

Nathalie Belle Santiago Monteiro

**Contribuição para o conhecimento do parasitismo em raposas (*Vulpes vulpes*) no
Alentejo**



UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Faculdade de Medicina e Ciências Biomédicas

2024

Nathalie Belle Santiago Monteiro

Contribuição para o conhecimento do parasitismo em raposas (*Vulpes vulpes*) no Alentejo

Mestrado em Ciências Biomédicas: Mecanismos de Doenças

Trabalho efetuado sob a orientação de:

Professor Doutor Helder Carola Espiguiha Cortes

Professor Doutor Francisco Ángel Bueno Pallero



UNIVERSIDADE DO ALGARVE

Faculdade de Medicina e Ciências Biomédicas

2024

**Contribuição para o conhecimento do parasitismo em raposas (*Vulpes vulpes*) no
Alentejo**

Declaração de autoria de trabalho

Declaro ser a autora deste trabalho, que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída.

(Assinatura)

Direitos de cópia ou Copyright © em nome de Nathalie Belle Santiago Monteiro

A Universidade do Algarve reserva para si o direito, em conformidade com o disposto no Código do Direito de Autor e dos Direitos Conexos, de arquivar, reproduzir e publicar a obra, independentemente do meio utilizado, bem como de a divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição para fins meramente educacionais ou de investigação e não comerciais, conquanto seja dado o devido crédito ao autor e editor respetivos.

AGRADECIMENTOS

Muitas são as pessoas que de uma forma ou de outra encontraram-se envolvidas nesta minha trajetória, sem as quais a conclusão de mais esta etapa e deste trabalho não seria possível. Não existem palavras suficientes, que possam expressar toda a minha gratidão.

Gostaria de começar por agradecer ao professor Helder Cortes, responsável pelo laboratório de Parasitologia Victor Caeiro da Universidade de Évora, por ter aceite ser meu orientador, pela forma como me recebeu, pelo convívio, pela partilha de seus conhecimentos e por me fazer sentir sempre confortável para expressar as minhas ideias e vontades.

Ao professor Francisco Pallero, docente da Universidade do Algarve, por ter aceite com prontidão ser meu coorientador e por ter se mostrado sempre disponível para ajudar no que fosse necessário.

À Dra. Maria João Vila-Viçosa, uma alma luminosa e boa no laboratório de Parasitologia Victor Caeiro da Universidade de Évora, por todos os ensinamentos, pela paciência, pelo seu acompanhamento nas infindáveis horas de necropsias, pelo suporte em cada parte do processo, pelos milhares de abraços, pela preocupação e por esta amizade linda que levo no coração.

Ao Rodrigo Albuquerque, aluno do curso de Medicina Veterinária da Universidade de Évora, por se prontificar para ajudar na realização das necropsias, pela assistência em todos os outros processos quando tinha disponibilidade, pelas longas conversas e partilhas de conhecimento, pela companhia no autocarro da Mitra, fazendo-me sentir menos estranha numa universidade onde não conhecia ninguém.

Às Dras. Rita Sousa, Ana Santos e Líbia Zé-Zé, investigadoras no Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas Doutor Francisco Cambournac, por todo o auxílio, disponibilidade e valorização que resultou da sua colaboração nos trabalhos que desenvolvi.

Aos caçadores, por terem aceite participar deste projeto e por terem cedido as raposas sem as quais este estudo não seria possível, em especial ao Dr. Miguel Fernandes, por todo o contributo para o presente trabalho.

Às minhas colegas de turma, Teresa Fidalgo, Adriana Vaz e Jéssica Martins, pelo companheirismo, pela amizade, pelos trabalhos em grupo, pelos dias de estudo, pela motivação nos dias de desespero pré e pós exames, pelas horas de conversa e banhos de sol na esplanada da FMCB, pelos almoços e pelos dias de praia.

Aos meus pais e irmãs, que mesmo estando longe me apoiaram em todo esse processo e me levantaram todas as vezes que caí e pensei em desistir, dando-me amor, acolhimento e compreensão.

Por fim gostaria de agradecer a Deus, o maior responsável pelo fim de mais este ciclo, por ter guiado os meus caminhos, por ter enviado a meu encontro pessoas tão maravilhosas e por ser o meu socorro nos momentos de angústia.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE ABREVIATURAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Fauna parasitária da raposa-vermelha (<i>Vulpes vulpes</i>)	3
1.1.1. Ácaros Astigmatas.....	4
1.1.1.1. <i>Otodectes cynotis</i>	4
1.1.1.2. <i>Sarcoptes scabiei</i>	6
1.1.2. Ixodídeos e argasídeos	9
1.1.2.1. <i>Rhipicephalus sanguineus</i> (sensu lato).....	13
1.1.2.2. <i>Ixodes ricinus</i>	15
1.1.2.3. <i>Ixodes hexagonus</i>	15
1.1.2.4. <i>Dermacentor reticulatus</i>	16
1.1.2.5. <i>Haemaphysalis consinna</i>	17
1.1.3. Pulgas	17
1.1.4. Trematodes	21
1.1.4.1. <i>Alaria alata</i>	22
1.1.5. Cestodes	24
1.1.5.1. Família Dipylididae	25
1.1.5.2. Família Mesocestoididae	26
1.1.5.3. Família Taeniidae.....	28
1.1.6. Nematodes.....	30
1.1.6.1. <i>Angiostrongylus vasorum</i>	31
1.1.6.2. <i>Capillaria aerophila</i>	32
1.1.6.3. <i>Capillaria plica</i>	33
1.1.6.4. <i>Crenosoma vulpis</i>	34
1.1.6.5. <i>Rictularia affinis</i>	35
1.1.6.6. <i>Toxocara canis</i>	36
1.1.6.7. <i>Trichinella spiralis</i>	37

1.1.6.8. <i>Uncinaria stenocephala</i>	39
1.1.7. Protozoários.....	40
1.1.7.1. <i>Babesia</i> spp.....	42
1.1.7.2. Coccídeas (<i>Eimeria</i> spp. e <i>Isospora</i> spp.).....	45
1.1.7.3. <i>Hepatozoon canis</i>	47
1.1.7.4. <i>Sarcocystis</i> spp.....	49
1.1.7.5. <i>Leishmania infantum</i>	51
2. OBJETIVOS DO TRABALHO.....	53
3. MATERIAIS E MÉTODOS	54
3.1. Necropsia parasitológica	55
3.2. Coprologia e cultura de oocistos.....	57
3.3. Análise do cerúmen	57
3.4. Identificação de larvas broncopulmonares.....	57
3.5. Pesquisa de quistos de <i>Sarcocystis</i> nos músculos.....	58
3.6. Análise dos raspados intestinais.....	58
3.7. Coloração rápida de esfregaços	58
3.8. Coloração de parasitas	59
3.9. Pesquisa de <i>Trichinella</i>	60
3.10. Métodos moleculares	60
3.11. Análise estatística	62
4. RESULTADOS.....	63
5. DISCUSSÃO	72
6. CONCLUSÃO.....	81
REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82

LISTA DE FIGURAS

- Figura 3.1:** Mapa dos locais onde foram caçadas as raposas. **Fonte:** Imagem obtida e adaptada através do Google My Maps. 55
- Figura 4.1:** Nematodes. **A)** Extremidade posterior de macho de *A. vasorum*, parasita colhido nos sedimentos do coração; **B)** Larva L1 de *C. vulpis*, parasita colhido nos sedimentos do pulmão; **C)** Ovos no interior de *C. plica*, parasita colhido nos sedimentos da bexiga ; **D)** Extremidade posterior de *U. stenocephala*, parasita colhido nos sedimentos do intestino delgado; **E)** Extremidade anterior de *U. stenocephala*, parasita colhido nos sedimentos de intestino delgado; **F)** Ovo de *U. stenocephala* visualizado em amostras fecais; **G)** *T. canis*, parasita colhido no intestino delgado; **H)** Extremidade anterior de *R. affinis* com projeções cuticulares, parasita colhido no intestino delgado; **I)** *C. aerophila* na traqueia. **Fonte:** Original 69
- Figura 4.2:** Protozoários. **A)** Oocisto de *Sarcocystis* spp. visualizado em amostras de raspados intestinais; **B)** Oocisto de *Isospora* spp. visualizado em amostras fecais; **C)** Oocisto de *Eimeria* spp. visualizado em amostras fecais. **Fonte:** Original 70
- Figura 4.3:** Cestodes. **A)** Extremidade anterior de *M. lineatus*, parasita colhido do intestino delgado; **B)** Extremidade anterior de *J. echinorhynchoides*, parasita colhido do intestino delgado; **C)** Extremidade anterior de *Taenia* spp., parasita colhido do intestino delgado; **D)** Ganchos de *Taenia* spp. parasita colhido do intestino delgado. **Fonte:** Original..... 70
- Figura 4.4:** Trematodes. **A)** *A. alata*, parasita adulto colhido no intestino delgado; **B)** Ovo de *A. alata* visualizado em amostras fecais. **Fonte:** Original..... 70
- Figura 4.5:** Ectoparasitas. **A)** *O. cynotis*, parasita visualizado em amostras de cerúmen; **B)** *F. vulpis*, parasita colhido da pelagem. **Fonte:** Original 71

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1: Espécies de ixodídeos que parasitam raposas-vermelhas	13
Tabela 1.2: Espécies de pulgas que parasitam raposas-vermelhas	21
Tabela 1.3: Espécies de trematodes que parasitam raposas-vermelhas	22
Tabela 1.4: Espécies de tênias que infetam raposas-vermelhas.....	29
Tabela 1.5: Espécies de nematodes que parasitam raposas-vermelhas	31
Tabela 1.6: Géneros de protozoários que parasitam raposas-vermelhas	42
Tabela 1.7: Espécies de <i>Babesia</i> e seus hospedeiros e vetores correspondentes.....	43
Tabela 1.8: Espécies de coccídeas e seus hospedeiros	47
Tabela 1.9: Espécies de <i>Sarcocystis</i> e seus hospedeiros.....	50
Tabela 3.1: Herdades onde foram caçadas as raposas	54
Tabela 4.1: Prevalência de parasitas nas raposas-vermelhas	64
Tabela 4.2: Prevalência de parasitas correlacionada ao sexo das raposas	66
Tabela 4.3: Prevalência de ectoparasitas em raposas com pelagem	67
Tabela 4.4: Prevalência de infecções mistas em raposas e os parasitas envolvidos nestas infecções.....	68
Tabela 4.5: Prevalência de infecções mistas comparando os dois sexos.....	69

LISTA DE ABREVIATURAS

Bp – pares de base

DNA – Ácido desoxirribonucleico

ELISA – Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Ensaio de imunoabsorção enzimática)

G – Força centrífuga (aceleração relativa a gravidade)

IC – Intervalo de confiança

IFAT – Immunofluorescence Antibody Test (Teste de anticorpos por imunofluorescência)

L₁ – primeiro estágio larvar

L₂ – segundo estágio larvar

L₃ – terceiro estágio larvar

One Health – Uma única saúde (pessoas, animais e ecossistemas)

PBS – Phosphate-Buffered Saline (Tampão fosfato-salino)

PCR – Polymerase Chain Reaction (Reação em cadeia de polimerase)

qPCR – Quantitative Polymerase Chain Reaction (Reação em Cadeia de polimerase quantitativa)

Rpm – Rotações por minuto

RT-PCR – Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (Transcrição reversa seguida por reação em cadeia pela polimerase)

X² – Qui-quadrado

RESUMO

Este trabalho consistiu no levantamento parasitário de 33 cadáveres de raposas provenientes da atividade cinegética, em herdades no Alentejo. Cada raposa foi submetida a necrópsia parasitológica, método de sedimentação natural, técnicas coprológicas, técnica de Baermann, técnica de coloração de esfregaços com Giemsa, técnica de coloração de cestodes carmin alcoólico clorídrico, método de digestão muscular com pepsina, técnica de homogeneização muscular e técnicas moleculares. Revelou-se que a fauna parasitária das raposas desta região é constituída por 5 géneros de ectoparasitas (*Ixodes* spp., *Rhipicephalus* spp., *Felicola (suricatoecus) vulpis*, *Ctenocephalides felis* e *Pulex irritans*), uma espécie de trematode (*Alaria alata*), 3 espécies de cestodes (*Taenia* spp., *Mesocestoides lineatus* e *Joyeuxiella echinorhynchoides*), 3 géneros de protozoários (*Eimeria* spp., *Isospora* spp. e *Sarcocystis* spp.), 8 espécies de nematodes (*Angiostrongylus vasorum*, *Toxocara* spp., *Capillaria aerophila*, *Capillaria plica*, *Crenosoma vulpis*, *Rictularia affinis*, *Toxocara canis* e *Uncinaria stenocephala*) e uma espécie de bactéria transmitida por vetores (*Coxiella burnetii*). Todos os indivíduos apresentavam 2 a 8 parasitas distintos, sendo os mais prevalentes, *Uncinaria stenocephala* (96,96%), *Otodectes cynotis* (75,75%), *Alaria alata* (54,54%) e *Capillaria aerophila* (51,51%). Contrariamente aos endoparasitas e *O. cynotis*, os demais ectoparasitas foram analisados somente nas 8 raposas que não tiveram a pele retirada pelos caçadores, das quais 6 tinham algum tipo de ectoparasita. Destes, os mais abundantes foram, *Pulex irritans* (5/8) e *Rhipicephalus* spp. (5/8). *Felicola (Suricatoecus) vulpis*, foi neste estudo, pela primeira vez observado em uma raposa (1/8) em Portugal, assim como a bactéria *Coxiella burnetii* (2/33 – 6,06%). Os resultados obtidos mostraram que raposas no Alentejo albergam uma fauna parasitaria diversa de agentes patogénicos de interesse para a abordagem *One Health*. Isto, indica a necessidade de melhor compreensão do papel deste animal na disseminação de infeções ao homem e animais domésticos, visando a implementação de estratégias de vigilância para mitigar possíveis impactos.

Termos chave: Agentes patogénicos transmitidos por vetores; ectoparasitas; endoparasitas; *One Health*.

ABSTRACT

This study consisted of a parasitic survey of 33 fox carcasses obtained through hunting activities on farms in Alentejo. Each fox underwent parasitological necropsy, natural sedimentation method, coprological techniques, Baermann technique, Giemsa smear staining technique, hydrochloric alcoholic carmine cestode staining technique, pepsin muscle digestion method, muscle homogenization technique and molecular techniques. It was revealed that the parasitic fauna of foxes in this region consists of 5 genera of ectoparasites (*Ixodes* spp., *Rhipicephalus* spp., *Felicola (suricatecus) vulpis*, *Ctenocephalides felis* and *Pulex irritans*), one species of trematode (*Alaria alata*), 3 species of cestodes (*Taenia* spp., *Mesocestoides lineatus* and *Joyeuxiella echinorhynchoides*), 3 genera of protozoa (*Eimeria* spp., *Isospora* spp. and *Sarcocystis* spp.), 8 species of nematodes (*Angiostrongylus vasorum*, *Toxocara* spp., *Capillaria aerophila*, *Capillaria plica*, *Crenosoma vulpis*, *Rictularia affinis*, *Toxocara canis* and *Uncinaria stenocephala*) and one species of vector-borne bacteria (*Coxiella burnetii*). All individuals had 2 to 8 distinct parasites, the most prevalent being *Uncinaria stenocephala* (96.96%), *Otodectes cynotis* (75.75%), *Alaria alata* (54.54%) and *Capillaria aerophila* (51.51%). Unlike endoparasites and *O. cynotis*, the other ectoparasites were analyzed only in the 8 foxes that did not have their skin removed by hunters, of which 6 had some type of ectoparasite. Of these, the most abundant were *Pulex irritans* (5/8) and *Rhipicephalus* spp. (5/8). *Felicola (Suricatoecus) vulpis* was observed in this study for the first time in a fox (1/8) in Portugal, as well as the bacterium *Coxiella burnetii* (2/33 - 6.06%). The results obtained showed that foxes in Alentejo harbor a diverse parasitic fauna of pathogens of interest for the One Health approach. This indicates the need for a better understanding of the role of this animal in the dissemination of infections to humans and domestic animals, aiming at the implementation of surveillance strategies to mitigate possible impacts.

Key words: Ectoparasites; endoparasites; One Health; vector-borne pathogens.

1. INTRODUÇÃO

A raposa-vermelha é um mamífero selvagem de tamanho médio, pertencente à ordem Carnivora, família Canidae, género *Vulpes* e espécie *Vulpes vulpes*. Morfologicamente, apresentam corpo e pernas longos e esguios, focinho estreito, cauda grossa e comprida, orelhas triangulares e pupila vertical (Palomo et al., 2007). Apesar de ser conhecida como raposa-vermelha, a sua pelagem é de coloração variável, entre tons de preto e vermelho. Pontos específicos da pelagem geralmente apresentam cores diferentes do restante da pelagem que reveste o corpo, no caso da metade inferior das pernas e da parte terminal das orelhas, estas se apresentam normalmente com coloração preta e a terminação da cauda, por vezes, é branca. Relativamente às proporções corporais, pode ter um comprimento que varia entre os 57 e 74 centímetros, enquanto a cauda pode medir de 36 a 45 cm (Gentle, 2006). O peso corporal destes animais, encontra-se entre os 5 e os 8 quilos (Robley et al., 2014). Tanto as dimensões corporais, como o peso, são variáveis entre machos e fêmeas, tendo as fêmeas, tendência para apresentar tamanho e peso menores que os machos (Palomo et al., 2007). No que diz respeito à longevidade, alguns autores consideram que estes animais podem viver até os 6 anos de vida (Mathias et al., 2023), enquanto outros afirmam que podem chegar aos 3 a 4 anos, existindo ainda evidências de uma maior expectativa de vida quando se encontram em cativeiro, podendo atingir os 15 anos (Gentle, 2006).

A raposa-vermelha é o carnívoro selvagem terrestre com maior distribuição global (Campbell et al., 2020), está presente em praticamente todo o continente europeu, onde é o único representante do género *Vulpes*. É encontrada também na região norte dos continentes americano e africano, e no continente asiático. Embora não seja uma espécie natural da Austrália, foi introduzida no continente, onde se adaptou e dissipou pela totalidade do território com o passar dos anos (Campbell et al., 2020; Palomo et al., 2007).

Este animal se caracteriza por possuir uma excelente capacidade de adaptação, pode habitar em variados ambientes, desde florestas, meios agrícolas, desertos e até mesmo cidades (Mathias et al., 2023; Palomo et al., 2007). As áreas de ocupação das raposas estão dependentes da disponibilidade de alimentos, sendo o tamanho dos territórios variável de 0,14 a 44,6 Km² (Main et al., 2020).

As raposas-vermelhas, por serem carnívoros oportunistas, variam a sua alimentação de acordo com o habitat e estação do ano, tendo tendência a recorrer aos alimentos mais

abundantes e de mais fácil acesso. Há uma preferência destes animais por alimentarem-se de pequenos mamíferos, como coelhos e micromamíferos, frutas, vegetais, aves, insetos, reptéis e anfíbios. Raposas que se encontram em regiões mais urbanizadas, por vezes, têm menor acesso às suas presas de eleição, tendo a necessidade, muitas vezes de recorrer ao lixo para sobreviverem (Gentle, 2006; Mathias et al., 2023; Palomo et al., 2007).

A maturidade sexual das raposas é atingida após os 10 meses de idade, reproduzem-se uma vez por ano, nos meses correspondentes à primavera. Em Portugal, o período de cópula decorre de dezembro a abril, e os nascimentos acontecem de março até maio. A gestação dura entre 51 e 53 dias, onde o tamanho das ninhadas geradas na Península Ibérica variam entre 3 e 5 crias (Gentle, 2006; Mathias et al., 2023).

É considerado um animal de hábitos noturnos, porém não quer dizer que este animal não possa ser avistado durante o dia. Nestas circunstâncias estes animais são vistos em locais mais calmos e com menor afluência humana. Estes animais podem ser solitários, bem como viver em pequenos grupos (Palomo et al., 2007).

Em Portugal, a espécie encontra-se estável e distribuída por toda a extensão do território nacional continental, com uma densidade populacional de 0,7 a 4 indivíduos por km². Não existem dados concretos relativamente ao tamanho da população no país, mas estima-se que existem entre 7299 e 39456 animais adultos, que ocupam uma área de 9864 Km². Atualmente, em Portugal não se verifica nenhum fator que possa causar uma diminuição acentuada desta população, contudo, alguns fatores como a atividade cinegética, atropelamentos e a destruição dos habitats, podem afetar diretamente a espécie. Porém, até aos dias de hoje não se têm verificado grande impacto destes no tamanho populacional (Mathias et al., 2023).

A raposa-vermelha é o reservatório de uma grande variedade de parasitas e consequentemente de doenças, o que leva a várias preocupações em termos de *One Health* (Waindok et al., 2021). *One Health* é definido como “um esforço colaborativo e interdisciplinar que busca a saúde ideal para pessoas, animais, plantas e meio ambiente” (Aguirre et al., 2019).

