) 2,8% [1,2%-5,3%]		-
Portugal, Norte ³ [n=68]	<i>T. hydatigena</i> : (8) 11,8% [5,5%-21,9%] <i>T. serialis</i> : (4) 5,9% [2%-14,5%] <i>T. pisiformis</i> : (2) 2,9% [0,5%-10,1%] <i>T. polyacantha</i> : (1) 1,5% [0,8%-7,8%]	<i>E. granulosus</i> (G7) (1) 1,5% [0,8%-7,8%]	-
Ponte de Lima, Portugal ⁴ [n _A =296; n _B =195; n _C =101]	A: (1) 0,34% [0-1,8%] B: (1) 0,51% [0-2,6%] C: (2) 1,98% [0,4%-6,6%]		A: (2) 0,68% [0,1%-2,4%] B: (2) 1,02% [0,2%-3,6%] C: (1) 0,99% [0-5,1%]
Cantanhede, Portugal ⁵ [n=301]	(5) 1,7% [0,7%-3,7%]		-
Espanha ⁶ [n=1800]	(154) 8,56% [7,3%-9,9%]		(238) 13,2% [11,7%-14,9%]
Iraque ⁷ [n=50]	(39) 78% [64,5%-88,4%]		(13) 26% [14,8%-39,6%]
Irão ⁸ [n=100]	(61) <i>T. hydatigena</i> 61% [51,4%-70,6%]	(10) <i>E. granulosus</i> 10% [4,1%-15,9%]	(46) 46% [36,1%-56,2%]
Jordânia ⁹ [n=340]	(40) <i>T. pisiformis</i> 11,8% [7,7%-14,9%] (25) <i>T. hydatigena</i> 7,4% [4%-9,8%] (15) <i>T. ovis</i> 4,4% [2,7%-7,2%] (13) <i>T. multiceps</i> 3,8% [2,2%-6,4%] (10) <i>T. taeniformis</i> 2,9% [1,6-5,3%]	(32) <i>E. granulosus</i> 9,4% [5,8%-12,2%]	(66) 19,4% [14,6%-23,4%]

[Intervalo de Confiança de 95%]

¹(Lebre, 2011); ²(Silva, 2010 - Amostras de cães domésticos (*Canis familiaris*), raposa (*Vulpes vulpes*) e lobo ibérico (*Canis lupus*)); ³(Guerra et al., 2013- Amostras de lobo ibérico – (*Canis lupus*)); ⁴ (Mateus et al., 2014. A- amostras fecais colhidas em jardins públicos; B- amostras fecais colhidas em quintas agrícolas; C- amostras fecais de cães de caça); ⁵(Cardoso et al., 2014); ⁶(Martínez-Moreno, 2007); ⁷(Musa & Bajalan, 2010); ⁸(Adinezadeh, Kia, Mehdi, Rokni & Zabihollah, 2013); ⁹(Abdel-Hafez, Kamhawi & El-Shehabi, 1999).

Anexo 3: Mapa de distribuição de *D. immitis* na população canina e felina em Portugal (AS – animais aparentemente saudáveis; SD – suspeitos de doenças transmitidas por vetores). Fonte: Alho et al. (2014a).

Dirofilariose canina em Portugal

Norte 2,9% AS, 3,4% CS (Cardoso et al, 2012)⁴
Centro 0,9% AS, 7,4% CS (Cardoso et al, 2012)⁴

Baixo-Vouga 9,3% (Rendall Rocha, 2010)¹¹

Coimbra 13,8% (Alho et al, 2013)¹², **8,8%**
 (Balreira, 2011)¹⁰, **13%** (Sousa et al, 2008)¹³

Figueira da Foz 27,3% (Vieira et al., 2014)¹⁴

Santarém 13,2% (Alho et al, 2013)¹²

Lisboa 2,4% AS, 5,8% CS
 (Cardoso et al, 2012)⁴

Setúbal 24,8% (Alho et al, 2013)¹² **9%**
 Serra Arrábida, **11,2%** Estuário Sado
51,2% (Gomes e Grácio, 2003)¹⁵

Alentejo 4,7% AS, 14% CS (Cardoso et al, 2012)⁴, **16,5%** (Araújo, 1996)¹⁶

Algarve 5,1% AS, 17,1% CS (Cardoso et al, 2012)⁴, **16,5%** (Araújo, 1996)¹⁶

Açores 0% (Cardoso et al, 2012)⁴

Madeira 40% AS, ND CS (Cardoso et al, 2012)⁴; **11,7%** (Pereira et al, 2010)¹⁷; **30%** (Araújo, 1996)¹⁶