O alargamento das áreas urbanas, aumento dos terrenos para prática de agricultura e qualquer outra forma de invasão do homem a regiões naturais, que se resume na fragmentação e destruição destes mesmos territórios naturais, impulsionam um maior

contacto entre a fauna selvagem, animais domésticos e humanos. Este contacto causa grande preocupação a nível da saúde humana e animal, pois promove o risco de transmissão de diversos tipos de agentes patogénicos destes animais selvagens para nós humanos, nossos animais de estimação ou até mesmo para animais sinantrópicos, que se tornam intermediários na transmissão destas doenças devido à sua proximidade ao homem (Mackenstedt et al., 2015; Plumer et al., 2014).

Muitas espécies selvagens não conseguem resistir a alterações nos seus habitats naturais, no entanto, existem espécies adaptáveis, como é o caso da raposa-vermelha que encontra diferentes formas de sobreviver nestes ambientes modificados, sendo muitas vezes atraídas pelas condições encontradas nestes mesmos lugares (Plumer et al., 2014).

Considerando a disseminação das populações de raposas-vermelhas para áreas de residência, várias doenças zoonóticas, incluindo as parasitárias, podem ser transmitidas diretamente ao homem. No entanto, não se pode deduzir que esta urbanização é sempre propícia à transmissão de todos os agentes patogénicos presentes na raposa-vermelha, pois a complexidade dos seus ciclos de vida, incluindo uma grande variedade de hospedeiros intermediários, poderá ser favorável à transmissão de alguns agentes, mas não de outros. Os fatores que se encontram por detrás da transmissão de agentes patogénicos zoonóticos em regiões urbanas ainda não são bem compreendidos (Mackenstedt et al., 2015).

Os animais domésticos podem fazer parte do ciclo de transmissão de agentes patogénicos, podendo estes serem afetados diretamente, trazendo assim preocupações acrescidas ao nível da medicina veterinária, bem como sendo intermediário de transmissão de parasitas entre a raposa-vermelha e o homem. Com o aumento das populações de raposas em zonas urbanas e peri-urbanas, passa a existir um maior contacto entre estes, animais domésticos e humanos e conseqüentemente um aumento da probabilidade de contração de doenças, incluindo doenças parasitárias (Mackenstedt et al., 2015).

1.1. Fauna parasitária da raposa-vermelha (*Vulpes vulpes*)

Na vastidão de parasitas que colonizam a raposa-vermelha podemos encontrar ectoparasitas como carraças, pulgas e piolhos de numerosas espécies e ainda endoparasitas pertencentes aos filos, Nematoda, Trematoda, Cestoda e Apicomplexa. Grande parte destes parasitas são causadores de doença que afetam tanto homens como

animais, levantando assim preocupações a nível médico e médico veterinário (Magi et al., 2009; Sréter et al., 2003).

Tendo em conta que mais de 75% das doenças que afetam o homem são zoonóticas e sabendo o potencial papel da raposa-vermelha na transmissão de parasitas, bem como de outros agentes patogénicos, tanto para os ciclos domésticos, como para os sinantrópicos, é essencial o conhecimento da sua fauna parasitária para um melhor diagnóstico por parte dos profissionais de saúde humana e animal, bem como para o desenvolvimento das melhores estratégias profiláticas e terapêuticas para cada caso (Mackenstedt et al., 2015).

1.1.1. Ácaros Astigmatas

Os ácaros compõem um vasto grupo com uma diversidade de artrópodes da classe Arachnida e subclasse Acari. O grupo, inclui espécies de vida livre, comensais e parasitas. Os ácaros parasitas podem causar doenças variadas aos seus hospedeiros. São parasitas obrigatórios, geralmente microscópicos, que na sua grande maioria permanecem no seu hospedeiro até completar o seu ciclo de vida e onde a transmissão ocorre por contacto direto com outros animais (Little & Cortinas, 2021).

Ácaros astigmatas como *Otodectes cynotis* e *Sarcoptes scabiei*, são comumente encontrados a parasitar canídeos, incluindo a raposa-vermelha, causando sarna otodética e sarna sarcótica, respetivamente. Os ácaros astigmatas têm este nome pelo facto de não apresentarem estigma e recorrerem a uma respiração tegumentar (Bowman et al., 2003).

Um outro ácaro causador de sarna em canídeos, não pertencente à subordem Astigmata e sim à subordem Prostigmata, é o ácaro *Demodex* spp., que causa sarna demodécica, doença mais leve e de menor contagiosidade (não é considerada contagiosa entre animais saudáveis após o período neonatal) entre animais comparando com *Otodectes cynotis* e *Sarcoptes scabiei* (Bowman et al., 2003; Thomson et al., 2023).

1.1.1.1. *Otodectes cynotis*

Otodectes cynotis, é um parasita de distribuição mundial, responsável por causar sarna otodética. Pertence ao filo Arthropoda, classe Arachnida, subclasse Acari, ordem Sarcoptiformes, subordem Astigmata e família Psoroptidae (Bowman et al., 2003; Correia et al., 2015). Morfologicamente é caracterizado pelo seu formato aproximadamente oval e pela posse de um idiossoma responsável por suportar os seus quatro pares de patas, sendo o primeiro e o segundo par de patas afastado do terceiro e do quarto par. Nos dois

primeiros pares de patas da fêmea existem pedículos curtos que possuem ventosas com o formato de copo, enquanto no macho esta característica é observada em todos os seus quatro pares de patas. Ainda nas fêmeas é possível observar algumas características que as distinguem dos machos, sendo elas, o quarto par de patas reduzido e ambos o quarto e o terceiro par de patas com uma haste no final semelhante a um chicote (Bowman et al., 2003; Campos et al., 2019).

O ciclo de vida deste parasita dá-se no interior do ouvido externo do hospedeiro e é dividido nas seguintes etapas: ovos, larvas, protoninfas, deutoninfas e adultos. O ciclo completo tem uma duração aproximada de três semanas (Otranto et al., 2004), que começa com a fêmea depositando o ovo e garantindo a sua fixação ao substrato através da libertação de substâncias pela vulva. Quando esta substância entra em contacto com o ar, ocorre a solidificação da mesma, possibilitando que os ovos se mantenham estáveis até a eclosão. Seguidamente ocorre o período de incubação de quatro dias, que origina larvas com três pares de patas e elas começam a alimentar-se de forma ativa por um período de três a dez dias. Após esta fase de alimentação, sucede a fase de repouso que pode durar de 10 a 30 horas, originando em seguida parasitas num estágio mais evoluído, com quatro pares de patas, denominados protoninfas. Durante quatro a cinco dias estas protoninfas vão passar por momentos de atividade e repouso resultando na sua transição para deutoninfa. A deutoninfa por sua vez já possui um par de ventosas na sua parte dorsal posterior, que vai permitir a sua união com o macho adulto através da ligação deste seu par de ventosas com o par de ventosas traseiro do macho. Caso a deutoninfa se desenvolva em um adulto fêmea, esta interação vai fazer com que ocorra fecundação e conseqüentemente formação de um ovo. O ácaro adulto que se forma após todas estas etapas poderá viver por dois meses no hospedeiro e por doze dias no ambiente (Campos et al., 2019).

O. cynotis é um parasita obrigatório, de superfície, “não escavador”, que coloniza o canal auditivo externo, próximo ao tímpano do seu hospedeiro (Huang-Bastos et al., 2020), onde sobrevivem ingerindo os detritos epidérmicos e fluidos corporais (Zineldar et al., 2023). Embora seja um ácaro característico do canal auditivo, em casos de infestações muito severas existe a possibilidade do seu alastramento para regiões de costas, cauda e cabeça (Carithers et al., 2016).

Existem relatos da presença deste ácaro em múltiplos carnívoros como, o cão, gato, raposas, furões e guaxinins (Huang-Bastos et al., 2020). A transmissão deste parasita

ocorre através do contacto direto com o hospedeiro parasitado ou por fómites (Campos et al., 2019), normalmente a transmissão mais comum dá-se entre a mãe e as suas crias (Carithers et al., 2016). Nos animais a presença deste ácaro manifesta-se através de otites pruriginosas, com quantidades excessivas de cerúmen seco, castanho-escuro, conjugados com inflamação variável, de moderada a severa (Zineldar et al., 2023). Ainda é possível observar lesões autoinfligidas, que podem resultar em infeções bacterianas secundárias e hematomas auriculares, pois devido ao incómodo causado pelo prurido, o hospedeiro encontra a necessidade constante de coçar a região afetada (Carithers et al., 2016).

O. cynotis é o agente responsável por causar mais de 50% das otites externas em cães e gatos, daí a sua relevância para a medicina veterinária (Fanelli et al., 2020; Thomson et al., 2023). O gato, por sua vez é considerado reservatório natural deste parasita, por este motivo normalmente é mais afetado que os demais animais domésticos, funcionando assim, como o foco de transmissão para a maioria dos animais com que se encontra em contacto. Este ácaro de elevada contagiosidade, acaba por ser mais comum nos animais mais jovens pois os adultos podem acabar por se tornarem imunes com o passar do tempo (Thomson et al., 2023).

A patologia causada por *O. cynotis* não é considerada muito grave, sendo o seu diagnóstico relativamente fácil através da análise microscópica do cerúmen, ou pela observação do ouvido, recorrendo ao otoscópio. O que torna a doença preocupante é a sua rápida disseminação. Assim, o tratamento deve ser iniciado com brevidade em todos os animais que coabitam, mesmo não havendo manifestações da doença (Carithers et al., 2016).

Além dos animais, *O. cynotis* em raras vezes também afeta humanos (Otranto et al., 2004). Os sintomas no homem aparentam ser mais leves, apresentando-se na forma de uma otite externa normal, tendo casos de suspeita da origem das infestações recair sobre animais de estimação parasitados (Cakabay et al., 2016).

1.1.1.2. *Sarcoptes scabiei*

Sarcoptes scabiei é um ácaro pertencente à família Sarcoptidae e género *Sarcoptes*, partilhando todo o restante da classificação taxonómica com *O. cynotis*, já acima descrita (Bowman et al., 2003). É caracterizado por um corpo arredondado, onde se encontram na sua superfície cerdas dorsais e laterais, estrias e espinhos cuticulares rígidos e transversais. Apresentam quatro pares de patas curtas e grossas, com ventosas

pedunculadas, garras e cerdas longas nos seus segmentos terminais. A fêmea por norma apresenta maiores dimensões que o macho (Arlan & Morgan, 2017).

O ciclo de vida deste parasita dá-se em quatro etapas: ovo, larva, ninfas e adulto (Thomson et al., 2023). A sua duração tem se mostrado muito variável, porém não se sabem as razões que impulsionam estas variações, algumas causas podem ser atribuídas ao tempo de sobrevivência do ácaro fora do hospedeiro estar dependente de condições ambientais, como temperatura e humidade; às barreiras encontradas na observação da sua evolução *in vitro* na pele; aos diferentes protocolos seguidos para obter essa informação e à observação de parasitas de diferentes hospedeiros (Arlan & Morgan, 2017). No caso do cão existem dados que levam a crer que o ciclo pode demorar de 1 a 2 semanas para se completar (Thomson et al., 2023) e no homem de 7 a 21 dias (Arlan & Morgan, 2017). As fêmeas em média podem viver durante 30 dias, tendo elas nesse tempo, capacidade para produzir 40 ou mais ovos. Elas escavam galerias na epiderme para posterior deposição dos seus ovos, os quais eclodem, libertando larvas que se deslocam à superfície da pele em busca de alimento, onde se desenvolvem em ninfas, que por sua vez originam novamente um parasita adulto (Arlan & Morgan, 2017; Thomson et al., 2023).

S. scabiei é um parasita obrigatório que é responsável por causar a sarna sarcótica, uma doença de pele extremamente contagiosa que atinge humanos e animais como, cães, cavalos, vacas, raposas e outros animais selvagens (Bowman et al., 2003). A doença causada por este artrópode é de distribuição mundial (Nimmervoll et al., 2013) e já foi relatada em mais de uma centena de espécies animais, nas quais as manifestações mais comuns consistem em coceira intensa, inflamação, lesões e erupções cutâneas, e por vezes, rutura da barreira da pele (Thomson et al., 2023). A transmissão ocorre através do contacto direto com um hospedeiro parasitado, e apesar de menos frequente, já foram relatados casos de transmissão por fômites (Curtis, 2004).

A sarna sarcótica tem sido responsável por causar doença grave e elevada taxa de mortalidade em raposas-vermelhas em todo o mundo, sendo uma das doenças mais comumente diagnosticada nestes animais na Europa (Pisano et al., 2019). Alguns fatores como, a ecologia, o comportamento e a fisiologia podem estar relacionados a uma maior suscetibilidade desta espécie à sarna sarcótica (Wails et al., 2024). A elevada taxa de mortalidade causada por esta doença tem contribuído para controlar a densidade populacional nas diferentes comunidades de raposas (Perrucci et al., 2016).

A variação de manifestações clínicas entre espécies e até mesmo entre animais da mesma espécie é uma característica da sarna sarcótica, porém ainda não se sabe a causa desta variação, supondo-se que poderá dever-se à resposta do hospedeiro ou da existência de diferentes estádios da doença (Nimmervoll et al., 2013).

Sarcoptes scabiei var canis é o agente específico para o cão que causa a sarna sarcótica, este agente constitui um risco veterinário, devido à sua alta frequência, distribuição global e elevado nível de contagiosidade nestes animais (Chiummo et al., 2020). Nos cães, a doença apresenta-se com prurido, alopecia, eritema, crostas, pápulas e descamação da pele, e por vezes infecções bacterianas secundárias. O diagnóstico é feito através da observação do animal, exames microscópicos de raspados de pele para observar o parasita ou ovos, sorologia e resposta a alguns tratamentos, sendo este último uma das formas de diagnóstico mais eficaz. Este diagnóstico torna-se difícil devido à diversidade de apresentação dos sinais clínicos, aos ácaros serem difíceis de encontrar nos raspados na fase mais inicial da doença e em animais com baixa carga parasitária e à grande probabilidade de obtenção de falsos-negativos nas análises sorológicas precoces (Dumitrache & Cadiergues, 2023).

A sarna sarcótica afeta milhões de pessoas por todo o mundo, onde em regiões menos favorecidas e regiões tropicais há maior afetação (Chandler & Fuller, 2019). A variante de *S. scabiei* que tem maior especificidade para o homem denomina-se *Sarcoptes scabiei var hominis*, neste hospedeiro as manifestações clínicas podem ser diversificadas. Na sarna dita comum, 2 a 6 semanas após infestação aparecem erupções papulares sob a pele ou pápulas vesiculares acompanhadas de prurido. Estas lesões cutâneas têm uma maior pré-disposição para regiões com estrato córneo fino e baixa densidade de folículos da glândula sebácea. Algumas complicações como infecções bacterianas, linfadenite, erisipela e sepse, podem aparecer no decorrer desta doença. A determinação da patologia é desafiante e é feita pela análise microscópica ou dermatoscópica do ácaro, seus ovos e/ou fezes (Sunderkötter et al., 2021).

Embora cada variante de *S. scabiei* tenha especificidade para um determinado hospedeiro, este pode acometer espécies diferentes das de sua preferência, onde o seu tempo de vida e reprodução são diminuídos e conseqüentemente existe uma alteração no padrão da sua manifestação clínica. Um exemplo desta alteração de padrão pode ser visto quando existe transmissão do ácaro do animal de estimação para o seu tutor, onde é improvável que este desenvolva sarna total, como acontece na infestação por *S. scabiei var hominis*. Quando

há transmissão através de cães parasitados para humanos, o ácaro apresenta um período de incubação mais curto e infestação limitada, os sintomas são transitórios, as lesões acometem-se a um menor número de regiões do corpo e não há ninhos longos e profundos (Bandi & Saikumar, 2013). Logo, pode-se dizer que há uma grande possibilidade de transmissão entre espécies diferentes quando em contacto próximo, podendo ocorrer ciclos de transmissão entre animais selvagens, domésticos e o homem, como tem sido referenciado em alguns estudos (Bandi & Saikumar, 2013; Perrucci et al., 2016; Rentería-Solís et al., 2014).

1.1.2. Ixodídeos e argasídeos

Os ixodídeos e argasídeos, vulgarmente designados por carraças, são artrópodes hematófagos obrigatórios importantes mundialmente, pois funcionam como vetores de transmissão de numerosos agentes patogénicos como bactérias, vírus e protozoários que podem causar doença e até mesmo a morte de animais e pessoas (Anderson & Magnarelli, 2008; Sobrino et al., 2012).

São artrópodes que fazem parte da classe Arachnida e subordem Metastigmata. Dividem-se em duas grandes famílias, a família Argasidae e Ixodidae (Bowman et al., 2003), embora existam ainda duas outras famílias de menores tamanhos e menos importantes, as famílias Nutalliellidae e Laelaptidae (Anderson & Magnarelli, 2008).

A família Argasidae, também conhecida como família das carraças moles, é constituída por 193 espécies (Berenger & Parola, 2017) e quatro géneros: *Argas*, *Ornithodoros*, *Otobius* e *Carios*, tendo os géneros *Argas* e *Ornithodoros* maior relevância a nível médico. Porém ainda não existe um consenso em relação aos géneros desta família, tendo autores que apontam classificações diferentes e existência de subgéneros (Mans et al., 2019).

Carraças desta família parasitam aves, reptéis e mamíferos (Berenger & Parola, 2017). Vivem escondidos nos ninhos dos seus hospedeiros ou em lugares próximos, aguardando o momento em que eles estejam presentes para atacar. Portanto, estas carraças alimentam-se por curtos períodos, aproximadamente 15 a 20 minutos (Berenger & Parola, 2017; Shepherd, 2023). Elas apresentam preferência para climas áridos ou lugares mais secos em regiões de clima húmido (Bowman et al., 2003).

O ciclo de vida é composto por quatro fases: ovos, larva, ninfa e adulto. Existe mais do que um estágio de ninfa, que pode variar de 4 a 7. Em todas as fases é necessário que o

parasita tenha refeições sanguíneas, para que haja desenvolvimento e para a maturação dos ovos na fêmea. A carraça adulta pode ser macho ou fêmea e apresenta um corpo oval que pode medir de 8 a 13 milímetros de comprimento. Estas carraças normalmente são acinzentadas, não têm escudo, são revestidas por pequenos tubérculos e na parte ventral da face observam-se as peças bucais, que não são observáveis dorsalmente (Berenger & Parola, 2017).

Carraças da família Ixodidae, também designadas por carraças duras, é um grande grupo de carraças encontradas por toda a extensão do globo terrestre, constituída por 14 géneros e por aproximadamente 700 espécies (Berenger & Parola, 2017).

São caracterizadas por medir entre 2 e 20 mm e por serem achatadas dorsalmente. Na parte ventromedial possuem um hipóstomo com dentes, com o qual se fixa no hospedeiro e permite o fluxo de saliva e sangue entre ambos. Apresenta palpos sensoriais de 4 segmentos e quelíceras esclerotizadas na região anterior, com visão dorsal. A parte inferior a essas estruturas é chamada de base do capitulum. Estas carraças possuem um escudo quitinoso, que engloba toda a superfície dorsal do macho, porém estende-se somente em uma pequena porção posterior ao gnatosoma (parte constituída pelas peças bucais), da larva, ninfa e fêmea. O escudo, bem como o corpo podem apresentar vários sulcos. Na borda posterior do corpo, podem existir pequenas saliências, chamadas festões. Algumas carraças podem apresentar escudos ornamentados com partes coloridas. Têm as patas divididas em 7 partes (coxa, fémur, trocânter, genu, tibia, tarso e órgão de Haller). A coxa pode ter esporões ventrais internos e externos, cujo número e tamanho podem ser importantes na identificação da espécie. No tarso do primeiro par de patas está o órgão de Haller, que tem quimiorreceptores usados para localizar hospedeiros. Os olhos, podem estar presentes em algumas espécies, onde ficam localizados dorsalmente, na margem externa do escudo. As carraças adultas e ninfas estão munidas de um par de aberturas respiratórias, os estigmas. Estes estão localizados latero-ventralmente, posteriores às coxas do quarto par de patas. O adulto possui uma abertura genital chamada gonoporo, cercada por uma estrutura chamada avental genital, que se encontra na parte ventral do artrópode, atrás do gnatosoma e a nível do segundo par de patas. Na região ventral ainda estão visíveis os sulcos anal e genital, e placas adanais nos machos (Taylor et al., 2007).

As etapas que constituem o seu ciclo de vida são as mesmas da família Argasidae. O adulto e a ninfa apresentam quatro pares de patas, enquanto a larva possui apenas 3. Para ocorrer a passagem para uma nova etapa de desenvolvimento é requerida a ingestão de

sangue, este acontecimento também contribui para que as fêmeas façam a maturação dos ovos, tal como ocorre na família Argasidae. Os ixodídeos vivem livremente e esperam a passagem de seus hospedeiros para se associarem a eles (Berenger & Parola, 2017). Existem ixodídeos de um, dois e três hospedeiros, no primeiro, como o nome já diz, todo o desenvolvimento, da larva ao adulto, dá-se em um hospedeiro, no segundo, a larva e a ninfa desenvolvem-se em um hospedeiro e o adulto em outro e por fim, no terceiro, cada estágio de desenvolvimento ocorre em hospedeiros diferentes (Taylor et al., 2007).