Dirofilariose felina em Portugal

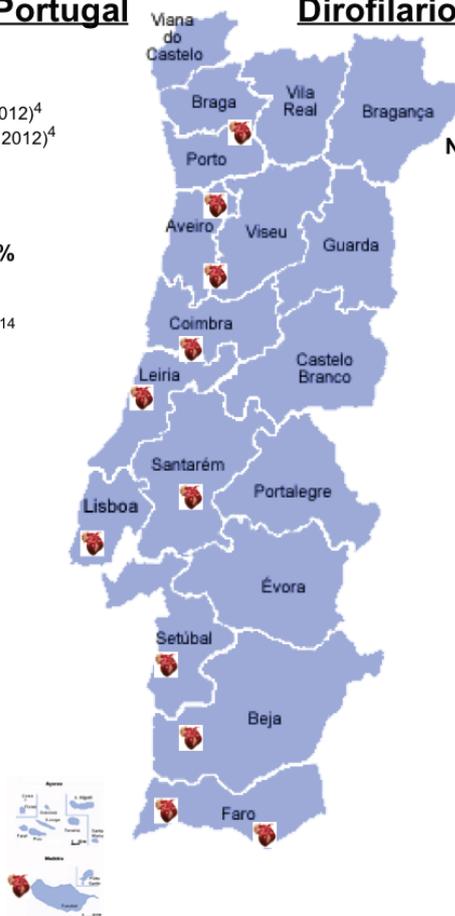
Norte/Centro Norte seroprevalência 17,5% (Vieira et al, 2011)⁵

Baixo-Vouga 1,4%
 (Miranda, 2011)⁵

Área Metropolitana Lisboa 1,4%
 (Rosa, 2009)⁶

Região Sado 1,2%
 (Almeida, 2010)⁷

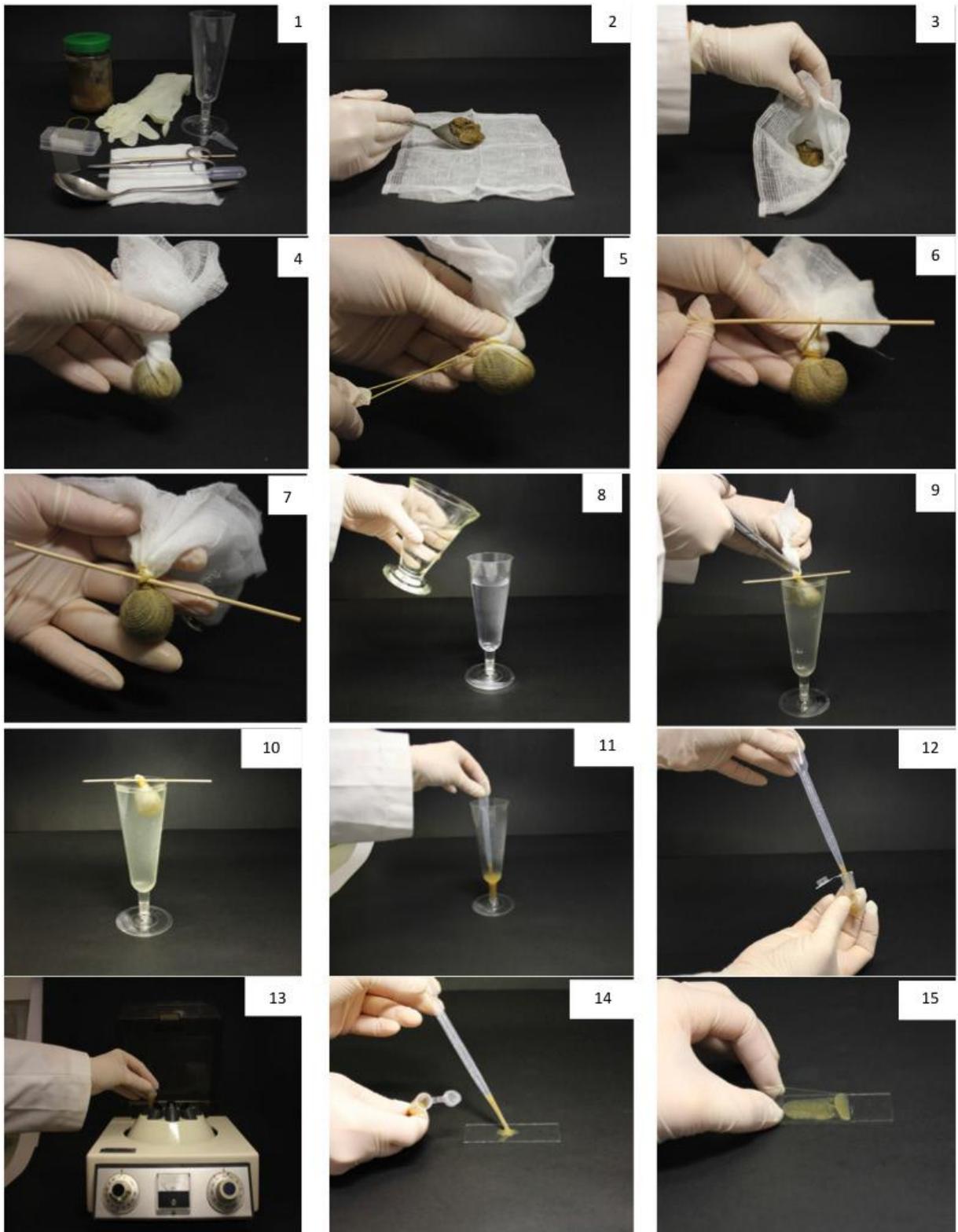
Olhão 6% (Ramos et al., 2012)⁸



Anexo 4: Protocolo Terapêutico recomendado pela American Heartworm Society para tratamento da Dirofilariose Canina Cardiopulmonar. Adaptado de American Heartworm Society, Canine Guidelines (2014).

Dia	Tratamento
Dia 0	<p>Canídeo com diagnóstico positivo para infecção por <i>Dirofilaria immitis</i>.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Teste Ag positivo confirmado por um segundo teste de Ag ou por microfilarémia. • Sinais clínicos de DirCan e Teste Ag positivo e microfilarémia. <p>• Iniciar restrição de exercício físico - quanto mais pronunciados forem os sintomas, mais rigorosa deve ser a restrição de exercício.</p> <p>Se o cão for sintomático:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Estabilizar com terapêutica de suporte adequada; • Prednisona a 0.5 mg/kg, PO, BID 1ª semana, 0.5 mg/kg SID 2ª semana, 0.5 mg/kg em dias alternados nas 3ª e 4ª semanas.
Dia 1	<p>Administrar Microfilaricida (Lactonas macrocíclicas).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Se houver microfilarémia, administrar previamente anti-histamínicos (e glucocorticóides se não estiver a ser medicado com prednisolona) para reduzir o risco de choque anafilático. • Vigiar atentamente, pelo menos as primeiras 8 horas, para pesquisa de sinais adversos à medicação.
Dias 1-28	<p>Administrar Doxiciclina 10 mg/kg, PO, BID durante 4 semanas.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Permite reduzir a patologia associada à morte dos vermes adultos. • Provoca esterilidade das fêmeas e amicrofilarémia, impedindo a transmissão de Dirofilariose.
Dia 30	Administrar Microfilaricida (Lactonas macrocíclicas).
Dia 60	<p>Administrar Microfilaricida (Lactonas macrocíclicas) e 1ª injeção de Melarsomina 2.5 mg/kg intramuscular (IM).</p> <p>Repetir Prednisona a 0.5 mg/kg, PO, BID 1ª semana, 0.5 mg/kg SID 2ª semana, 0.5 mg/kg e em dias alternados na 3ª e 4ª semana.</p> <p>Diminuir o nível de atividade física, restringindo o animal a uma jaula/passeio muito curto e sempre a trela.</p>
Dia 90	Administrar Microfilaricida (Lactonas macrocíclicas) e 2ª injeção Melarsomina (2.5 mg/kg IM).
Dia 91	<p>3ª Injeção de Melarsomina (2.5 mg/kg IM) e repetir Prednisona a 0.5 mg/kg, PO, BID 1ª semana, 0.5 mg/kg SID 2ª semana, 0.5 mg/kg e em dias alternados 3ª e 4ª semana.</p> <p>Manter restrição de exercício durante 6 a 8 semanas.</p>
Dia 120	<p>Testar a presença de Microfilárias</p> <ul style="list-style-type: none"> • Se positivo, repetir o tratamento de 30 dias com Doxiciclina (10 mg/kg, PO, BID), e após 4 semanas, avaliar novamente a presença de microfilárias. <p>Iniciar prevenção da Dirofilariose durante todo o ano.</p>
Dia 271	Dia 271 Testar a pesquisa de antígeno, 6 meses após o fim da terapêutica.

Anexo 5- Técnica de Baermann passo a passo. Fonte Alho et al. (2013).



Anexo 6- Fichas para recolha de informação sobre o animal, no acto de colheita de sangue.

**FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
UNIVERSIDADE DE LISBOA**

Registos de campo na colheita de amostras

Nº/ID	Idade	Sexo	CC	Dados clínicos imp.	Lesões/ LN	Obs. de paras. Ext.	Amostra	Obs.

Local: _____

Data: ____/____/____

Anexo 7- Resumo da comunicação oral apresentada no dia 21 de Novembro de 2014, no XVII Congresso da Sociedade Portuguesa de Parasitologia na Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (Alho, A.M., Félix, L.B., Meireles, J., Belo, S., Madeira de Carvalho, L., 2014c).