Para que a carrapa possa se alimentar do sangue do seu hospedeiro, esta deverá fixar-se ao mesmo, processo esse que pode demorar algumas horas. Diferentemente dos argasídeos, estas carrapas alimentam-se dos seus hospedeiros por longos períodos, podendo levar dias para a fêmea se desassociar do hospedeiro (Berenger & Parola, 2017).

Apresentam uma certa especificidade para os hospedeiros, tendo eles a capacidade de parasitar anfíbios, aves, reptéis e mamíferos. São conhecidos por serem hospedeiros competentes de grande variedade de agentes patogênicos, onde os gêneros de ixodídeos mais relevantes para a saúde pública são, *Amblyomma*, *Dermacentor*, *Haemophysalis*, *Hyalomma*, *Ixodes* e *Rhipicephalus* (Berenger & Parola, 2017).

A biologia de cada espécie de carrapa vai interferir diretamente com a forma como ocorre o ciclo de vida dos agentes patogênicos que eles transmitem. Grande parte das doenças transmitidas por carrapas têm origem na vida selvagem. O que torna importante estudar os animais selvagens como reservatório destas doenças e perceber o papel desempenhado por eles na transmissão das mesmas (Sobrinho et al., 2012).

Existem espécies de carrapas que se podem alimentar de variadas espécies de vertebrados, enquanto existem outras que tendem a ser específicas para uma única espécie de hospedeiro. As mesmas espécies de carrapas que se alimentam de carnívoros selvagens, podem se alimentar de animais domésticos, sendo os ciclos selvagens e domésticos constantemente complementares. As carrapas que estão numa fase mais imatura de desenvolvimento infestando animais selvagens, posteriormente podem parasitar animais domésticos, no seu estado adulto, podendo alguns agentes transmitidos por carrapas, serem assim alvo de transmissão transestadial. Igualmente, para alguns agentes e carrapas que os albergam, pode ocorrer transmissão transovárica (a fêmea adulta, uma vez ingurgitada, cai ao solo e os agentes patogênicos nela presentes, podem ser transmitidos pelos ovos à descendência). Os carnívoros selvagens que se encontram próximos ao

habitat humano, como é o caso das raposas-vermelhas, constituem um risco para os animais domésticos, pois ao compartilharem espaços próximos, as doenças das quais as raposas são portadoras e têm como reservatório, carrças, que também parasitam animais domésticos, podem ser-lhes transmitidas. A estas consequências veterinárias podemos acrescentar riscos para a saúde humana, dado que diversas morbidades partilhadas entre raposas e cães podem atingir pessoas (Bowman et al., 2003; Sobrino et al., 2012).

Algumas espécies de carrças referidas em raposas-vermelhas são, *Ixodes hexagonus*, *I. ricinus*, *I. canisuga*, *I. crenulatus*, *I. rugicollis*, *I. kaiseri*, *Dermacentor reticulatus*, *D. marginatus*, *Rhipicephalus sanguineus* (sensu lato), *R. pusillus* e *Haemaphysalis concinna* (Lesiczka et al., 2023; Víchová et al., 2018).

É importante ressaltar que não se conhece ainda as consequências originadas pelas doenças transmitidas por carrças na saúde das raposas-vermelhas (Mierzejewska et al., 2021). E que a transmissão de agentes patogénicos transmitidos por carrças entre raposas-vermelhas e cães ainda é um evento raro na Europa Central, sendo também desconhecida a verdadeira função deste canídeo como reservatório de zoonoses transmitidas por carrças (Lesiczka et al., 2023).

A principal forma de diagnóstico de infestações por carrças é pela sua visualização no pelo do hospedeiro. A fixação deste artrópode, pode resultar em perda de sangue, inflamação, dor, infeções secundárias e absorção de toxinas, pelos seus hospedeiros causando grande desconforto (Bowman et al., 2003).

Informações sobre morfologia, estilo de vida, distribuição geográfica, hospedeiros e agentes patogénicos transmitidos, relacionadas a algumas espécies de carrças importantes para a saúde veterinária e médica encontra-se resumidas na tabela 1.1.

Tabela 1.1: Espécies de ixodídeos que parasitam raposas-vermelhas

Espécies	Identificação do género	Estilo de vida	Distribuição geográfica	Hospedeiros	Agentes Patogénicos
<i>R. sanguineus</i> s.l	Base do capitulum hexagonal; olhos e festões; placas adanais grandes (macho)	Ninho	Mundial	Principal: cão Outros: gatos, coelhos, pássaros animais selvagens e humanos	<i>Hepatozoon canis</i> ; <i>Babesia canis</i> ; <i>B. vogeli</i> ; <i>Ehrlichia canis</i> ; <i>Rickettsia conorii</i> ; <i>R. rickettsii</i> ; <i>Coxiella burnetii</i>
<i>I. ricinus</i>	Sulco anal forma arco anterior ao ânus; palpos mais grossos na junção dos segmentos 2 e 3	Livre	Eurásia	Mamíferos, aves e répteis	<i>Borrelia burgdorferi</i> ; <i>Babesia microti</i> ; <i>Hepatozoon canis</i> ; <i>Anaplasma phagocytophilum</i>
<i>I. hexagonus</i>		Ninho	Região Paleártica Ocidental e Europa Oriental	Principal: Ouriço-cacheiro Outros mamíferos e homem	<i>Babesia vulpes</i> ; <i>Borrelia burgdorferi</i> ; vírus da encefalite transmitida por carraças
<i>D. reticulatus</i>	Base do capitulum retangular, tem olhos e 11 festões, escudo ornamentado, nos machos as coxas vão aumentando de tamanho da 1ª à 4ª	Ninho e livre	Europa e Ásia	Animais domésticos, selvagens, gado e humanos	<i>Babesia canis</i> ; <i>Orthoflavivirus encephalitidis</i> ; vírus da febre hemorrágica de Omsk e Crimmean Congo; <i>Rickettsia slovaca</i> ; <i>R. raoultii</i> ; <i>R. sibirica</i> ; <i>Bartonella</i> spp.; <i>Anaplasma phagocytophilum</i> ; <i>A. marginale</i> ; <i>Babesia caballi</i> ; <i>Theileria equi</i>
<i>H. consinna</i>	2º segmentos dos palpos alargam-se lateralmente, tem festões e sulco anal posterior	Livre	Europa e Ásia	Repteis, mamíferos de pequeno porte, aves e homem	<i>Anaplasma phagocytophilum</i> , <i>Babesia microti</i> , <i>Borrelia garinii</i> , <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Ehrlichia chaffeensis</i> , <i>Francisella tularensis</i> , <i>Rickettsia raoultii</i> e vírus da encefalite transmitida por carraças

Fonte: (Bowman et al., 2003; Buczek et al., 2015; Dantas-Torres, 2008, 2010; Gray et al., 2013; Hornok et al., 2017; Hvidsten et al., 2020; Kahl et al., 2022; Lesiczka et al., 2023; Liu et al., 2024; Rubel et al., 2018; Vichová et al., 2018; Zajac et al., 2024)

1.1.2.1. *Rhipicephalus sanguineus* (sensu lato)

Rhipicephalus sanguineus (sensu lato) é a carraça conhecida como carraça castanha do cão, cuja taxonomia ainda não é bem definida e por esta razão as populações de carraças desta espécie são chamadas de *R. sanguineus* sensu lato (s.l). É a carraça com maior distribuição mundial, sendo ela originária da África. Esta apresenta adaptabilidade em áreas urbanas e rurais, estando também adaptado para viver em habitações humanas. Este

artrópode tem a capacidade de ser ativo durante todo o ano em regiões tropicais, subtropicais e em algumas áreas temperadas. No verão é onde apresenta o seu pico de atividade, causando nesta estação maiores preocupações veterinárias e zoonóticas (Dantas-Torres, 2010; Dantas-Torres et al., 2017).

R. sanguineus é uma carraça com predileção de espécies hospedeiras, porém por vezes alimenta-se de outros hospedeiros, que não as para o qual apresenta especificidade. É um parasita de 3 hospedeiros, que em cada estágio de desenvolvimento necessita de um novo hospedeiro para se alimentar. É uma carraça que vive preferencialmente no ninho dos seus hospedeiros, no entanto tem a capacidade de sobreviver em ambientes ao ar livre. Mostrando assim a sua capacidade de adaptação a diferentes situações para a sua sobrevivência (Dantas-Torres, 2010).

R. sanguineus tem potencial para transmitir agentes patogénicos que podem infetar cães e ocasionalmente o homem, daí sua importância para a medicina veterinária e para a saúde humana (Černý et al., 2020). Este artrópode é o vetor de transmissão de *Hepatozoon canis*, um protozoário sanguíneo com elevado nível de prevalência nas raposas-vermelhas, responsável por causar hepatozoonose canina na Europa (Lesiczka et al., 2023; Tolnai et al., 2015).

R. sanguineus si pode ainda ser vetor de transmissão de *Babesia canis*, *Babesia vogeli* e *Erlichia canis*. Os protozoários da espécie *Babesia* infetam vários canídeos e causam babesiose clínica em cães, já a bactéria *Erlichia canis* é a responsável por causar erliquiose monocítica canina. Levanta-se também a possibilidade deste vetor estar envolvido na transmissão de *Leishmania infantum* (Dantas-Torres, 2008; Gray et al., 2013; Lesiczka et al., 2023).

Quando existe uma elevada carga parasitária em cães as próprias carraças podem causar doenças clínicas como anemia, inflamações cutâneas e paralisia da carraça (Gray et al., 2013).

Os agentes patogénicos transmitidos por *R. sanguineus* mais importantes para o homem são *Rickettsia conorii* (causa febre maculosa do Mediterrâneo) *R. rickettsii* (causa febre maculosa das Montanhas Rochosas) e *Coxiella burnetii* (causa febre Q) (Cordsmeier et al., 2019; Dantas-Torres, 2010; Gray et al., 2013).

1.1.2.2. *Ixodes ricinus*

Ixodes ricinus é a carraça vulgarmente conhecido como a carraça da mamona e é a carraça de maior ocorrência na Europa. Este artrópode tem preferência por habitats de baixa altitude e relativamente húmidos (Černý et al., 2020; Wodecka et al., 2022). É uma carraça de três hospedeiros, generalista e estas características lhe conferem maior habilidade para infestar humanos (Jahfari et al., 2017; Militzer et al., 2021).

I. ricinus é responsável por vetorizar a bactéria *Borrelia burgdorferi* sensu lato, agente causador da doença de Lyme. Esta carraça poderá ainda transportar o vírus da encefalite transmitida por carraças (Černý et al., 2020).

Babesia microti é o hemoparasita responsável por causar babesiose humana, o seu DNA foi encontrado na carraça *I. ricinus*, e desde então tem sido apontada como um potencial vetor de transmissão deste protozoário na Europa (Najm et al., 2014).

Apesar do hemoparasita *Hepatozoon canis* ter como vetor preferencial *R. sanguineus* sl, este protozoário também poderá ser transmitido por outros vetores como *I. ricinus* (Víchová et al., 2018).

Um agente que vem sendo associado ao vetor *I. ricinus* é a bactéria *Anaplasma phagocytophilum*, responsável por causar anaplasmoose granulocítica e febre da carraça em vários mamíferos como ruminantes, cavalos, cães e humanos. Esta vem sendo estudada em raposas-vermelha onde já foi evidenciada a sua presença, podendo constituir fonte de disseminação destas doenças (Lesiczka et al., 2023; Stuen et al., 2013; Víchová et al., 2018).

1.1.2.3. *Ixodes hexagonus*

Ixodes hexagonus ou carraça do ouriço, como é conhecida vulgarmente devido à sua especificidade para este animal, é um artrópode de três hospedeiros, cujas fêmeas geralmente parasitam os seus hospedeiros da primavera ao outono. É encontrado na região Paleártica Ocidental e na Europa Oriental (Hornok et al., 2017; Jahfari et al., 2017; Marchiondo & Endris, 2019).

Além de parasitar o ouriço, também é capaz de infestar outros carnívoros, como a raposa-vermelha (Kahl et al., 2022) e em raros casos o homem. Porém, pelo facto de possuir especificidade de hospedeiro as infeções transmitidas a estes animais e às pessoas são

menos graves, exceto em casos de imunodeficiência (Jahfari et al., 2017; Víchová et al., 2018).

Tal como *I. ricinus*, *I. hexagonus* é um vetor de transmissão de agentes patogénicos como *Borrelia burgdorferi* sensu lato e vírus da encefalite transmitida por carraças. Este artrópode ainda tem sido apontado como possível vetor de *Babesia vulpes*, um hemoparasita que tem como hospedeiro natural a raposa-vermelha, cuja presença foi evidenciada em cães, causando trombocitopenia, azotemia e anemia (Baneth et al., 2015; Kahl et al., 2022).

1.1.2.4. *Dermacentor reticulatus*

Dermacentor reticulatus é outra carraça que constitui uma ameaça veterinária e médica. Esta carraça que tem capacidade de parasitar mais de 60 hospedeiros, tem demonstrado adaptabilidade a condições adversas ao seu desenvolvimento e sobrevivência, e apresenta uma elevada taxa de reprodução e um rápido ciclo de desenvolvimento (Földvári et al., 2016).

Este artrópode é amplamente distribuído e abundante em toda a Europa, sendo a segunda espécie de maior distribuição depois de *I. ricinus* (Zajac et al., 2024). É uma carraça de três hospedeiros, cuja estratégia de procura de hospedeiro varia de acordo com o estágio de desenvolvimento. O parasita adulto adota uma estratégia de vida livre atacando mamíferos de médio e grande porte. O parasita nos seus estádios larvares e de ninfa vive nos nichos dos seus hospedeiros ou nas suas imediações e têm preferência por se alimentar de pequenos roedores e aves (Bowman et al., 2003; Zajac et al., 2020).

Em humanos, *D. reticulatus* é responsável por transmitir vírus como, *Orthoflavivirus encephalitidis* (causa encefalite transmitida por carraças), vírus da febre hemorrágica de Omsk e vírus da febre hemorrágica do Crimmean Congo. Além de vírus, também é transmissor de riquetsias do grupo da febre maculosa (ex. *Rickettsia slovaca* e *R. raoultii*) e do grupo do tifo (*Rickettsia sibirica*). É também indicada como vetor de *Bartonella* spp. e *Anaplasma phagocytophilum*. Tem-se estudado ainda o seu papel na transmissão de *Borrelia* spp., *Francisella tularensis* e *Coxiella burnetii*, sendo que o material genético destas bactérias muitas vezes é encontrado nesta carraça. O seu contacto com a pele humana também é importante podendo levar a linfadenopatia eritematosa transmitida por *Dermanocentor* spp. (Buczek et al., 2015; Zajac et al., 2024).

Falando da sua afetação em animais, *D. reticulatus* é vetor de *Babesia canis* (causa babesiose canina), *Anaplasma marginale* (causa anaplasmosse bovina – doença mais importante em ruminantes), *Babesia caballi* e *Theileria equi*, sendo os dois últimos protozoários responsáveis por causar piroplasmose equina, a doença mais comumente diagnosticada nestes animais (Zajac et al., 2024).

1.1.2.5. *Haemaphysalis consinna*

Haemaphysalis concinna é um artrópode encontrado nos continentes asiático e europeu, que tem predileção por climas quentes e húmidos. É uma carraça de três hospedeiros que se alimenta de uma diversidade de répteis, mamíferos de pequeno porte e aves, podendo ainda parasitar o homem. Depois de *I. ricinus* é a carraça mais frequentemente encontrada em aves (Meng et al., 2014; Rubel et al., 2018).

A sua propagação para outras regiões da Europa, como sudoeste da Polónia e Lituânia, onde ainda não tinha sido reportado tem se mostrado preocupante (Kiewra et al., 2019; Paulauskas et al., 2020). Esta preocupação deve-se ao facto desta carraça transportar numerosos agentes patogénicos como, *Anaplasma phagocytophilum* (anaplasmosse granulocítica humana), *Babesia microti* (babesiose humana), *Borrelia garinii* (doença de Lyme), *Coxiella burnetii* (febre Q), *Ehrlichia chaffeensis* (erlichiose monocítica humana), *Francisella tularensis* (tularemia), *Rickettsia raoultii* (linfadenopatia humana) e vírus da encefalite transmitida por carraças (Cordsmeier et al., 2019; Husin et al., 2021; Liu et al., 2024; Rikihisa, 2022; Rubel et al., 2018; Rudenko et al., 2023; Xiong et al., 2019; Zhao et al., 2021).

1.1.3. Pulgas

As pulgas são ectoparasitas hematófagos que englobam o filo Arthropoda, classe Insecta e ordem Siphonaptera. Estes podem parasitar animais domésticos, alguns tipos de gado, roedores, aves e pessoas (Bowman et al., 2003).

As pulgas são animais holometabólicos, cujo desenvolvimento é dividido em 4 etapas: ovo, larva, pupa e adulto. O ovo tem um comprimento médio de 0,5 mm e uma coloração branca perolada. As larvas por sua vez, são brancas, segmentadas e sem pernas e passam por três etapas de desenvolvimento, alimentando-se da matéria orgânica do ambiente. A larva de terceiro estágio de desenvolvimento (L₃), que possui 3 segmentos torácicos e um abdominal, vai passar para a seguinte etapa de desenvolvimento, a pupa, formando um casulo em torno da mesma, esta pupa é muito resistente e poderá sobreviver por 6 meses

até encontrar as condições adequadas à sua passagem para a seguinte etapa de desenvolvimento (Iannino et al., 2017).

A fase adulta é a fase onde a pulga é realmente considerada um parasita, em que ambos os sexos se alimentam do sangue do seu hospedeiro. O adulto apresenta um corpo comprimido lateralmente de comprimento variável entre os 1,5 mm e os 10 mm, com cobertura quitinosa e espessa. O corpo é dividido em cabeça, tórax e abdómen. A cabeça é romba e imóvel, com antenas curtas associadas aos sulcos laterais, o aparelho bucal é composto por apêndices provenientes da parte inferior da cabeça, podendo ainda na cabeça existir pentes grandes e largos, estrutura esta denominada ctenídeo genal, uma característica que permite a identificação das espécies (Abdullah et al., 2019; Iannino et al., 2017).

O tórax é dividido em protórax, mesotórax e metatórax e de cada um destes segmentos surge um par de patas. Ainda nesta divisão do corpo encontram-se dois pares de espiráculos torácicos. No primeiro segmento do tórax, o protórax, pode se encontrar o ctenídeo pronotal, que também ajuda na determinação das espécies de pulgas. Um par de patas maior e fortemente desenvolvido no último segmento do tórax em conjunto com a proteína resilina possibilitam que este inseto salte (Iannino et al., 2017).

A última divisão do corpo, o abdómen, é composto por dez segmentos com 5 a 8 estigmas respiratórios, a extremidade posterior do mesmo suporta os órgãos genitais, que são mais um componente importante para a identificação. Os segmentos finais do abdómen, nomeadamente os três últimos, são outra forma de determinação de espécies, permitindo ainda a distinção entre macho e fêmeas (Iannino et al., 2017).

Embora pouco se saiba do papel da raposa na transmissão de agentes patogênicos transmitidos por vetores, ela pode ser parasitada por diversas espécies de pulgas que transportam diferentes agentes patogênicos preocupantes para a *One Health* como, *Yersinia pestis*, *Rickettsia* spp., *Bartonella* spp., *Dipylidium caninum*, *Hymenolepis nana* e *H. diminuta* (Víchová et al., 2018).

Muitas das espécies de pulgas que parasitam a raposa também são identificadas como espécies que infestam cães e gatos, sendo as pulgas, os ectoparasitas de maior importância clínica nestes animais. Para além dos animais domésticos, as raposas também compartilham algumas espécies de pulgas com o homem (Abdullah et al., 2019; Víchová et al., 2018).

Algumas espécies de pulgas que podem infestar a raposa são, *Archaeopsylla erinacei*, *Chaetopsylla rothschildi*, *Ch. trichosa*, *Ch. globiceps*, *Ctenocephalides canis*, *C. felis*, *Ctenophthalmus assimilis*, *Nosopsyllus fasciatus*, *Spilopsyllus cuniculi*, *Paraceras melis* e *Pulex irritans* (Perez et al., 2023; Perrucci et al., 2016; Víchová et al., 2018).

Ch. globiceps é uma pulga que tem a raposa-vermelha como hospedeiro específico e é a espécie mais difundida deste hospedeiro, sendo a sua segunda espécie mais abundante, *Paraceras melis*. Enquanto *Ch. rothschildi* é uma espécie de rara frequência na Europa e pouco relatada nestes animais. Embora, as raposas-vermelhas possam ser parasitadas por muitas espécies de pulgas, existem espécies que tem mostrado maior importância para a saúde pública, que se encontram resumidas na tabela 1.2 (Víchová et al., 2018).

P. irritans, ectoparasita vulgarmente conhecido como a pulga do homem, foi a primeira espécie de pulga a ser descrita e vem sendo uma das mais estudadas nos dias de hoje, devido à sua larga distribuição e devido aos agentes infecciosos que consigo carrega que constituem uma ameaça à saúde pública. Embora chamada de pulga do homem, ela não possui hospedeiro definitivo, podendo parasitar um grande leque de hospedeiros, principalmente mamíferos, sendo os mais importantes os animais de estimação, gado e homem. Este artrópode, serve de hospedeiro intermediário para o cestode *Dipylidium caninum*, e constitui um vetor para bactérias como, *Yersinia pestis*, *Bartonella* spp., e bactérias do género *Rickettsia*, capazes de causar febre maculosa das Montanhas Rochosas e febre maculosa do Mediterrâneo (Azarm et al., 2022; Zurita et al., 2019).

Ctenocephalides felis (pulga do gato), é o ectoparasita mais frequente em cães e gatos, tendo também uma outra pulga muito característica destes animais, a pulga *Ctenocephalides canis* (pulga do cão). Ambas as espécies, têm uma distribuição alargada por vários continentes e têm uma ampla gama de mamíferos (canídeos, felídeos e murídeos) que podem parasitar incluindo o homem. *C. felis* é um dos vetores mais frequentes e amplamente distribuídos. Estudos relacionados a esta espécie e os agentes patogénicos a quem serve de reservatório são escassos comparando com outros vetores de transmissão de doenças (Clark et al., 2018; Gálvez et al., 2017).

Embora a dermatite alérgica causada pelos alérgenos presentes na saliva desta pulga seja o seu principal efeito colateral em cães e gatos suscetíveis, esta pode servir ainda como vetor para diversos agentes patogénicos que não atingem somente estes animais como também humanos (Moore et al., 2023).

Algumas espécies de *Bartonella* como, *Bartonella henselae*, *Bartonella clarridgeiae*, e *Bartonella koehlerae* estão associados ao vetor *C. felis*. Estas têm capacidade de afetar homens e animais, causando doença vascular, doença reumática, endocardite e outros sinais clínicos associadas ao sistema nervoso (Clark et al., 2018).

Outros agentes vetorizados por *C. felis* são do género *Rickettsia* como, *Rickettsia felis*, *Rickettsia assempbonensis* e *Rickettsia typhi*. As manifestações da infeção por estes agentes em pessoas normalmente são inespecíficas e mostram-se de forma muito similar a infeções por outras espécies de *Rickettsia*. Estes agentes são menos comuns em animais domésticos (Clark et al., 2018; Rajamannar et al., 2022).

A pulga *C. canis* que é muito menos frequente, também tem a capacidade vetorial das mesmas espécies de bactérias *Rickettsia* e *Bartonella*, conhecidas para *C. felis*, e de hospedeiro intermediário para o cestode *Dipylidium caninum* (Ahn et al., 2018; Bowman et al., 2003).

Apesar da pulga *Archaeopsylla erinacei* (a pulga do ouriço) poder parasitar cães e gatos, raros casos são relatados em humanos. Sabe-se que esta pulga é o reservatório de agentes infecciosos importantes para a saúde pública como, *Rickettsia felis* e *Bartonella henselae*. Contudo ainda não foi comprovada a transmissão destes agentes por este vetor, continuando assim o seu papel como vetor desconhecido nas infeções humanas (Greigert et al., 2020).

Diagnosticar infestações por pulgas nos animais de estimação, por vezes pode ser difícil, quando a carga parasitária é baixa. Algumas formas de diagnóstico, baseiam-se na deteção de fezes de pulga no pelo do animal, por cromatografia em papel, onde detritos encontrados na pele são postos em cima de papel filtro, previamente humedecido em sabão diluído ou solução detergente. A hemoglobina presente nas fezes da pulga, difunde-se ao redor das fezes formando um halo vermelho, quando realmente estes detritos são fezes de pulga. A mesma técnica pode ser feita com um algodão humedecido com a mesma solução, que deve ser esfregado no pelo do animal de que se suspeita estar parasitado (Bowman et al., 2003).

Um breve resumo de algumas espécies de pulgas que têm demonstrado riscos para a saúde animal e humana é apresentado na tabela seguinte (Tabela 1.2).

Tabela 1.2: Espécies de pulgas que parasitam raposas-vermelhas

Espécies	Identificação	Distribuição geográfica	Hospedeiros	Agentes patogênicos
<i>C. canis</i> (pulga do cão)	Cabeça arredondada, 1ª cerda do pente pronotal + curta que a cerda seguinte, duas cerdas curtas e robustas no intervalo entre as cerdas longas pós-medianas e apicais na margem dorsal da tíbia posterior	Mundial	Animais domésticos, selvagens e homem	<i>Bartonella</i> spp., <i>Dipylidium caninum</i> , <i>Rickettsia</i> spp.
<i>C. felis</i> (pulga do gato)	Cabeça aerodinâmica, alongada e + baixa do que <i>C. canis</i> , as 2 primeiras cerdas do pente pronotal têm +/- o mesmo comprimento, cerda robusta no intervalo entre cerdas longas pós-medianas e apicais na margem dorsal da tíbia posterior	Mundial	Animais domésticos, selvagens e homem	<i>Bartonella</i> spp., <i>Dipylidium caninum</i> , <i>Rickettsia</i> spp.
<i>P. irritans</i> (pulga do homem)	Margem anterior da cabeça levemente arredondada, peças bucais finas, ausência de pentes genais e protonais	Mundial	Mamíferos domésticos e selvagens, gado, pássaros roedores e homem	<i>Yersinia pestis</i> , <i>Rickettsia felis</i> , <i>Dipylidium caninum</i> e <i>Bartonella</i> spp.

Fonte: (Azarm et al., 2022; Bowman et al., 2003; Clark et al., 2018; Gálvez et al., 2017; Lawrence et al., 2015; Moore et al., 2023; Zurita et al., 2019)

1.1.4. Trematodes

Os trematodes são parasitas pertencentes ao filo Platyhelminthes, que são na sua generalidade caracterizados pelo seu hermafroditismo e corpo mole achatado dorsalmente. Trematodes adultos podem ser identificados como intestinais, hepáticos, sanguíneos, pancreáticos e pulmonares, dependendo dos lugares anatómicos que se alojam nos seus hospedeiros (Bowman et al., 2003; Chai & Jung, 2020).

A classe Trematoda é dividida em três subclasses: Monogenea, Digenea e Aspidogastrea. Os trematodes que fazem parte da subclasse Digenea são parasitas competentes do homem e animais, cuja única forma de contração das zoonoses por eles causadas é alimentar. O ciclo de vida dos trematodes da subclasse Digenea é composto na maioria dos casos por dois hospedeiros intermediários, sendo o primeiro normalmente um

molusco e os segundos podem ser moluscos, crustáceos, reptéis, anfíbios ou peixes. No hospedeiro intermediário é onde ocorre a evolução dos estádios larvais que normalmente são esporocisto, rédia e cercária (Chai & Jung, 2020).

Diversos estudos mostram a variedade de trematodes que podem ser encontrados nas raposas-vermelhas, alguns dos quais encontram-se resumidas na tabela 1.3.

Tabela 1.3: Espécies de trematodes que parasitam raposas-vermelhas

Trematodes	Tipo	Fonte de infecção	Zoonose
<i>Alaria alata</i>	Intestinal	Caracóis, sapos e javalis	Sim
<i>Brachylaima tokudai</i>	Intestinal	Caracóis da família Helicidae	Sim
<i>Cryptocotyle</i> spp.	Intestinal	Peixe de água doce	Sim
<i>Echinochasmus perfoliatus</i>	Intestinal	Peixe de água doce	Sim
<i>Opisthorchis felineus</i>	Hepático	Peixe de água doce (família Cyprinidae)	Sim
<i>Pygidiopsis summa</i>	Intestinal	Peixe de água salobra	Sim
<i>Pseudamphistomum truncatum</i>	Biliar	Peixe de água doce (família Cyprinidae)	Sim

Fonte: (Al-Sabi et al., 2013; Chai & Jung, 2017, 2020; Gállego et al., 2014; Ilić et al., 2016; Korpysa-Dzirba et al., 2021; Neimanis et al., 2016; Pozio et al., 2013; Saeed et al., 2006)

1.1.4.1. *Alaria alata*

O trematode *Alaria alata* pertence à subclasse Digenea e à família Diplostomatidae. Encontra-se distribuído por todos os continentes, sendo esta a espécie de *Alaria* mais documentada na Europa (Korpysa-Dzirba et al., 2021; Széll et al., 2013).

Membros da família Diplostomatidae são caracterizados por ter o corpo dividido em duas partes, onde a parte anterior é achatada e apresenta ventosas orais, ventrais e um órgão tribocítico, esta parte de *A. alata* é a que permite a ligação do parasita ao epitélio intestinal do seu hospedeiro. A parte posterior é cilíndrica e é onde se encontra a maior parte dos órgãos internos, incluindo os sexuais (Bowman et al., 2003; Korpysa-Dzirba et al., 2021).

Regiões com fontes naturais de água doce são os ambientes ideais para irradiação de *A. alata*, estando o seu desenvolvimento condicionado pelas estações do ano correspondentes ao outono e primavera (Korpysa-Dzirba et al., 2021).

O ciclo de vida deste trematode é composto por um hospedeiro definitivo e dois hospedeiros intermediários como é característico da subclasse a que pertence, porém ainda inclui hospedeiros paraténicos. Os hospedeiros definitivos característicos desta espécie são carnívoros selvagens e domésticos como cães, gatos, raposas, cães-guaxinins, lobos, etc. No intestino delgado destes hospedeiros este trematode atinge o estágio adulto

(3 a 6 mm de comprimento). Ovos de coloração castanho-clara, ovais e operculados, com comprimento de 98-125µm e largura de 62-81µm, não embrionados depositados pelo parasita adulto, vão ser libertados para o ambiente através das fezes dos mesmos hospedeiros. Em ambientes com água, miracídios são libertados dos ovos e infetam os caracóis de água doce que correspondem ao primeiro hospedeiro intermediário de *A. alata*. No caracol infetado, se hospedeiro intermediário competente, os miracídios transforma-se em esporocistos, que dão origem a rédias e, das quais eclodem cercarias. As cercarias por sua vez abandonam os caracóis e penetram o segundo hospedeiro intermediário, que normalmente são girinos ou sapos, transformando-se em mesocercárias. As mesocercárias podem ser ingeridas pelos hospedeiros definitivos através da ingestão dos segundos hospedeiros intermediários, transitam pelas cavidades abdominais e torácicas, até chegar aos pulmões, que é o local de passagem para o estágio metacercarial. Ao atingirem este estágio migram até o intestino delgado, onde daí em diante o ciclo volta a ocorrer (Korpysa-Dzirba et al., 2021; Széll et al., 2013).

Contudo, este ciclo pode ter outros desdobramentos onde os segundos hospedeiros intermediários infetados por mesocercárias podem ser ingeridos pelos hospedeiros paraténicos que podem ser porcos, javalis, ratos, aves, cobras, etc. Nestes hospedeiros não há evolução do parasita para fase adulto, este pode manter-se enquistado nos músculos, passando a constituir uma possível fonte de infeção deste parasita para outros hospedeiros paraténicos ou definitivos (Korpysa-Dzirba et al., 2021).

O homem também pode se tornar hospedeiro paraténico de *A. alata*, através do consumo de carne de caça (javalis) e de porco cruas ou mal processadas termicamente, e caracóis ou sapos, infetados com mesocercárias. Infeções por *A. alata* em pessoas causa alariose, porém existem ainda poucos relatos desta infeção em humanos. Os sintomas da alariose são inespecíficos, o que a torna uma doença de difícil diagnóstico. Sintomas característicos no homem causados por outras espécies de *Alaria* incluem sintomas respiratórios e cutâneos de vários níveis de gravidade e choque anafilático, sendo possível que estas sintomatologias possam levar à morte (Korpysa-Dzirba et al., 2021; Széll et al., 2013).

No caso dos hospedeiros definitivos, infeções por *A. alata* não são normalmente causadoras de doença, porém cargas parasitárias muito elevadas podem desencadear enterite (Korpysa-Dzirba et al., 2021).

O diagnóstico desta parasitose nos seus hospedeiros definitivos, é feito principalmente pela observação microscópica de ovos em amostras fecais. Já o diagnóstico na carne dos hospedeiros paraténicos, vem ocorrendo de forma acidental, no decorrer das inspeções de *Trichinella* spp., o que prova a necessidade da existência de regulamentos de segurança pública direcionados ao diagnóstico deste trematode em carnes que têm a probabilidade de estar infetadas por mesosercárias, regulamentos estes que até o momento são inexistentes (Korpysa-Dzirba et al., 2021).

1.1.5. Cestodes

Cestodes são parasitas que fazem parte do filo Platyhelminthes e da classe Cestoda. A morfologia externa do parasita adulto compreende um corpo segmentado, achatado, branco e em forma de fita, com tamanhos variáveis podendo atingir os 20 metros de comprimento. O corpo do parasita é composto por 3 partes distintas: escólex, pescoço e estróbilo. O escólex é a parte responsável pela fixação do parasita ao seu hospedeiro. O pescoço é composto por órgãos germinativos que permitem a formação das proglotes. E por fim, o estróbilo é a parte segmentada do parasita, onde cada segmento individual que o compõem é conhecido como proglote. Os cestodes são na sua grande maioria parasitas hermafroditas, onde em cada proglote estão presentes os órgãos sexuais femininos e masculinos que vão ganhando maturidade da extremidade anterior para a posterior (Mardahl et al., 2019; Van Die & Cummings, 2010; Wanger et al., 2017).

Cestodes são parasitas intestinais que precisam de 2 a 3 hospedeiros para completar o seu ciclo de vida. Os seus ciclos de vida são complexos, envolvendo hospedeiros definitivos e intermediários. A forma adulta do parasita está presente no intestino do seu hospedeiro definitivo que por norma são vertebrados, enquanto a sua forma larvar encontra-se nos hospedeiros intermediários que podem ser tanto vertebrados como invertebrados (Mardahl et al., 2019; Van Die & Cummings, 2010; Wanger et al., 2017).

As principais doenças por eles causadas são gastrointestinais, podendo ainda estes parasitas difundirem-se para outras partes do corpo causando doenças mais severas (Mardahl et al., 2019).

Cestodes que são comumente encontrados nas raposas-vermelhas são membros das famílias Dipylididae, Mesocestoididae e Taeniidae, famílias estas pertencentes à ordem Cyclophyllidea (Bowman et al., 2003; Citterio et al., 2021; Erol et al., 2021).

Parasitas que fazem parte da ordem Cyclophyllidea geralmente apresentam um escólex de menores dimensões comparando com outros cestodes, tendo ele por norma menos de 1 mm. O escólex apresenta quatro ventosas musculares radialmente dispostas, cuja função é a locomoção e a fixação do parasita. Ainda no ápice do escólex é encontrada uma estrutura projetada chamada rostelo que pode ser retrátil e possuir filas circulares de ganchos (Bowman et al., 2003).

Nos parasitas desta ordem não existe nenhuma estrutura nas proglotes que permita a saída dos ovos do útero, ocorrendo então o acúmulo dos mesmos até o seu limite, despoletando assim o destacamento destes proglotes grávidos que são eliminados juntamente com as fezes ou com a pele perianal do hospedeiro (Bowman et al., 2003).

1.1.5.1. Família Dipylididae

Dipylidium caninum e *Joyeuxiella echinorhynchoides* são alguns membros da família Dipylididae que têm sido relatados como parte da fauna parasitaria das raposas-vermelhas (Erol et al., 2021).

Nestas espécies o escólex tem as 4 ventosas características da ordem e o rostelo é retrátil com fileiras circulares de ganchos. As proglotes apresentam poros genitais bilaterais, situados na metade posterior das proglotes de *D. caninum* e na metade anterior das proglotes de *Joyeuxiella*. Nas cápsulas ovíferas de *D. caninum* podem ter de 5 a 30 ovos por cápsula, enquanto nas de *Joyeuxiella*, têm um ovo por cápsula, característica essa que permite a identificação morfológica do género (Bowman et al., 2003).

O ciclo de vida destes parasitas é indireto e necessita de hospedeiros como pulgas, piolhos e provavelmente insetos coprófagos para o desenvolvimento das larvas cisticercóides (Bezerra-Santos et al., 2022; Bowman et al., 2003; Rousseau et al., 2022).

D. caninum é um parasita cosmopolita que tem como hospedeiros definitivos carnívoros domésticos e selvagens incluindo cães, gatos, raposas, lobos, coiotes, etc. Os hospedeiros intermediários desta espécie são geralmente pulgas do género *Ctenocephalides* e *Pulex irritans*, e piolhos das espécies *Trichodectes canis* e *Felicola subrostratus*. Pessoas, principalmente crianças são hospedeiros acidentais deste parasita, sendo infetados pela ingestão de algum dos insetos hospedeiros intermediários (Rousseau et al., 2022).

Já as larvas cisticercóides de *Joyeuxiella* supõem-se que se desenvolvem em insetos coprófagos como escaravelhos, porém esta e outras informações sobre o seu ciclo de vida

continuam por desvendar. Os segundos hospedeiros intermediários, normalmente são répteis e pequenos mamíferos. E os seus hospedeiros definitivos também são carnívoros domésticos e selvagens, sendo a raposa o animal mais frequentemente parasitado por este género, comparativamente a outros canídeos (Bezerra-Santos et al., 2022; Bowman et al., 2003; Hosseini et al., 2020).

A forma infetante é a larva cisticercoide, que como já foi referido se desenvolve no interior do hospedeiro intermediário. O hospedeiro definitivo contrai o parasita ingerindo o hospedeiro intermediário infetado. A larva cisticercóide já no intestino delgado do hospedeiro definitivo, fixa-se neste órgão e começa a se desenvolver para se transformar no parasita adulto. Um certo tempo é requerido (2 a 3 semanas para *D. caninum*) para as proglotes ovíferas atingirem o limite de maturação, se desprenderem do estróbilo e saírem para o ambiente através das fezes. Na rutura das proglotes os hospedeiros intermediários em estádios larvares ingerem as cápsulas ovíferas, as oncosferas eclodem e originam os embriões hexacantos, que se desenvolvem formando as larvas cisticercóides infetantes (Bowman et al., 2003; Hosseini et al., 2020; Rousseau et al., 2022).

Animais parasitados com *D. caninum* normalmente não apresentam sinais clínicos, no entanto existem casos de cargas parasitárias elevadas que podem causar problemas gastrointestinais, como diarreia e dor abdominal leve. Outra característica da infeção é a passagem de proglotes pela zona anal, causando irritação e prurido anal (Velusamy et al., 2023).

As infeções com parasitas do género *Joyeuxiella*, também causam problemas gastrointestinais, como lesões associadas a necrose das vilosidades causadas pela fixação do cestode. Contudo, grande parte das infeções também não exibem sinais clínicos. Estudos mais focados na infeção por *J. echinorhynchoides*, mostram que o parasita pode atingir todos os órgãos, todavia o mais afetado geralmente é o intestino delgado. Nestes casos pode ocorrer hiperplasia, destruição epitelial e infiltração de células inflamatórias na mucosa e submucosa do jejuno (Hosseini et al., 2020).

O diagnóstico de *D. caninum* e *J. echinorhynchoides* é geralmente feito pela análise da existência de ovos e proglotes nas fezes (Bowman et al., 2003; Velusamy et al., 2023).

1.1.5.2. Família Mesocestoididae

Parasitas do género *Mesocestoides* apresentam um escólex com quatro ventosas mais fortemente desenvolvidas, comparando com as famílias Taeniidae e Dipylidiidae, para

compensar a ausência de ganchos. As proglotes maduras deste cestode têm um único poro genital médio-dorsal. O órgão parauterino, onde os ovos se acumulam é composto por paredes mais espessas. E na fase adulta poderá ter de 12 a 200 centímetros de comprimento (Alho et al., 2010; Bowman et al., 2003).

O seu ciclo de vida é complexo, necessitando de um hospedeiro definitivo e dois intermediários para completar o ciclo. Os seus hospedeiros definitivos podem ser carnívoros selvagens, domésticos e o homem. Enquanto os intermediários podem ser animais como raposas, mamíferos domésticos, aves, anfíbios e répteis (Alho et al., 2010).