PARASIToses GASTROINTESTINAIS E CARDIOPULMONARES EM CANÍDEOS - ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO EM CANIS DE PORTUGAL CONTINENTAL*

A.M. Alho¹, L.B. Félix¹, J. Meireles¹, S. Belo², L. Madeira de Carvalho¹

¹Centro de Investigação Interdisciplinar em Saúde Animal (CIISA), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa (FMV-ULisboa), Avenida da Universidade Técnica, 1300-477 Lisboa, Portugal.

²Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Rua da Junqueira N°100, 1349-008 Lisboa, Portugal.

Introdução: As parasitoses gastrointestinais e cardiopulmonares dos animais de companhia são doenças de distribuição mundial e que constituem actualmente um grave problema de Saúde Pública e Animal. Dados concretos sobre a situação epidemiológica em Portugal são escassos e pontuais. Com o intuito de colmatar esta lacuna, foi desenhado um estudo epidemiológico de larga escala, de Norte a Sul do País, com o objetivo de avaliar o grau de parasitismo de canídeos domésticos da região interior de Portugal.

Material e Métodos: Entre Maio e Setembro de 2014 procedeu-se à colheita de 248 amostras de sangue e 171 amostras fecais de canídeos mantidos em canis de sete distritos de Portugal continental: Bragança, Guarda, Castelo Branco, Portalegre, Évora, Beja e Faro. Para pesquisa de infecção por *Dirofilaria immitis*, foi utilizado o kit rápido de antigénio (Witness@Dirofilaria) e a Técnica de Knott modificada para identificação e diferenciação de microfilárias. Para observação e caracterização das formas parasitárias nas amostras fecais, procedeu-se à realização de métodos coprológicos qualitativos, como a Técnica de Flutuação de Willis, a Técnica de Sedimentação e a Técnica de Baermann.

Resultados: Observou-se uma prevalência global de 2,8% (7/248) de infecção por *D. immitis*, sendo Beja o distrito com maior prevalência (8,9%), seguido da Guarda (6,7%), Faro (2,7%) e Castelo Branco (2,5%). Não foram registados casos positivos de *D. immitis* em Bragança, Portalegre e Évora. Observou-se a presença de microfilárias de *Acanthocheilonema* spp. em 4,5% das amostras colhidas no distrito de Beja e em 2,7% das amostras colhidas em Faro, não se observando no entanto, microfilárias de *D. repens* nos sete distritos avaliados. Do total de amostras fecais analisadas, 27,5% (47/171) apresentavam-se parasitadas, registando-se co-infecção em 4,7% (8/171) das amostras. Entre as classes observadas com maior frequência destaca-se a infecção por nemátodes (70,2%), seguida por protozoários (31,9%) e em último caso por céstodes (14,9%). Os helmintos da família *Ancylostomatidae* foram os parasitas gastrointestinais observados com maior prevalência (12,9%), seguindo-se as coccídias do género *Cystoisospora* (8,2%), o género *Toxocara* (5,3%), a família *Taeniidae* (4,1%) e por último, as espécies *Toxascaris leonina* e *Trichuris vulpis* (cada com 1,75%). A coinfecção mais frequentemente registada foi entre *Ancylostomatidae* e *Cystoisospora* (2,3%). Não foram observados estádios larvares de nemátodes pulmonares assim como de formas parasitárias de *Dipylidium caninum* em nenhum dos canis analisados. Castelo Branco foi o distrito com maior prevalência de animais afectados por parasitoses gastrointestinais com 36% (9/25), seguido da Guarda com 33,3% (5/15), Portalegre com 33% (11/33), Beja com 27,6% (8/29), Bragança com 26,9% (7/26), Évora com 25% (5/20) e Faro com 8,7% (2/23).

Conclusões: Estes resultados reflectem um elevado grau de parasitismo nos animais dos canis dos sete distritos avaliados, em particular por *Ancylostomatidae*, *Cystoisospora* spp., *Toxocara* spp., *Taeniidae* e *D. immitis*. Atendendo ao potencial zoonótico e impacto em Saúde Pública de muitos destes agentes parasitários, estes dados alertam para a necessidade urgente de sensibilização da população em geral e da comunidade médico-veterinária para a realização de uma profilaxia dirigida e regular em animais de companhia, em Portugal. Adicionalmente, destaque-se o facto de ambientes de canil conjugarem características ideais para a infecção continuada por parasitas com ciclo de vida directo, alguns dos quais com potencial zoonótico. Por este motivo, é também crucial a consciencialização das pessoas que contactam regularmente com animais presentes neste tipo de ambiente, como funcionários, voluntários e visitantes, para a adopção de medidas que permitam quebrar o ciclo e evitar a transmissão destes agentes.

Palavras-chave: cão, parasitoses gastrintestinais e pulmonares, canis, zoonoses, Portugal continental.