A forma infetante para os hospedeiros definitivos é a larva L₃ conhecida como, *Tetrathyridium* spp., esta está alojada na cavidade peritoneal dos hospedeiros intermediários. O parasita na fase adulta está presente no intestino delgado do hospedeiro definitivo, onde liberta ovos para o ambiente através das fezes do hospedeiro, duas semanas após a infeção. Os ovos no ambiente vão ser ingeridos pelos primeiros hospedeiros intermediários, os ácaros oribatídeos coprófagos, onde neste ocorre a transformação do ovo em larva cisticercóide. Estas larvas ao serem ingeridas pelo segundo hospedeiro intermediário evoluem para larvas de tetrátirídeos e se multiplicam por fissão longitudinal. O hospedeiro definitivo também por meio da ingestão de hospedeiros intermediários infetados, fica parasitado, ficando o parasita alojado no intestino delgado, onde encontra as condições ótimas para o seu desenvolvimento (Alho et al., 2010; Bowman et al., 2003).

Espécies de cestodes pertencentes a esta família encontram-se distribuídos por todo o globo com exceção da Austrália. As espécies mais importantes na Europa são, *Mesocestoides lineatus* e *M. litteratus*, ambos com potencial zoonótico (Alho et al., 2010; Jesudoss Chelladurai & Brewer, 2021).

A patogenicidade e os sinais clínicos causados por *Mesocestoides* spp. ainda são pouco conhecidos em algumas espécies. Geralmente, cestodes desta família causam sinais clínicos ligeiros aos seus hospedeiros definitivos, porém nos hospedeiros intermediários onde ocorre a multiplicação assexuada das larvas dos tetrátirídeos, pode haver penetração destas na parede intestinal e invasão da cavidade peritoneal. Quando em menor número esta invasão de larvas é bem tolerada, no entanto quando a carga é elevada pode acometer vários órgãos, causando doença grave e em alguns casos morte. Isto pode acontecer a cães e gatos quanto se tornam hospedeiros intermediários acidentais, causando cestodíase

larval peritoneal. Estes animais podem não manifestar a doença ou os sinais clínicos podem variar de ligeiro a grave, podendo ser fatal (Jesudoss Chelladurai & Brewer, 2021).

Infeções com *Mesocestoides* spp. em cães são detetadas pela presença de proglotes grávidos e/ou ovos do parasita nas fezes (Bowman et al., 2003).

1.1.5.3. Família Taeniidae

As tênias são parasitas com comprimento variável de milímetros a metros, com escólex compostos por 4 ventosas e rostelo não retrátil com duas filas de ganchos. As proglotes destes parasitas têm um formato aproximadamente retangular e os seus poros genitais são unilaterais e vão alternando de forma irregular o lado onde estão presentes ao longo do estróbilo (Bowman et al., 2003).

Echinococcus é um género de tênia de comprimento reduzido (2 a 8 mm), cujo estróbilo é formado por apenas 4 a 8 proglotes, sendo somente a última grávida. O restante da morfologia, ovos e ganchos é semelhantes as outras espécies de tênia (Bowman et al., 2003).

Os critérios usados para distinção das espécies e géneros dentro desta família passam pelo comprimento do parasita, morfologia das proglotes maduras e número e tamanho dos ganchos presentes no rostelo (Bowman et al., 2003).

A tênia tem alta especificidade para os seus hospedeiros, estando o parasita adulto localizado no intestino delgado do seu hospedeiro definitivo. Da mesma forma que os restantes membros da ordem Cyclophyllidea, as proglotes grávidas são externalizadas juntamente com as fezes (6 a 9 semanas após infeção). Estes ovos ao serem ingeridos pelos hospedeiros intermediários, eclodem e o embrião hexacanto penetra a parede do intestino e migram para os órgãos alvo (membrana peritoneal, músculo esquelético, músculo cardíaco, fígado, etc.). O embrião hexacanto desenvolve-se nestas estruturas e origina o estágio larvar. O hospedeiro definitivo vai ser infetado pela ingestão desta(s) larva(s), mais propriamente ingerindo o hospedeiro intermediário infetado (Bowman et al., 2003).

Informações sobre as várias espécies pertencentes a família Taeniidea que já foram encontradas em raposas-vermelhas encontram-se na tabela 1.4.

Tabela 1.4: Espécies de ténias que infetam raposas-vermelhas

Espécie	Hospedeiros intermediários	Hospedeiros definitivos	Forma infetante
<i>Echinococcus multilocularis</i>	Roedores	Raposas, cão e gato	Cisto hidático multilocular
<i>Taenia hydatigena</i>	Ruminantes e suínos	Cão	Cisticerco
<i>Taenia crassiceps</i>	Roedores	Raposas, cães e felinos	Cisticerco
<i>Taenia pisiformis</i>	Coelho	Cão	Cisticerco
<i>Taenia polyacantha</i>	Roedores	Raposas, lobos e cão	Cisticerco
<i>Taenia serialis</i>	Coelho	Cão	Cenuro
<i>Taenia teaniaformis</i>	Roedores	Gato	Estrobilocerco
<i>Taenia ovis</i>	Ovinos	Cão	Cisticerco
<i>Taenia multiceps</i>	Ruminantes	Cão	Cenuro

Fonte: (Bowman et al., 2003; Jansen et al., 2020; Jenkins et al., 2014; Karamo et al., 2020; Lescano & Zunt, 2013; Varcasia et al., 2015; Velusamy et al., 2023)

As ténias podem ter quatro formas infetantes dependendo da espécie. Estas formas foram mencionadas na tabela acima (Tabela 1.4) e podem ser, o cisticerco, o estrobilocerco, o cenuro e o cisto hidático. O cisticerco é uma vesícula com um excólex. O estrobilocerco por sua vez, é um cisticerco no período de iniciação de alongamento e segmentação, no interior do hospedeiro intermediário. Já o cenuro, é uma vesícula que contém vários escólices, em que cada um futuramente poderá se tornar numa ténia adulta. Por fim, os cistos hidáticos são formados por parasitas do género *Echinococcus*, podendo ser um cisto hidático unilocular (*E. granulosus*) ou um cisto hidático alveolar (*E. multilocularis*), em que os dois apresentam milhares de escólices (Bowman et al., 2003).

As ténias referidas na tabela 1.4, são parasitas cosmopolitas cujas infeções normalmente são bem toleradas pelos hospedeiros definitivos, sendo muitas vezes as infeções indetetáveis ou com sinais clínicos inespecíficos. No entanto, nos hospedeiros intermediários a forma infetante em situações de carga parasitaria elevada, pode atuar como neoplasias malignas invadindo tecidos e se multiplicando causando doenças graves

como, cenurose cerebral (*T. multiceps*, *T. crassiceps* e *T. serialis*), cisticercose hepática (*T. pisiformis* e *T. hydatigena*), cisticercose nos músculos esqueléticos e cardíacos (*T. ovis*) e hidatidose alveolar (*E. multilocularis*). Humanos podem tornar-se hospedeiros intermediários acidentais de *T. multiceps*, *T. crassiceps*, *T. serialis* e *E. multilocularis* manifestando as doenças referidas (Adolph & Peregrine, 2021; Bowman et al., 2003; Labuschagne et al., 2022; Lescano & Zunt, 2013; Varcasia et al., 2022).

O diagnóstico da infecção por ténias também é feito através da presença de ovos e/ou proglotes grávidos nas fezes. Técnicas como o PCR (Polymerase Chain Reaction) e ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) podem ajudar na identificação das espécies quando necessário (Adolph & Peregrine, 2021).

1.1.6. Nematodes

O filo Nematoda é constituído por parasitas com corpo cilíndrico, semelhante a um fio, transparentes, não segmentados e bilateralmente simétricos. Nematodes fazem parte do superfilo Ecdysozoa, onde os organismos membros são caracterizados pela capacidade de realizar a ecdise. Eles apresentam uma cavidade falsa revestida por mesoderme ao longo da epiderme, chamada pseudoceloma. Apresentam sistema nervoso, digestivo, muscular, reprodutor e excretor, contudo não possuem sistemas respiratório e circulatório. O sistema digestivo é formado pela boca, cavidade bucal, esófago, intestino, reto e ânus. Na sua grande maioria os sexos são separados. Os machos são menores que as suas fêmeas correspondentes, o seu sistema reprodutor abre ventralmente no reto formando uma cloaca, podem ter um ou dois testículos, espículas copulatórias e bolsa copularória, dependendo da espécie. As espículas esclerotizadas por vezes podem ser guiadas por estruturas esclerotizadas chamadas gubernáculos. No caso das fêmeas, elas têm um a dois ovários e uma vulva localizada ventralmente, na região oral, medial ou caudal do corpo (Bowman et al., 2003; Li et al., 2017; Stock & Goodrich-Blair, 2012).

Muitas espécies de nematodes que podem ser encontrados nas raposas-vermelhas têm se mostrado importantes para a saúde humana e veterinária (Erol et al., 2021). Na tabela seguinte (Tabela 1.5) estão listadas algumas destas espécies.

Tabela 1.5: Espécies de nematodes que parasitam raposas-vermelhas

Espécies	Localização parasita adulto	Zoonótico
<i>Angiostrongylus vasorum</i>	Pulmões e artérias pulmonares	Não
<i>Capillaria aerophila</i>	Brônquios	Sim
<i>Capillaria boehmi</i>	Seios nasais	Não
<i>Capillaria plica</i>	Bexiga	Não
<i>Crenosoma vulpis</i>	Brônquios e bronquíolos	Não
<i>Dirofilaria immitis</i>	Coração	Sim
<i>Rictularia affinis</i>	Intestino delgado	Não
<i>Spirocerca lupi</i>	Esôfago e estômago	Não
<i>Thelazia callipaeda</i>	Bolsa conjuntival e lacrimal	Sim
<i>Toxocara canis</i>	Intestinos delgado	Sim
<i>Trichinella spiralis</i>	Mucosa do intestino delgado e músculo estriado	Sim
<i>Trichuris vulpis</i>	Intestino delgado	Não
<i>Uncinaria stenocephala</i>	Intestino delgado	Sim

Fonte: (Erol et al., 2021; Franssen et al., 2014; Gillis-Germitsch et al., 2020; Ionică et al., 2018; Rojas et al., 2018; Tolnai et al., 2014)

1.1.6.1. *Angiostrongylus vasorum*

Angiostrongylus vasorum, nematode membro da superfamília Metastrongyloidea é um parasita cardiopulmonar de canídeos, que se tem mostrado endêmico no continente europeu, Canadá e América do Sul. Morfologicamente é caracterizado por fêmeas de maior comprimento (15-21 mm) que os machos (14-16 mm), com órgãos internos em forma de espiral. Os machos, por sua vez, apresentam bolsa copulatória na sua extremidade caudal que lhes permite fixar à fêmea durante a cópula. As larvas do primeiro estágio de desenvolvimento, com 330 a 360 µm de comprimento, são caracterizadas pela sua transparência e pela sua extremidade distal em forma de curva sinusoidal acompanhada por uma pequena espinha dorsal (Alho et al., 2010; Ferdushy & Hasan, 2010; Gillis-Germitsch et al., 2021).

Este parasita apresenta um ciclo de vida indireto, envolvendo hospedeiros intermediários, que podem ser gastrópodes terrestres ou aquáticos (caracóis e sapos) e hospedeiros definitivos pertencentes à família Canidea, sendo os mais comuns, cães e raposas. O nematode adulto, encontra-se normalmente alojado no lado direito do coração e nas artérias pulmonares e suas ramificações. As fêmeas produzem os seus ovos nestas localizações, que são posteriormente transportados para os capilares onde eclodem originando larvas do primeiro estágio. Essas larvas L₁ vão penetrar os alvéolos e ser

transportadas até a faringe, onde são engolidas e em seguida eliminadas nas fezes. Com as larvas livres no ambiente, o hospedeiro intermediário ingere-as e elas evoluem até o seu terceiro estágio larvar. As larvas L₃ são infetantes para o hospedeiro definitivo quando ele come um hospedeiro intermediário infetado (Ferdushy & Hasan, 2010; Morgan et al., 2021).

As manifestações clínicas mais comuns nos hospedeiros definitivos são na sua grande maioria respiratórias. A inflamação causada pela invasão das larvas L₁ nos alvéolos pode originar pneumonia verminosa, cujos sinais clínicos associados podem ser tosse, dispneia, anorexia, fadiga e síncope. Existem casos de migração destas larvas L₁ para outros órgãos (rins e músculo cardíaco) desenvolvendo assim outros sinais clínicos e podendo até ocorrer o desenvolvimento do parasita adulto em locais ectópicos como olho, bexiga e saco pericárdico (Ferdushy & Hasan, 2010; Morgan et al., 2021).

O método de eleição para o diagnóstico da infecção por *A. vasorum* é o método de Baermann, porém também pode-se usar outras técnicas como a copromicroscopia convencional com esfregaços fecais diretos, que também permite a observação das larvas L₁. Algumas técnicas de imagem também ajudam a detetar sinais clínicos associados à angiostrongilose como lesões pulmonares, hemorragias do sistema nervoso central e espessamento brônquico (Di Cesare & Traversa, 2014).

1.1.6.2. *Capillaria aerophila*

Capillaria aerophila ou *Eucoleus aerophilus*, é um nematode cosmopolita, que pertence à ordem Trichocephalida e à família Trichuridae. É um parasita conhecido por parasitar o trato respiratório de carnívoros domésticos e selvagens, preferencialmente raposas, lobos, cães e gatos, e em raros casos tem demonstrado potencial zoonótico (Elhamiani Khatat et al., 2016; Samorek-Pieróg et al., 2023).

O ciclo biológico de *C. aerophila* ainda não é totalmente compreendido, não se sabendo se o mesmo é direto ou indireto. É posta a hipótese de existir um ciclo indireto que tenha minhocas como hospedeiro paratênico ou intermediário. O parasita adulto (fêmea 16-42 mm e macho 10-25 mm de comprimento) vive e se reproduz abaixo do epitélio dos bronquíolos, brônquios e traqueia do hospedeiro definitivo. A fêmea produz ovos, que são tossidos, engolidos e posteriormente libertados juntamente com as fezes. Os ovos (60-83 µm × 25-40 µm) libertados para o ambiente externo têm aparência similar a um barril com botões bipolares. Num período de 5 a 6 semanas os ovos no ambiente embrionam

(viáveis por 1 ano) e pensa-se que os mesmos também podem amadurecer dentro de minhocas. Os hospedeiros definitivos ficam infetados ao ingerir estes ovos embrionados, que no seu trato digestivo eclodem e as larvas penetram na parede intestinal (7 a 10 dias). As larvas usam a corrente sanguínea e os vasos linfáticos como transportador para os pulmões onde atingem o estágio adulto, 3 a 4 semanas após a infeção (Samorek-Pieróg et al., 2023).

A infeção por *C. aerophila* é designada por capilariose pulmonar. Em animais domésticos as infeções na sua grande maioria não apresentam sinais clínicos ou são subclínicas. Porém, quando a capilariose pulmonar apresenta sinais clínicos estes são semelhantes aos da bronquite crónica, apresentando diferentes graus de gravidade, sendo os sinais clínicos tosse, espirros, dispneia, sibilos, anorexia, secreção nasal e sons broncovesiculares. Quando as infeções são muito intensas podem causar insuficiência respiratória e broncopneumonia e assim levar à morte (Elhamiani Khatat et al., 2016).

No caso dos humanos grande parte das infeções são detetadas acidentalmente, devido à falta de especificidade dos sintomas ou à semelhança destes com a pneumonia brônquica e cancro do pulmão (Samorek-Pieróg et al., 2023).

O diagnóstico é feito através da identificação dos ovos do parasita nas fezes, utilizando o método de flutuação coproscópica. Porém, o diagnóstico pode ser dificultado, pois existem ovos de outros parasitas como, *Trichuris vulpis* e *Capillaria boehmi* que se assemelham aos de *C. aerophila* (Elhamiani Khatat et al., 2016; Samorek-Pieróg et al., 2023).

1.1.6.3. *Capillaria plica*

Capillaria plica ou *Pearsonema plica*, é um nematode da família Capillariidae que se encontra distribuído por todo o mundo. É um nematode pequeno e semelhante a um fio, que parasita animais domésticos e selvagens. Este parasita tem preferência por hospedeiros selvagens como o lobo e a raposa, sendo pouco frequente os casos de infeção reportados em cães e gatos (Petersen et al., 2018; Studzińska et al., 2015).

O seu ciclo de vida é indireto, pois além dos hospedeiros definitivos acima citados, tem as minhocas (Lumbricidae) como hospedeiros intermediários. A infeção no hospedeiro definitivo começa com a ingestão de minhocas infetadas com as larvas do primeiro estágio larvar. Estas larvas L₁ no intestino delgado do hospedeiro definitivo desenvolvem-se até o terceiro estágio larvar e migram até a bexiga onde se transformam no parasita

adulto (13 a 60 mm), em aproximadamente 2 meses. Apesar de normalmente estarem inseridos na mucosa da bexiga, podem por vezes também estar presentes em outras localizações próximas, incluído a uretra e a pelve renal. Os ovos (55–67 μm \times 26–29 μm) têm forma de barril, apresentam botões bipolares e são libertados para o ambiente externo através da urina (Petersen et al., 2018).

Animais infetados com *Capillaria plica* normalmente não exibem sinais clínicos, no entanto em casos esporádicos pode existir inflamação grave da bexiga, amiloidose glomerular, edema e hiperplasia das membranas mucosas que desencadeiam polaciúria, hematúria e disúria em cães (Petersen et al., 2018).

Por ser uma parasitose geralmente inaparente, muitas vezes o seu diagnóstico acontece de forma aleatória no decorrer de outros exames clínicos. Para evidenciar a capilariose é necessário a análise da existência de ovos ou até mesmo do parasita adulto no sedimento urinário, com a ajuda de técnicas como o FLOTAC ou Mini-FLOTAC, ultrassom e exame endoscópico da bexiga (Aleksić et al., 2020).

1.1.6.4. *Crenosoma vulpis*

Crenosoma vulpis é um parasita cardiopulmonar classificado taxonomicamente como parte da ordem Strongylida e superfamília Metastrongyloidea. Este parasita também é vulgarmente conhecido como parasita pulmonar da raposa, podendo parasitar o trato respiratório não só de raposas, como também de cães e texugos presentes na Ásia central, América, Europa e mais recentemente vem sendo relatado na África do Norte (Colella et al., 2016; Mechouk et al., 2023).

O ciclo de vida de *C. vulpis* é indireto tendo gastrópodes (ex. caracóis) como hospedeiros intermediários. Os estádios larvares desenvolvem-se nestes hospedeiros e o terceiro estágio larvar é o responsável por infetar os hospedeiros definitivos quando ingerem o hospedeiro intermediário infetado. O nematode adulto desenvolve-se e vive nos brônquios, bronquíolos e traqueia do seu hospedeiro definitivo. O parasita adulto tem um comprimento de 4 a 15 mm e a cutícula é formada por 18 a 26 dobras em forma de anel. As fêmeas produzem ovos embrionados que eclodem imediatamente após a sua libertação, já os machos são caracterizados por possuírem uma bolsa copulatória. As larvas de primeiro estágio surgem após eclosão dos ovos, passam pelo sistema digestivo e são libertadas para o exterior através das fezes, no espaço de 18 a 21 dias posteriores à contaminação (Colella et al., 2016; Conboy & Sykes, 2021).

A infecção por este parasita tem vários níveis de gravidade, não sendo normalmente fatal. Pode se manifestar de síndrome respiratória subclínica a crônica, sendo o sinal mais frequente tosse persistente, ocasionalmente associada a vômito (Bowman et al., 2003; Colella et al., 2016).

O diagnóstico da parasitose é feito através da observação de larvas de primeiro estágio de *C. vulpis* nas fezes do animal, utilizando a técnica de Baermann (Colella et al., 2016).

1.1.6.5. *Rictularia affinis*

Rictularia affinis ou *Pterygodermatites affinis* é um nematode da família Rictulariidae, que pode ser encontrado em países da Eurásia e América do Sul (Silva et al., 2020).

O parasita adulto tem um comprimento médio, tendo a fêmea de 11 a 17 mm e o macho de 6 a 10 mm. Os ovos produzidos pela fêmea, apresentam um comprimento de 18 a 38 µm e uma largura de 15 a 26 µm. *R. affinis* é um nematode caracterizado por possuir duas linhas de projeções cuticulares subventrais ao longo do corpo, cavidade oral triangular e poro excretor escondido entre as projeções cuticulares (Silva et al., 2020).

O ciclo biológico deste parasita é indireto. Os seus hospedeiros intermediários geralmente são insetos necrófagos e os definitivos são diversos carnívoros (cães, gatos, raposa-vermelha, gineta, coiote, guaxinim, onça-parda e chacal-dourado) (Scioscia et al., 2016).

Nematodes da família Rictulariidae, como *R. affinis*, na fase adulta estão presentes no intestino delgado dos seus hospedeiros definitivos, neste órgão as fêmeas eliminam ovos embrionados que saem para o exterior juntamente com as fezes. Os hospedeiros intermediários ingerem os ovos que passam para o terceiro estágio larvar após um período de incubação de 2 semanas. Essa larva L₃ é infecciosa para os hospedeiros definitivos que ficam parasitados ao engolir o hospedeiro intermediário infetado. A larva L₃ se desenvolve e alcança a fase adulta, em 5 a 6 semanas após infecção (Luong & Hudson, 2012).

Infeções por *R. affinis* em animais domésticos são muito pouco relatados e existem poucas informações sobre o parasita em si, bem como das manifestações clínicas associadas e tratamento. Normalmente as infecções são inaparentes e sinais clínicos estão presentes só em casos de infecções graves. Uma forma de diagnóstico é a identificação dos ovos nas fezes por copromicroscopia (Scioscia et al., 2016).

1.1.6.6. *Toxocara canis*

Toxocara canis é um ascarídeo (família Ascarididae) distribuído mundialmente, que afeta o intestino delgado dos seus hospedeiros. É conhecido por parasitar uma variedade de mamíferos como, lobos, coiotes, chacais e cães (principalmente bebês). Também apresenta potencial zoonótico, sendo a principal causa de toxocaríase humana (Alho et al., 2010; Bowman et al., 2003; Mubarak et al., 2023).

Toxocara canis é um parasita grande com tonalidade branca que possui uma boca com três lábios proeminentes. O comprimento do macho varia entre 4 e 10 cm, ele apresenta um pequeno apêndice terminal e duas espículas copulatórias. As fêmeas são maiores, tendo comprimento variável entre 5 e 18 cm. Os dois sexos são detentores de um par de asas cervicais, estreitas e semi-lanceolados. Os ovos medem de 75 a 90 µm, são esféricos, com um invólucro espesso e arredondado com uma saliência no centro (Alho et al., 2010).

O ciclo de vida deste nematode é extremamente complexo, existindo 4 formas de aquisição da infecção. A primeira forma é a direta, onde a infecção é adquirida pela ingestão de ovos embrionados de *T. canis*. Outra possibilidade de infecção é por ingestão de hospedeiros paratênicos (roedores e aves). E também é possível ocorrer infecção transplacentária e através do leite materno (Alho et al., 2010).

A fêmea adulta liberta os seus ovos no intestino delgado dos hospedeiros definitivos, onde estes são expulsos juntamente com as fezes. Os ovos são infetantes para o hospedeiro definitivo, quando embrionados com uma larva de segundo estágio, estas quando eclodem penetram a mucosa do intestino delgado e migram para órgãos como o fígado e pulmões através da circulação sanguínea e linfática. No pulmão as larvas L₂ podem escolher a migração somática ou a traqueal. A migração traqueal é comum em cães com menos de 6 semanas de vida e é dada quando há passagem de larvas L₂ pelas árvores brônquicas e seguinte deglutição das mesmas juntamente com a secreção traqueobrônquica. As larvas L₂ alcançam o trato digestivo e se desenvolvem até o quinto estágio larvar, transforma-se em parasitas adultos que eliminam ovos que são expulsos nas fezes (Alho et al., 2010).

Em animais com mais de 6 meses é onde ocorre a migração somática. Neste tipo de migração, larvas L₂, ao não serem capazes de migrar através do lúmen alveolar permanecem na circulação, onde vão sendo distribuídos para diversas partes do organismo (rins, útero, fígado, pulmões, glândulas mamárias e músculos esqueléticos) onde ficam retidos por meses ou até mesmo anos. Cadelas infetadas com 40 a 42 dias de

gestação, em que as larvas L₂ estejam enquistadas (em latência), ocorre a reativação das mesmas que se deslocam até as glândulas mamárias e placenta. Os cães são infetados principalmente pela via transplacentária, em que há migração das larvas da placenta para o fígado do feto. Porém, a infecção transmamária também é comum e acontece quando há eliminação de larvas L₂ no leite materno (Alho et al., 2010).

Cães com pouco tempo de vida severamente parasitados com *T. canis*, apresentam muito desconforto abdominal, fezes e vômito contendo grande quantidade de parasitas adultos e outros estados larvares. Pode ainda ocorrer obstrução intestinal, obstrução dos ductos biliares e pancreáticos e rutura intestinal que poderá levar à morte. A migração das larvas também pode causar doença grave em vários hospedeiros deste parasita, atingindo vários órgãos, como fígado, pulmões e rins (Bowman et al., 2003).

O diagnóstico é feito através de exame coprológico por esfregaço fecal e flutuação (Alho et al., 2010).

O homem constitui um hospedeiro paraténico acidental para *T. canis*, a infecção é adquirida pela ingestão acidental de ovos embrionados do parasita, isto acontece através do contacto deste com solo, água, frutas, vegetais e/ou pelos de animais contaminados. Alimentação com carne crua ou mal processada termicamente de hospedeiros paraténicos (coelhos, galinhas e ovelhas) infetados também constitui uma fonte de infecção para humanos. Esse tipo de infecção é muito frequente em crianças e na sua grande maioria em humanos apresenta-se de forma assintomática, ou com sintomas ligeiros. Contudo, existe a possibilidade de migração das larvas para vários órgãos originando reações graves e podendo causar quatro síndromes clínicas diferentes: *larva migrans* visceral, *larva migrans* ocular, neurotoxocaríase e toxocaríase encoberta. Os sintomas variam de acordo com os órgãos atingidos, incluindo sintomas como tosse, asma, dispneia, desconforto torácico, problemas gastrointestinais e prurido (Mubarak et al., 2023).

Técnicas de diagnóstico da toxocaríose humana são a recolha de informações sobre possível exposição ao parasita e ensaios com ELISA para detetar anticorpos específicos de imunoglobulina G contra antígenos excretores-secretadores larvares de *T. canis* (Mubarak et al., 2023).

1.1.6.7. *Trichinella spiralis*

Trichinella spiralis é um parasita membro da superfamília Trichinelloidea. Parasitas deste género são distribuídos globalmente, tendo a capacidade de parasitar o homem, cães,

gatos, suínos, roedores, cavalos, ursos, javalis, etc (Bowman et al., 2003; Mitreva et al., 2024).

O nematode adulto macho mede entre 1,4 e 1,6 mm, não apresenta espícula e tem duas pequenas saliências sobre a cloaca. A fêmea tem um comprimento de 3 a 4 mm, a sua vulva encontra-se na zona mesoesofágica, e o ânus na zona terminal (Bowman et al., 2003).

O parasita *T. spiralis* apresenta um ciclo de vida singular, que se dá dentro de um único hospedeiro. No interior dos seus hospedeiros o ciclo ocorre em três fases. A primeira, é a fase entérica onde o ciclo começa. Após comer carne infetada, no estômago o suco gástrico e enzimas digestivas promovem a libertação de larvas de segundo estágio enquistadas no músculo do hospedeiro infetado ingerido. As larvas L₂ libertadas vão para o intestino delgado, infetam células intestinais, vão formando um sincício no qual se desenvolvem em parasitas adultos e acasalam, num período de uma semana. E as fêmeas grávidas libertam larvas L₁. Segue-se a fase parentérica, onde as larvas L₁ libertadas entram na circulação linfática, passam para a circulação sanguínea até alcançarem o músculo estriado, onde enquistam e atingem o estado de L₂ (Diaz et al., 2020; Mitreva et al., 2024).

A última fase é a do enquistamento, onde as larvas L₂ podem alojar-se em vários músculos do corpo, havendo maior predisposição para enquistarem nos músculos estriados grandes, com abundante irrigação sanguínea, como por exemplo, língua, diafragma e glúteo máximo. Os quistos apresentam fatores de proteção que podem manter o enquistamento por anos. Este ciclo tem uma duração média de duas semanas (Diaz et al., 2020; Mitreva et al., 2024).

Animais que são parasitados por *T. spiralis* são considerados como seus reservatórios, contribuindo para a disseminação do parasita. Informações limitadas sobre a manifestação da infeção em animais estão disponíveis, porém sabe-se que as infeções tendem a não apresentar sinais clínicos, com exceção de casos de elevada carga parasitaria onde pode haver reação do hospedeiro aos parasitas adultos na mucosa intestinal, bem como da invasão das larvas no músculo esquelético (Bowman et al., 2003; Ribicich et al., 2021).

A infeção causada por *T. spiralis* em humanos é chamada triquinelose, e ocorre pela ingestão de carne mal processada termicamente ou crua contaminada, estando

principalmente ligada ao consumo de carne de porco (Bowman et al., 2003; Mitreva et al., 2024).

A sintomatologia varia de acordo com a fase de desenvolvimento em que o parasita se encontra e com a carga parasitária, tendo a possibilidade de infecções leves serem assintomáticas. Na fase entérica os sintomas mais comuns são vômito, dor abdominal, diarreia e náuseas. Sintomas associados à fase parentérica são mais preocupantes e podem ser, mialgia, febre, edema periorbital e facial, dispneia, dor torácica e abdominal, erupções cutâneas, miocardite, encefalite, hemorragias conjuntivais, retinianas e subungueais. A fase do encistamento, apresenta-se com febre, dor muscular intensa e dispneia. Nalguns poucos casos a doença tem se demonstrado fatal, no entanto este é um desfecho possível em casos de enquistamento em órgãos primordiais, devido a sepse, tromboembolismo ou afetação grave do coração, fígado, cérebro ou rins (Diaz et al., 2020; Mitreva et al., 2024).

O método de diagnóstico mais indicado é o ensaio imunoenzimático por ELISA, demonstrando anticorpos específicos de *Trichinella* elevados para os antígenos excretores/secretores de *T. spiralis*. Para confirmação da espécie também é usado o PCR (Diaz et al., 2020).

1.1.6.8. *Uncinaria stenocephala*

Na família Ancylostomatidae encontramos um nematode com dimensões reduzidas, até 1 cm, que parasita o intestino delgado dos seus hospedeiros, chamado *Uncinaria stenocephala*. É um parasita que apresenta uma cavidade bucal munida de duas lâminas cortantes, é direcionado dorsalmente de forma oblíqua, com a extremidade anterior em forma de gancho. Parasitas desta família estão distribuídas mundialmente, estando o nematode *U. stenocephala* largamente distribuído pelos trópicos e áreas da Europa do Norte (Alho et al., 2010; Bowman et al., 2003).

U. stenocephala apresenta um ciclo de vida direto, infetando cães e outros carnívoros selvagens. Este nematode apresenta potencial zoonótico, causando a síndrome de *larva migrans* cutânea em humanos. Além disso, vem sendo associado a enterite eosinofílica em humanos causando diarreia, anorexia e dor abdominal (Alho et al., 2010; Illiano et al., 2024).

Raros casos de *larva migrans* cutânea humana causada por *U. stenocephala* têm sido relatados, esta migração larval é caracterizada por erupções lineares, incômodas, eritematosas e pruriginosas na pele. Estes achados são um meio de diagnóstico para esta

infecção, juntamente à recolha de informações clínicas (Bowman et al., 2003; Conforti et al., 2021).

A infecção tanto no homem como no cão ocorre através do contacto com solo, alimentos e água contaminados com larvas de terceiro estágio deste nematode. Ovos libertados nas fezes no ambiente eclodem e libertam larvas que se desenvolvem até o estágio infetante L₃ em condições adequadas de temperatura e humidade. Embora o principal modo de infecção seja pela via oral (ingestão da larva L₃), existe também a possibilidade de penetração cutânea desta larva L₃, onde não ocorre o desenvolvimento até a fase adulta e não existe transmissão transplacentária ou transmamária. A infecção tem um período pré-patente de 15 dias (Alho et al., 2010; Bowman et al., 2003; Illiano et al., 2023, 2024).

A ancilostomose em cães pode ser subclínica ou apresentar manifestações graves como perdas de sangue que podem ser fatais. *U. stenocephala* é um parasita conhecido por causar anemia em seus hospedeiros, porém a perda de sangue causada por este parasita é muito menor do que a causada por outros ancilostomatídeos tornando assim a sua infecção menos severa (Bowman et al., 2003).

O diagnóstico de infecções por *U. stenocephala* em canídeos geralmente é feito através da identificação de ovos do parasita na flutuação fecal, com ajuda de métodos copromicroscópicos como o FLOTAC. Contudo, os ovos dos ancilostomatídeos são muito similares sendo difícil a sua distinção, deste modo, técnicas de identificação molecular como o PCR por vezes são necessárias (Illiano et al., 2024).

1.1.7. Protozoários

Protozoários são organismos eucariotas, unicelulares, pertencentes ao reino Protista, compostos por um núcleo, retículo endoplasmático, mitocôndrias, corpo de Golgi e lisossomas, podendo ainda ter outras estruturas que permitem distinguir espécies (Taylor et al., 2007).

Os protozoários podem apresentar diferentes estruturas que facilitam a sua locomoção como flagelos, cílios e pseudópodes. Sendo os dois últimos importantes não só para locomoção, como também para nutrição. Alguns protozoários não usam nenhuma destas formas de locomoção e deslocam-se por movimentos deslizantes (Taylor et al., 2007).

Os parasitas protozoários utilizam de estratégias como pinocitose e fagocitose para se alimentarem. As duas estratégias são semelhantes, diferindo somente nas substâncias

transportadas para o interior da célula. O processo começa com a membrana celular envolvendo pequenas partículas líquidas (pinocitose) ou partículas macromoleculares (fagocitose) que fixam à sua região externa. Em seguida, a partícula é direcionada para o interior da célula, onde é incorporada pelos lisossomas que vão ser responsáveis por efetuar a sua digestão. As substâncias não digeridas, acabam por ser eliminadas da célula (Taylor et al., 2007).

O estágio infetante dos protozoários normalmente é denominado esporozoíto, já o estágio onde o protozoário se encontra crescendo e se alimentando no hospedeiro até se dividir é chamado de trofozoíto. Grande parte dos protozoários recorre a reprodução assexuada por fissão binária, por brotamento ou por merogonia. Contudo, existem os que acabam por apresentar uma fase sexuada no seu ciclo de vida, a gametogonia, que pode ser seguida por uma fase de maturação de vida livre, ou esporogonia. Em alguns protozoários a fase assexuada e sexuada acontecem no mesmo hospedeiro, no entanto existem também protozoários onde a fase assexuada ocorre no hospedeiro vertebrado e a sexuada no hospedeiro invertebrado (Taylor et al., 2007).

Os filos Sarcomastigophora, Apicomplexa, Microspora e Ciliophora são os filos que apresentam os protozoários parasitas importantes para a medicina veterinária, sendo os dois primeiros os mais importantes para a saúde animal e humana (Taylor et al., 2007).

As raposas-vermelhas são reservatórios de muitos protozoários como, *Babesia* spp., *Hepatozoon canis*, *Leishmania infantum*, *Eimeria* spp., *Isospora* spp., *Sarcocystis* spp., *Neospora caninum*, *Toxoplasma gondii*, *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. (Duhey et al., 2014; Lukášová et al., 2018; Máca et al., 2024; Perrucci et al., 2023; Sgroi et al., 2021; Vergles Rataj et al., 2013). Na tabela 1.6, encontra-se a classificação destes géneros.

Tabela 1.6: Gêneros de protozoários que parasitam raposas-vermelhas

Gênero	Classificação
<i>Giardia</i>	Filo: Sarcomastigophora/Subfilo: Mastigophora/Ordem: Diplomonarida Parasita intestinal com locomoção por flagelos.
<i>Leishmania</i>	Filo: Sarcomastigophora/Subfilo: Mastigophora/Ordem: Kinetoplastorida Parasita flagelado do sangue, transmitido por picada de mosquito.
<i>Babesia</i>	Filo: Apicomplexa/Ordem: Piroplasmorida Parasitas do sangue, vetorizada por carrças (onde ocorre a reprodução sexuada). Locomoção por deslizamento, ciclo de vida predominantemente intracelular com fases sexuada e assexuada de reprodução.
<i>Theileria</i>	
<i>Cryptosporidium</i>	Filo: Apicomplexa/Ordem: Eucoccidiorida
<i>Eimeria</i>	Parasitas de células epiteliais (onde tanto a reprodução assexuada como sexuada acontecem).
<i>Hepatozoon</i>	
<i>Isospora</i>	Locomoção por deslizamento, ciclo de vida predominantemente intracelular, fases sexuada e assexuada de reprodução.
<i>Neospora</i>	
<i>Toxoplasma</i>	

Fonte: (Taylor et al., 2007)

1.1.7.1. *Babesia* spp.

Babesia é um gênero de hemoparasitas transmitidos por ixodídeos, que possuem um ciclo de vida complexo, que envolve 3 etapas distintas, a merogonia, a gamogonia e a esporogonia. O ciclo começa quando a carrça, ao se alimentar, introduz esporozoítos infectados no hospedeiro vertebrado. Esses esporozoítos adentram os glóbulos vermelhos transformando-se em trofozoítos. Estes por sua vez, se dividem em merozoítos através da fissão binária (merogonia), e esses merozoítos saem das células vermelhas para infectar novas. A fase sexuada (gamogonia) do ciclo ocorre quando os merozoítos se transformam em gametócitos dentro dos glóbulos vermelhos e são ingeridos pela carrça durante a alimentação. No intestino da carrça, esses gametócitos desenvolvem-se em gâmetas, que se fundem formando um zigoto móvel chamado oocineto. O oocineto penetra a matriz peritrófica e as células intestinais da carrça, onde se divide (por meiose) para formar cinetos. Estes cinetos são transportados pela hemolinfa da carrça, afetando vários tecidos, sendo um deles os ovários, dando-se assim a infecção dos ovos e consequente transmissão transovárica. Além disso, os cinetos invadem outros órgãos e se multiplicam (esporogonia) nas glândulas salivares da carrça. Dentro dessas glândulas, os cinetos formam um esporoblasto multinucleado que permanece inativo durante a muda da

carraça, garantindo a transmissão para o próximo estágio (transmissão transtadial). Quando a carraça infetada se alimenta novamente, o esporoblasto ativa e liberta esporozoítos infecciosos na corrente sanguínea do novo hospedeiro (Jalovecka et al., 2019).

Protozoários deste gênero têm se mostrado importantes para a saúde veterinária em todo o mundo, e constituem um perigo iminente à saúde humana. Existem várias espécies de *Babesia* que parasitam animais de estimação, gado doméstico, roedores e animais selvagens, que estão apresentadas na tabela 1.7 (Beugnet & Moreau, 2015).

Tabela 1.7: Espécies de *Babesia* e seus hospedeiros e vetores correspondentes

Espécies	Hospedeiros	Vetores
<i>B. canis</i>	Cão	<i>Dermacentor reticulatus</i> , <i>Dermacentor variabilis</i>
<i>B. vulpes</i>		<i>Ixodes</i> spp.
<i>B. vogeli</i>		<i>Rhipicephalus sanguineus</i>
<i>B. canis presentii</i>	Gato	Desconhecido
<i>B. felis</i>		Desconhecido
<i>B. microti</i>	Infetam roedores, gado doméstico e cervídeos (2 últimas) respectivamente.	<i>Ixodes</i> spp.
<i>B. divergens</i>		<i>Ixodes ricinus</i>
<i>B. venatorum</i>		<i>Ixodes</i> spp.
<i>B. duncani</i>	São as espécies envolvidas nos casos de infecção humana	<i>Ixodes</i> spp.
<i>B. ovis</i>	Ovinos	<i>Rhipicephalus bursa</i>
<i>B. motasi</i>		<i>Haemaphysalis punctata</i>
<i>B. caballi</i>	Cavalo	<i>Dermacentor reticulatus</i> , <i>Dermacentor marginatus</i> , <i>Dermacentor nitens</i> , <i>Hyalomma</i> spp.

Fonte: (Beugnet & Moreau, 2015; Ord & Lobo, 2015)

Algumas espécies presentes na tabela 1.7 incluindo *B. canis*, *B. vulpis*, *B. vogeli* e *B. venatorum* já foram descritas em raposas-vermelhas, porém estudos referentes a babesiose nestes animais são escassos (Mierzejewska et al., 2021; Najm et al., 2014; Sang et al., 2021). Outra forma de relacionar este animal a diferentes espécies de *Babesia*, é pelo vetor de transmissão, sendo muitos dos listados na tabela já descritos como parasitas das raposas-vermelhas (*Dermanocentor reticulatus*, *D. marginatus*, *Rhipicephalus sanguineus*, *Ixodes ricinus*, *Ixodes* spp.) (Lesiczka et al., 2023; Víchová et al., 2018).

Em cães a infecção por *Babesia* spp. é chamada de babesiose canina. A doença tem níveis de gravidade variáveis, podendo apresentar desde infecções subclínicas a crises hemolíticas agudas. As manifestações clínicas dependem do nível de toxicidade da espécie em questão, do estado de saúde do cão e possíveis infecções concomitantes. A forma mais comum da babesiose geralmente resulta de anemia por hemólise, enquanto formas complicadas podem resultar de uma resposta inflamatória sistêmica e disfunção orgânica múltipla. A babesiose aguda não agravada manifesta-se com sinais como febre, icterícia, vômito, palidez das mucosas membranares, anorexia, hipotensão, esplenomegalia e hemoglobínúria. A forma mais grave da doença pode levar a babesiose cerebral, choque, pancreatite aguda, disfunção hepática aguda, insuficiência renal aguda, rabdomiólise e síndrome do desconforto respiratório agudo (Beugnet & Moreau, 2015).

O diagnóstico é feito com base em achados clínicos (anemia hemolítica regenerativa e trombocitopenia), detecção do parasita nos eritrócitos de esfregaços corados por análise microscópica direta, detecção molecular por PCR e exames serológicos (ELISA e IFAT-Immunofluorescence Antibody Test) (Beugnet & Moreau, 2015).

Ixodídeos infetados que se alimentam de roedores, gado bovino e cervídeos atuam como vetores da babesiose humana, uma doença já documentada em todos os continentes. As formas mais comuns de infecção em humanos, além da picada de carrças infetadas inclui, transfusões de sangue contaminado e transmissão de mãe para filho durante a gestação. Conforme descrito na tabela 1.7, as espécies de *Babesia* que podem infetar seres humanos incluem *B. microti*, *B. divergens*, *B. duncani* e *B. venatorum*, sendo *B. divergens* a principal causa de babesiose humana na Europa (Lobo et al., 2020).

As infecções pelo gênero *Babesia* variam amplamente em suas manifestações, dependendo da espécie do parasita, da idade do hospedeiro e de sua imunidade. A gravidade da doença está geralmente associada à idade, afetando mais severamente recém-nascidos e idosos. Contudo, pessoas imunocomprometidas estão em maior risco de desenvolver formas graves e agudas da doença. Infecções por *B. microti* em pessoas saudáveis tendem a ser assintomáticas, com carga parasitária quase indetetável. Quando há sintomas leves, estes incluem febre, calafrios, sudorese, fraqueza, dor de cabeça, anorexia e mialgia. Em casos graves, a infecção por *B. microti* pode ser fatal em cerca de 10% dos pacientes hospitalizados. As infecções por *B. divergens* são menos comuns que as causadas por *B. microti*, mas são significativamente mais graves. Elas frequentemente resultam em hemoglobínúria e outros sintomas como vômitos, diarreia e icterícia. Devido à hemólise

e à resposta imunológica, complicações cardíacas, respiratórias, renais ou hepáticas podem ocorrer. Nestas circunstâncias, esta infecção é considerada uma emergência médica (Lobo et al., 2020).

Exames de diagnóstico em humanos incluem os mesmos métodos usados em animais incluindo, detecção microscópica direta em esfregaços corados (Giemsa ou Wright), técnicas moleculares como, *Reverse transcription* PCR (RT-PCR) e *quantitative* PCR (qPCR) e testes serológicos (ensaios de imunofluorescência) (Ord & Lobo, 2015).

1.1.7.2. Coccídeas (*Eimeria* spp. e *Isospora* spp.)

Eimeria e *Isospora* são os protozoários mais importantes da família Eimeriidae e parasitam múltiplos animais causando coccidiose. São parasitas intracelulares, com ciclo biológico monoxeno, em que apresentam especificidade de hospedeiro e passam pela fase de merogonia nas células intestinais deste (Dubey & Almeria, 2019; Taylor et al., 2007).

Eimeria é um género de parasita de mamíferos domésticos e aves, capaz de causar morbidade e mortalidade significativas. Se diferencia de *Isospora* por ter oocistos compostos por quatro esporocistos, com dois esporozoítos cada (Taylor et al., 2007).

O género *Isospora*, por sua vez parasita cães, gatos, suínos e aves em cativeiro, também em espécies que parasitam mamíferos é conhecida como *Cystoisospora*. Os seus oocistos são caracterizados por possuir dois esporocistos, contendo quatro esporozoítos cada (Dubey & Almeria, 2019; Taylor et al., 2007).

Estes dois géneros, e todos os outros membros da subordem Eimeriorina têm um ciclo de vida similar, que envolve três etapas de desenvolvimento: esporulação, esquizogonia (merogonia) e gametogonia (Bowman et al., 2003; Taylor et al., 2007).

Na fase de esporulação, oocistos não esporulados são libertados no ambiente externo através das fezes, sendo estes oocistos uma massa nucleada de protoplasma cercada por uma parede resistente. Quando as condições de temperatura, humidade e oxigénio são ideais, ocorrem duas divisões nucleares, resultando na formação de quatro corpos cónicos a partir da massa protoplasmática. Esses corpos cónicos, contendo núcleo, assumem uma forma arredondada e se transformam em esporoblastos. Em algumas espécies, o protoplasma remanescente formando o corpo residual do oocisto. Os esporoblastos, por sua vez, desenvolvem uma parede de material refratário, originando esporocistos, dentro dos quais o protoplasma se divide em dois esporozoítos. Em determinadas espécies, o

protoplasma remanescente no esporocisto dando origem a um corpo residual esporocístico, e o esporocisto pode apresentar o corpo de Stieda em sua extremidade. Este processo, geralmente dura de 2 a 4 dias, ao final dos quais surge o oocisto esporulado e infetante, composto por uma parede externa que envolve quatro esporocistos, cada um contendo dois esporozoítos, como ocorre no ciclo biológico de parasitas do género *Eimeria*. No caso do género *Isospora*, ocorre apenas uma divisão nuclear, resultando em um oocisto com dois esporocistos, cada um contendo quatro esporozoítos (Taylor et al., 2007).

Na fase assexuada, conhecida como esquizogonia, o hospedeiro é infetado ao ingerir o oocisto esporulado. Isso leva à liberação dos esporocistos, onde os esporozoítos são ativados pela ação da tripsina e da bile, e então saem do esporocisto. Geralmente, cada esporozoíto invade uma célula epitelial, onde adquire uma forma arredondada e se transforma em trofozoíto. Em alguns dias, o trofozoíto se divide por fissão múltipla, formando um meronte, também chamado de esquizonte, que contém um grande número de organismos nucleados alongados, conhecidos como merozoítos. Com o amadurecimento do meronte, tanto ele quanto a célula hospedeira se rompem, libertando os merozoítos, que então invadem as células subjacentes para continuar o ciclo (Taylor et al., 2007).

A reprodução sexuada por gametogonia, começa quando os merozoítos originam gametócitos masculinos (microgametócitos) e femininos (macrogametócitos). Os macrogametócitos unicelulares e uninucleados, aumentam de tamanho para preencher a célula parasitada, e quando atingem a sua maturidade transformam-se em macrogametas. Os microgametócitos passam por várias divisões nucleares originando um grande número de organismos uninucleados e flagelados, os microgametas. Grandes quantidades de microgametas são liberados pela ruptura da célula hospedeira, onde apenas uma pequena fração consegue encontrar e fertilizar os macrogametas, resultando na formação dos zigotos. Uma parede protetora se forma ao redor do zigoto dando assim origem ao oocisto (Bowman et al., 2003; Taylor et al., 2007).

A infecção por coccídias é autolimitante, ou seja, existe o crescimento dos protozoários infetantes até um nível máximo, seguido pela sua diminuição até um nível baixo ou em alguns casos até ao nível zero, devido ao ganho de imunidade por parte do hospedeiro. A coccidiose ocorre devido a infecções muito fortes ou pela conjugação de uma infecção moderada com stress. A manifestação clínica mais comum da coccidiose em animais é a

diarreia crônica, resultante da destruição do epitélio intestinal devido a multiplicação do protozoário. É importante ter em conta que a existência de oocistos de coccídias nas fezes, associada a diarreia não se trata necessariamente de coccidiose. Porém, em casos de episódios recorrentes de diarreia e apresentação de oocistos nas fezes em grupos de animais é mais previsível que se trate da doença (Bowman et al., 2003).

Em humanos a coccidiose manifesta-se de forma semelhante à coccidiose animal, a doença afeta maioritariamente pessoas imunocomprometidas e os sintomas clínicos incluem diarreia crônica ou intermitente, anorexia, náuseas, febre e dor abdominal (Dubey & Almeria, 2019).

Na tabela que se segue (Tabela 1.8), é apresentada uma lista de animais e algumas espécies de coccídeas que podem parasitá-los.

Tabela 1.8: Espécies de coccídeas e seus hospedeiros

Hospedeiros	Coccídeas
Cães	<i>Isospora canis</i> , <i>Isospora ohioensis</i> , <i>Isospora burrowsi</i>
Gatos	<i>Isospora felis</i> , <i>Isospora rivolta</i>
Bovinos	<i>Eimeria zuernii</i> , <i>Eimeria bovis</i>
Ovinos e caprinos	<i>Eimeria ovinoidalis</i>
Equinos	<i>Eimeria leuckarti</i>
Suínos	<i>Isospora suis</i> , <i>Eimeria suis</i> , <i>Eimeria neodebliecki</i> , <i>Eimeria perminuta</i>
Humanos	<i>Isospora belli</i>

Fonte: (Araújo et al., 2020; Bowman et al., 2003; Dubey & Almeria, 2019)

O diagnóstico de coccídeas pode ser feito por análise microscópica de oocistos em amostras de fezes, e a identificação das espécies pode ser feita através de dados morfométricos, porém nem sempre é possível observar oocistos com este método. Métodos de coloração de esfregaços fecais usando corantes como safranina, Ziehl-Neelsen modificada, auramina-rodamina e Giemsa também podem ser utilizados. A análise de aspirados duodenais permite a identificação de estádios internos do parasita. Métodos moleculares como o PCR, também são eficazes (Bowman et al., 2003; Dubey & Almeria, 2019).

1.1.7.3. *Hepatozoon canis*

Hepatozoon canis, é o hemoparasita responsável por causar hepatozoonose canina em cães, tendo a capacidade de infetar diversos outros canídeos e felídeos selvagens globalmente (Vincent-Johnson et al., 2021). Grande parte dos cães e demais hospedeiros

fica infetado pela ingestão de carraças da espécie *Rhipicephalus sanguineus* infetadas, que serve de hospedeiro definitivo para *H. canis*. A infecção pode ocorrer ingerindo uma carraça, aquando da higienização do próprio pelo ou pela ingestão de presas infestadas por carraças desta espécie infetadas (Chisu et al., 2023; Vincent-Johnson et al., 2021).

Quando ocorre a ingestão da carraça infetada, as células infetadas desta são direcionadas para o baço, linfonodos, rim, fígado, pulmão e linfonodos, através do sangue ou linfa. Nestes órgãos acontece a divisão assexuada através da merogonia, formando 2 tipos de merontes, os constituídos por micromerozoítos e os constituídos por macromerozoítos. Os micromerozoítos, quando libertados pelo meronte maduro, adentram os neutrófilos e monócitos, e originam gamontes, que são a forma infetante para as carraças. Os macromerozoítos, são apontados como os responsáveis pela produção de merontes secundários nos tecidos-alvo, que dão continuidade a este ciclo assexuado (Vincent-Johnson et al., 2021).

Nas carraças infetadas pela ingestão do sangue do hospedeiro com gamontes, estes vão ser eliminados pelos leucócitos no intestino da carraça, onde passam pela gametogénese, originando os gâmetas. Dada a fertilização, forma-se o zigoto, que por sua vez se divide, e sofre esporogonia formando oocistos, constituídos por centenas de esporocistos onde estão os esporozoítos infetantes. Os oocistos se alojam no hemocele da carraça, e não há migração para a região bucal, por esta razão a infecção só ocorre pela ingestão da carraça. O ciclo completo leva em média 81 dias para ser concluído (Vincent-Johnson et al., 2021).

Frequentemente, infeções por *H. canis* têm baixa carga parasitária e por esta razão esta parasitose muitas vezes não é acompanhada de manifestações clínicas ou é subclínica. Todavia, nos casos em que há uma maior carga parasitária os animais infetados apresentam sinais como hepatite, anemia grave, letargia, febre, anorexia, caquexia, pneumonite e glomerulonefrite, existindo a possibilidade de um desfecho letal (Chisu et al., 2023; Vincent-Johnson et al., 2021).

Alguns achados laboratoriais como, a anemia, trombocitopenia e leucocitose (em casos de alta carga parasitária), podem ser indicativos desta parasitose. O método mais comum de diagnóstico é a observação de estruturas ovoides, com dimensões de 11 µm x 4 µm, cobertas por uma membrana espessa, chamadas gamontes, no citoplasma de leucócitos (neutrófilos e monócitos), em esfregaços de sangue corados com Giemsa ou Diff-Quik. Este parasita também pode ser diagnosticado através de métodos serológicos como o IFA

(Imunofluorescência Indireta) e ELISA. Métodos moleculares como o *real-time* PCR, também são eficientes (Vincent-Johnson et al., 2021).

1.1.7.4. *Sarcocystis* spp.

Os protozoários do gênero *Sarcocystis* apresentam um ciclo de vida muito parecido ao das coccídeas relativamente as etapas de desenvolvimento, no entanto, apresentam um ciclo de vida que necessita de hospedeiros intermediários para se completar. As espécies de *Sarcocystis* têm especificidade de hospedeiro e normalmente infetam espécies intimamente relacionadas (predador/presa). O hospedeiro definitivo geralmente é um carnívoro e o intermediário um herbívoro, havendo exceções (Bowman et al., 2003; Fayer, 2004).

A reprodução sexuada deste protozoário acontece no hospedeiro definitivo, onde se completa a esporogonia. A reprodução assexuada, da esquizogonia à formação do sarcocisto, por sua vez acontece no hospedeiro intermediário (Bowman et al., 2003).

Os esporocistos infetantes rompem-se e libertam os esporozoítos, quando ingeridos pelo hospedeiro intermediário. Os esporozoítos libertados penetram o endotélio dos vasos sanguíneos onde ocorre a esquizogonia, originando esquizontes de 1ª geração. Os esquizontes de primeira geração, por sua vez, transformam-se em merozoítos e adentram pequenos capilares e vasos sanguíneos, onde transformam-se em esquizontes de 2ª geração. Quando estes merozoítos adentram células musculares formam sarcocistos que contêm bradizoítos. Após o hospedeiro definitivo ingerir carne infetada com estes sarcocistos, os bradizoítos no seu interior são liberados no intestino delgado, penetram o epitélio intestinal e se diferenciam em macrogametócitos e microgametócitos. Estes gâmetas interagem formando oocistos, que são exteriorizados para o ambiente através das fezes, estes podem romper libertando esporocistos que são a forma mais comumente encontrada nas fezes. Alguns hospedeiros definitivos como os humanos, podem se tornar hospedeiros intermediários acidentais. Nestes casos, os esporozoítos e esquizontes se desenvolvem no endotélio vascular dos vasos sanguíneos, seguido pela invasão dos merozoítos no tecido muscular, causando sarcocistose muscular (Rathish et al., 2022).

No que se refere à morfologia geral dos esporocistos, em várias espécies geralmente têm a dimensão de 10 x 15 µm, apresentam 4 esporozoítos e um corpo residual. Características que permitem distinguir os esporocistos de cada espécie são o tamanho, a existência ou

não de septos e a morfologia da parede. Os oocistos, por sua vez, são constituídos por 2 esporocistos adjacentes e por uma parede fina (Rathish et al., 2022).

O homem, gatos, cães e outros carnívoros selvagens podem ser hospedeiros definitivos de *Sarcocystis*, enquanto os seus hospedeiros intermediários podem ser gado bovino, suíno, caprino, ovino, equino e roedores. Na tabela 1.9, podemos ver algumas espécies de *Sarcocystis* que podem parasitar estes hospedeiros (Bowman et al., 2003; Rathish et al., 2022).

Tabela 1.9: Espécies de *Sarcocystis* e seus hospedeiros

Hospedeiros definitivos	<i>Sarcocystis</i> spp.
Homem	<i>S. hominis</i> , <i>S. medusififormis</i> , <i>S. suihominis</i> , <i>S. equicanis</i>
Cão	<i>S. cruzi</i> , <i>S. tenella</i> , <i>S. capracanis</i> , <i>S. miescheriana</i> , <i>S. bertrami</i>
Gato	<i>S. hirsuta</i> , <i>S. arieticanis</i> , <i>S. porcifelis</i> , <i>S. fayeri</i>
Raposa-vermelha	<i>S. arieticanis</i> , <i>S. capracanis</i> , <i>S. cruzi</i> , <i>S. miescheriana</i> , <i>S. tenella</i>
Hospedeiros intermediários	<i>Sarcocystis</i> spp.
Bovino	<i>S. cruzi</i> , <i>S. hominis</i> , <i>S. hirsuta</i>
Caprino	<i>S. capracanis</i>
Ovino	<i>S. arieticanis</i> , <i>S. miescheriana</i> , <i>S. tenella</i>
Suíno	<i>S. miescheriana</i> , <i>S. porcifelis</i> , <i>S. suihominis</i>
Equino	<i>S. bertrami</i> , <i>S. fayeri</i> , <i>S. equicanis</i>

Fonte: (Bowman et al., 2003; Máca et al., 2024)

Por norma, hospedeiros definitivos infetados com *Sarcocystis* não apresentam nenhum tipo de manifestação clínica, já nos hospedeiros intermediários, a esquizogonia no endotélio causa manifestações severas e até mesmo fatais (Bowman et al., 2003).

Os sinais clínicos e a sua gravidade dependem da carga parasitaria e da espécie infetante. No hospedeiro intermediário a infeção é caracterizada por infiltração perivascular de células mononucleares e pequenas hemorragias em todos os órgãos e tecidos em conjunto com fraqueza, febre e aborto. Nem todos os animais recuperam na totalidade da fase aguda da doença, evoluindo esta para uma doença crónica com manifestações como anorexia, caquexia, alopecia, atrofia muscular, letargia e fraqueza (Bowman et al., 2003; Fayer, 2004).

A infeção por *Sarcocystis* em humanos pode ser muscular ou intestinal. A doença muscular inclui sintomas como febre, dor musculoesquelética, erupções cutâneas, broncoespasmos, cardiomiopatia ou inchaço subcutâneo. Já a doença intestinal é caracterizada por náusea,

anorexia, vômito, dor abdominal, distensão abdominal e diarreia. Na examinação do paciente pode-se encontrar linfadenopatia, hepatomegalia e sensibilidade muscular (Rathish et al., 2022).

O diagnóstico é feito com base em achados clínicos como eosinofilia e linfocitose, análise de oocistos e esporocistos nas fezes com técnicas de flotação, biopsia muscular para observação de *Sarcocystis*, recorrendo a microscopia ótica e técnicas de imagem como a ressonância magnética para detetar quistos musculares (Rathish et al., 2022).

1.1.7.5. *Leishmania infantum*

Protozoários do género *Leishmania*, são protozoários ovalados que se encontram no interior de macrófagos de mamíferos e têm um cinetoplasto em forma de bastonete ligado a um flagelo, que se estende até a margem celular (Taylor et al., 2007).

O ciclo biológico da espécie *Leishmania infantum* envolve hospedeiros mamíferos e flebótomos que têm como papel vetorizar o protozoário. Este protozoário pode parasitar animais tais como o cão (principal reservatório), gatos, roedores, lobos, raposas, ginetas e o homem. Os flebótomos responsáveis por transportar o protozoário na África, Ásia e Europa são os pertencentes ao género *Phlebotomus* (*Phlebotomus perniciosus*, *P. ariasi*, *P. neglectus*, *P. kandelakii*, *P. perfiliewi*, *P. langeroni*, *P. tobbi*, e *P. balcanicus*). Enquanto os vetores deste parasita no continente americano são do género *Lutzomyia* (*Lutzomyia longipalpis*, *L. cruzi*, *L. evansi*, *L. migonei*, *L. forattinii*, *L. almerioi*, *L. whitmani*, e *L. fischeri*) (Morales-Yuste et al., 2022).

Os flebótomos fêmeas ao se alimentarem do sangue de hospedeiros vertebrados infetados, ingerem macrófagos infetados com amastigotas intracelulares. Estes amastigotas no interior do flebótomo originam promastigotas no seu tubo digestivo. Diferentemente dos amastigotas, os promastigotas possuem um flagelo móvel que permite a sua deslocação até a válvula estomodeal do inseto quando atingem o estágio promastigota metacíclico. Os promastigotas metacíclicos são o elemento infetante para o hospedeiro vertebrado quando o flebótomo se alimenta do mesmo (Morales-Yuste et al., 2022).

Humanos e cães parasitados por *L. infantum* muitas vezes não apresentam nenhuma manifestação clínica da infeção ou apresentam sinais subclínicos. Não existe um conjunto de manifestações clínicas específicos da doença em cães, porém sinais comuns são lesões cutâneas associadas a linfadenomegalia periférica, que ocorre em metade dos casos juntamente com astenia, anorexia e atrofia muscular. Outros sinais tais como, alopecia,

letargia, dermatite e crescimento anormal das unhas, podem ocorrer. Em casos clínicos mais graves, pode surgir, poliúria ou polidipsia associados à glomerulonefrite imunomediada, hepatoesplenomegalia, lesões oculares, vasculite e poliartrite. Formas menos comuns de doença envolvem distúrbios cardiorrespiratórios como tosse crônica, miocardite e síncope ou sinais neurológicos (Miró & López-Vélez, 2018).

Em humanos a leishmaniose pode apresentar-se na sua forma cutânea, visceral, mucosa ou ganglionar, sendo as duas últimas menos frequentes. Na forma visceral os sintomas podem aparecer de forma lenta e ir evoluindo progressivamente, quando isto acontece a doença se manifesta como um mal-estar geral associado a febre, anorexia e dor abdominal. Nos casos de doença aguda e de rápida progressão, alguns sintomas são palidez, anemia, ligeiro aumento do baço e fígado e aumento dos gânglios linfáticos. Com o prolongamento do tempo da infecção, esta apresenta sinais como caquexia, ascite, edema, diarreia crônica, sangramento do trato digestivo, da gengiva ou das mucosas nasais e infecções bacterianas associadas. Em pessoas imunodeprimidas podem ocorrer formas disseminadas da doença que prejudicam o trato digestivo, pele, mucosas e pulmões. Na forma cutânea da doença, os locais picados pelos flebótomos apresentam lesões cutâneas na forma de pápulas e nódulos (Miró & López-Vélez, 2018).

O prognóstico da doença tanto em cães como em humanos é positivo quando tratado, contudo, a leishmaniose visceral é fatal quando não efetuado nenhum tratamento (Miró & López-Vélez, 2018).

O diagnóstico da leishmaniose em cães requer a associação de diversas estratégias. Alguns sinais e achados clínicos laboratoriais são indicativos da doença e ajudam no diagnóstico, juntamente com técnicas de sorologia (ELISA e IFAT); evidências do parasita nos linfonodos, medula óssea, pele ou baço; estudos moleculares com PCR no sangue, urina, ou amostras provenientes de biópsias ou citologias (Miró & López-Vélez, 2018).

No homem, o diagnóstico da leishmaniose visceral é feito pela observação microscópica de amastigotas em esfregaços corados (coloração Giemsa), cultura em meio seletivo, estudos moleculares com o qPCR em amostras clínicas (linfonodos, medula óssea, baço e fígado) e estudos sorológicos (ELISA e IFAT). Na leishmaniose cutânea o diagnóstico é feito por microscopia e estudos moleculares em aspirados ou biópsias das margens das lesões (Miró & López-Vélez, 2018).

2. OBJETIVOS DO TRABALHO

Com este trabalho, pretendeu-se perceber a diversidade parasitária em raposas no Alentejo e relacionar esse parasitismo com o risco de transmissão a animais domésticos e aos humanos, no contexto de *One Health* e aumento da população de animais selvagens em ambientes peri-urbanos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Um dos objetivos do trabalho era a análise da fauna parasitária das raposas-vermelhas no Alentejo, para tal foram examinados 33 cadáveres de raposas, que foram identificados com números por ordem da realização da necropsia, de 1 a 33. Os cadáveres foram provenientes da atividade cinegética em várias herdades no Alentejo, sendo a caça realizada dos meses de setembro a fevereiro. No dia seguinte a caçada os cadáveres recolhidos em sacos hermeticamente fechados, eram transportados até o laboratório de Parasitologia Victor Caeiro, onde era realizada a necropsia. Um único cadáver, de uma raposa atropelada, foi recolhido na autoestrada. Na tabela 3.1 estão listadas as herdades onde foram caçadas as raposas e na figura 3.1 é possível visualizar estes mesmos locais no mapa.

Tabela 3.1: Herdades onde foram caçadas as raposas

Locais	Nº de raposas
Herdade Parreira, Nossa Senhora Da Tourega, Évora	2
Herdade da Represa, Arraiolos	2
Herdade da Fonte Boa, Évora	9
Herdade das Figueiras, Valverde	2
Herdade das Lages, São Miguel de Machede	4
Herdade da Alfarrobeira, Nossa Senhora da Tourega, Évora	1
Herdade do Seixo, Nossa Senhora da Tourega, Évora	3
Herdade dos Castelos, São Manços	2
Herdade Bardeiras, Vimieiro, Évora	3
Estrada N380, Évora	1
Herdade Barrocal, Igrejinha, Évora	1
Herdade dos Lázarus, Caridade	3
	Total = 33 raposas

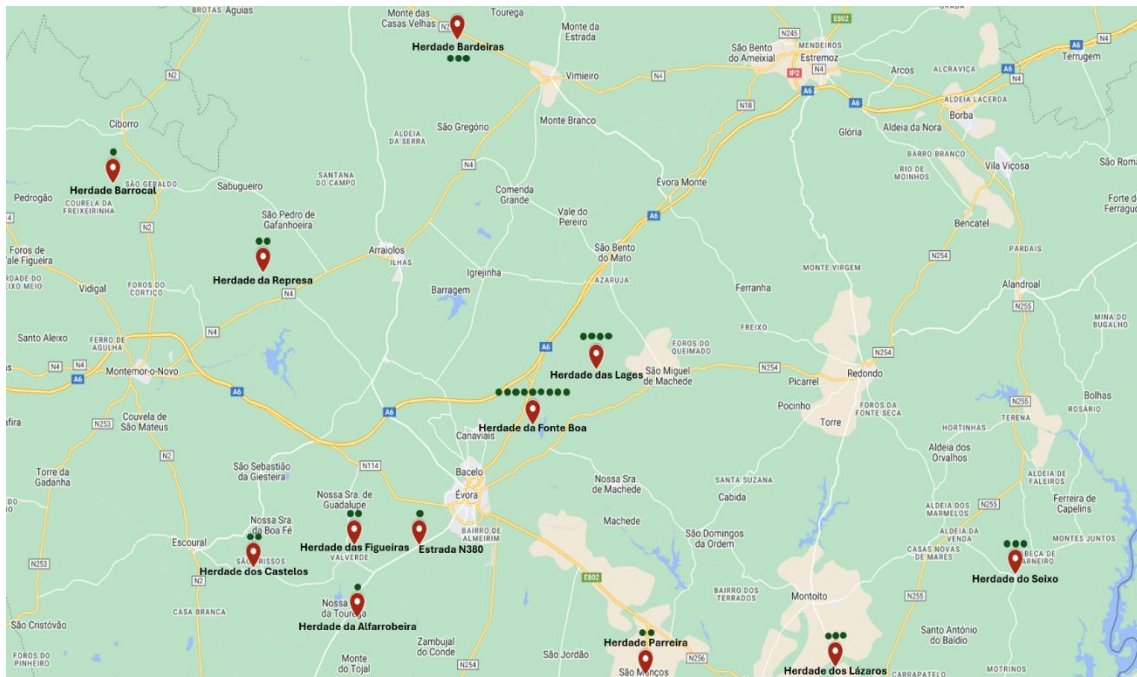


Figura 3.1: Mapa dos locais onde foram caçadas as raposas. Fonte: Imagem obtida e adaptada através do Google My Maps.

3.1. Necropsia parasitológica

Antes da realização das necropsias a sala era preparada com todo o material necessário incluindo, pinças, tesouras, bisturis, lâminas, facas, Eppendorfs de 1,5 ml, Falcons de 15 e 50 ml, pipetas de plástico e de vidro, álcool a 70%, lâminas de vidro próprias para esfregaço, copos cónicos, tabuleiros retangulares e revestimento de plástico para a mesa de necropsia.

Normalmente a pelagem dos cadáveres era retirada pelos caçadores, no entanto, 24% (8/33) destes chegaram ao laboratório com pele. Nestes casos, os cadáveres eram congeladas por 48h a - 22°C, com o intuito de matar as pulgas e os demais ectoparasitas possivelmente presentes no animal. Após o descongelamento o primeiro procedimento era remoção destes parasitas e posterior conservação em álcool a 70%.

Os cadáveres eram posicionados na mesa de necropsia em decúbito dorsal e eram feitos cortes nas articulações superiores e inferiores do animal para o manter estável na mesa. Uma incisão mediana abdominal era feita para ter acesso a todos os órgãos internos. Era recolhido sangue das cavidades do coração com uma pipeta de vidro e depositada num Eppendorf de 1,5 ml e conservado a - 20°C. Em seguida, todos os órgãos eram retirados do interior da cavidade abdominal, era aberta a cabeça com um corte sagital e eram recolhidas amostras de baço, fígado, coração, medula óssea, cérebro, gânglios e fezes em

Eppendorfs conservados a - 20°C. Cada órgão era observado macroscopicamente quanto a presença de parasitas, incluindo o olho e o rim, onde este último era aberto longitudinalmente.

O pulmão e o coração eram abertos o máximo possível adentrando as veias, capilares e artérias, lavados com água corrente individualmente em copos cónicos, em que o órgão e o conteúdo da lavagem ficavam a sedimentar por 24 horas, a sedimentação por 24h também era feita com os seios nasais. Passadas as 24h, o órgão era retirado e o conteúdo líquido do copo, era deixado a sedimentar por mais 15min. Seguidamente, o sobrenadante era decantado e os sedimentos eram observados microscopicamente. Os parasitas presentes eram recolhidos e se necessário esclarecidos com lactofenol. Todos os parasitas que não passaram por lactofenol eram preservados em álcool a 70%.

Outros órgãos como a traqueia, esófago, estômago, intestino grosso, intestino delgado, ceco e bexiga, foram abertos longitudinalmente e lavados com água corrente, em tabuleiros próprios. O conteúdo lavado de cada um, era deixado a sedimentar nesses tabuleiros pelo tempo que fosse necessário. O conteúdo não sedimentado era decantado, e o sedimento era transferido para um copo cilíndrico de vidro, onde este era preenchido com água corrente, repetindo-se todo o processo de sedimentação e decantação, as vezes que fossem necessárias, até o sedimento apresentar o mínimo de detritos possível. O sedimento era observado macroscopicamente, com a ajuda de uma placa de petri de vidro grande. Os parasitas encontrados eram recolhidos com uma pinça e deixados em placas de petri de plástico com água, eram observados microscopicamente e se necessário esclarecidos com lactofenol. Todos os parasitas encontrados foram conservados em álcool a 70%, com exceção dos esclarecidos com lactofenol, que permaneceram montados em lâminas.

Além disso, outros procedimentos realizados consistiam em, retirada do pavilhão auricular para análise do cerúmen quanto a presença de ácaros; recolha de amostrar de fezes para coprologia; raspagem de cada porção do intestino delgado; esfregaços de sangue, medula óssea, gânglios, baço e fígado; amostras de coração, língua, diafragma, e músculos superiores e inferiores, para pesquisa de *Trichinella* e *Sarcocystis*. Os músculos destinados à pesquisa de *Trichinella* foram congelados a - 20°C, enquanto os destinados a pesquisa de *Sarcocystis* e os raspados intestinais eram refrigerados, sem necessidade de congelamento, devido a ordem dos trabalhos.

Todos os parasitas, larvas, ovos e oocistos encontrados, tanto no momento da necropsia como nas subseqüentes técnicas aplicadas, foram identificados pelo suporte bibliográfico utilizado no laboratório de Parasitologia Victor Caeiro (Bowman et al., 2003; Khalil et al., 1994; Taylor et al., 2007; Yamaguti, 1961).

3.2. Coprologia e cultura de oocistos

O método qualitativo da coprologia, baseado na técnica de Willis foi realizado para observar oocistos de protozoários e ovos de helmintas nas fezes das raposas. Neste procedimento, amostras de fezes de raposas eram misturadas com solução saturada de cloreto de sódio (NaCl). Esta solução apresenta uma maior densidade do que a dos ovos e oocistos dos parasitas, permitindo assim que estes flutuem na superfície da mistura. A mistura preparada era transferida com ajuda de um passador para um tubo de ensaio, tirando qualquer elemento que pudesse dificultar a análise da amostra. No tubo de ensaio deixava-se formar um menisco, onde era depositada uma lamela por um período de 10 minutos e depois retirada e preparada a lâmina para observação no microscópio ótico (Seindé Espérance et al., 2024).

Quando encontrados oocistos não esporulados era feita a cultura de oocistos, juntando as fezes com dicromato de potássio a 2%, num recipiente de colheita de amostra, não hermeticamente fechado, a temperatura ambiente, durante oito dias. Este método permite que os oocistos esporulem, sem que as fezes apodreçam. No oitavo dia, era retirada uma pequena porção da amostra, e aplicada o método de Willis, para posterior observação microscópica e identificação dos oocistos. Se após este tempo ainda fossem encontrados oocistos não esporulados a cultura era mantida e ia sendo observada, para certificação dos géneros parasitários.

3.3. Análise do cerúmen

O cerúmen retirado do pavilhão auricular das raposas, era diretamente observado em lâminas preparadas com lactofenol ao microscópio ótico. Caso restasse cerúmen, este era conservado em álcool a 70%.

3.4. Identificação de larvas broncopulmonares

Para identificação de larvas broncopulmonares foi aplicada a técnica de Baermann modificada (Gelaye et al., 2021). Onde uma parte da amostra fecal é colocada no meio de uma compressa de gaze e posta em suspensão num copo cónico contendo água morna.

Esta técnica, tem como base a migração das larvas para o fundo do copo cônico. Depois de 12 horas das fezes em suspensão na gaze, estas eram retiradas e o conteúdo do copo era deixado a sedimentar por mais 15 minutos. Com este tempo completo, o sobrenadante era retirado e o sedimento observado com o auxílio da lupa e microscópio ótico. O sedimento era colhido com uma pipeta de vidro e depositado em uma placa de Petri, para verificar a existência de larvas e em casos positivos, estas larvas eram colhidas novamente com uma pipeta de vidro e era feita uma preparação com lâmina e lamela para observação microscópica.

3.5. Pesquisa de quistos de *Sarcocystis* nos músculos

As amostras de diafragma, língua, coração e músculos inferiores e superiores, destinados à pesquisa de quistos de *Sarcocystis*, eram colhidos num mesmo Falcon de 50 ml, ocupando cerca de 25 ml a 30 ml do tubo. As amostras eram cortadas o máximo possível, com ajuda de um bisturi e triturados juntamente com 50 ml de PBS (Phosphate-Buffered Saline), com o auxílio de um processador. A mistura era coada com um passador e tanto a mistura como o restante da amostra que ficava no passador eram observados separadamente, à lupa, utilizando placas de petri e mais PBS para diluir a amostra e facilitar a observação. Este processo foi adaptado a partir do protocolo definido por Moré et al. (2011).

3.6. Análise dos raspados intestinais

Com uma tesoura era feita a raspagem de cada porção do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo). O raspado de cada porção era posto num Falcon de 15 ml e preenchido com água. Os Falcons contendo os raspados e água eram misturados com o vórtex e deixados sedimentar por no mínimo 12 horas. Após sedimentação, era retirado o sobrenadante e adicionado o fluido de flutuação (solução saturada de sacarose), até os 14 ml do Falcon. O conteúdo do Falcon era centrifugado por 15 minutos, a 1449g. Com uma pipeta de plástico era retirada uma pequena parte da porção superior do centrifugado e preparada uma lâmina para observação direta ao microscópio ótico, para observação da existência de oocistos de protozoários. Esta técnica foi inspirada na técnica utilizada para diagnóstico de oocistos de *Neospora* e *Hammondia* em fezes (Ortega-Mora et al., 2007).

3.7. Coloração rápida de esfregaços

Para os esfregaços feitos por aposição de gânglio, fígado, baço e medula e esfregaços sanguíneos, foi usada a coloração rápida de Giemsa. As preparações eram fixadas com

álcool metílico durante 5 minutos, era dado um tempo para a secagem destas, e posteriormente eram coradas com solução de Giemsa diluído (24 gotas de corante por cada 10 ml de água destilada), durante 15 a 20 minutos. Seguidamente, as preparações eram lavadas com água destilada neutralizada e deixadas a secar. Terminado o processo de secagem, as lâminas eram observadas microscopicamente com a objetiva de imersão, quanto a presença de hemoparasitas. Este protocolo foi adaptado pelo laboratório Victor Caeiro segundo o livro “*Précis de Microscopie*” (Langeron, 1934).

3.8. Coloração de parasitas

Para melhor observação das estruturas internas dos cestodes e trematodes, e identificação dos seus géneros e espécies, por vezes é necessário corá-los. A técnica de coloração utilizada neste trabalho foi a técnica do carmin alcoólico clorídrico. Inicialmente, os parasitas foram postos entre duas lâminas e estas foram mantidas unidas por um fio enrolado à sua volta e deixados em uma câmara de fixação contendo álcool formulado, por 48 horas. Passadas 24 horas, os fios que uniam as lâminas eram retirados. Este primeiro passo é importante para combater a contratilidade dos parasitas.

Seguidamente, os parasitas eram retirados do álcool formulado, deixados por 5 minutos em ácido acético e depois depositados no corante. Após 24 horas, os parasitas eram retirados do corante e passados rapidamente por álcool a 70%, para retirada do excesso de corante. A etapa de diferenciação era feita com lavagem dos parasitas em álcool clorídrico a 0,5%, por 15 minutos ou mais, sempre verificando o estado dos órgãos internos à lupa. Esta etapa tem como objetivo obtenção de contraste entre os órgãos. Depois desta passagem, era iniciada a lavagem com álcool a 70% (5-10 min), álcool 90% (5-10 min) e álcool absoluto (10-15 min), consecutivamente.

Com a coloração concluída, os parasitas eram montados em lâminas com bálsamo do Canadá e uma lamela por cima. Para secagem do bálsamo, era necessário que as preparações ficassem numa estufa a 30/32°C, podendo depois ser observadas microscopicamente. Não existe um número de dias definido para a secagem do bálsamo e esclarecimento do parasita. Este processo também foi adaptado pelo laboratório a partir do livro citado no 3.7 (Langeron, 1934).

3.9. Pesquisa de *Trichinella*

As amostras de músculos inferiores e superiores, diafragma, língua e coração, obtidas no momento da necropsia, destinadas à pesquisa de *Trichinella*, eram descongeladas e pesadas 20 gramas, contendo partes de cada músculo. Os 20 g de músculos eram triturados, com a ajuda de um processador de carne, apertando o mesmo 3x, muito rapidamente. O triturado era misturado com 400ml de pepsina, que tem como função digerir o músculo. O conjugado de músculo triturado e pepsina eram deixados por 24 horas numa estufa a 37°C, para potencializar a digestão. Quando a digestão estivesse completa, o conteúdo digerido já fora da estufa era deixado sedimentar por 15 min. Em seguida, o sobrenadante era descartado até ter somente 100 ml de conteúdo total. Os 100 ml, sedimentavam por 30 min e o sobrenadante era descartado até restar 40ml do conteúdo inicial, que eram deixados a sedimentar por 15 min e posteriormente descartado o sobrenadante até restar somente 10 ml da solução, que eram observados à lupa, em uma placa de Petri.

Antes de ser feito todo este processo, a pepsina era preparada. Para preparar 2 litros de pepsina era necessário, 2 L de água destilada, 16 ml de ácido clorídrico (HCl) e 10 g de pepsina. Esta solução deve ser sempre conservada em ambiente refrigerado.

A técnica aplicada no estudo, foi adaptada a partir do protocolo de digestão pelo método do agitador magnético, referenciado pela Comissão Internacional de Triquinelose (Gajadhar et al., 2019).

3.10. Métodos moleculares

A extração de ácidos nucleicos foi feita em amostras de cérebro, sangue, gânglios, fígado, baço e fezes, para realização de PCR, com o intuito de pesquisar vírus e bactérias que podem infetar raposas e que de alguma forma estão ligadas ao seu parasitismo. O kit de extração usado para todas as amostras, foi o kit de extração e purificação de Ácidos Nucleicos da FOSUN (FOSUN Ultrapure NA) destinado a 96 testes, seguindo o protocolo disponibilizado pelo kit. Uma alteração feita ao protocolo, é referente a etapa 3, em que o tempo de incubação foi ajustado para 24 horas, num agitador a 70°C e a 700rpm. Os produtos das extrações foram conservados a - 20°C até a realização do PCR.

Os PCRs foram realizados no Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas Doutor Francisco Cambournac.

Para o estudo da bactéria *Coxiella*, foi realizada uma triagem por *real-time* PCR, em amostras de baço, fígado, gânglio ou sangue, dependendo do animal devido a escassez de algumas amostras de determinados animais. Foram utilizados os primers 456/457 e sonda Cox, para amplificação de um fragmento de 70 pares de bases (bp) do elemento repetitivo IS1111. Foi utilizado o equipamento CFX Opus 96, Bio RAD, com as seguintes condições: 1x 50°C 2min; 1x 95°C 15min; 50x (95°C 10s, 60°C 60s; 72°C 1s aquisição-leitura da placa em canal FAM) (Mori et al., 2017; Santos et al., 2018).

As amostras positivas para *Coxiella*, foram ainda testadas por Nested-PCR e posteriormente sequenciadas, para confirmação da identidade do DNA amplificado como pertencente a espécie *Coxiella burnetii*. Na primeira reação foram usados os primers T1/T2 e na 2ª reação (nested) os primers T3/T4, para amplificação de um fragmento de 242bp do elemento repetitivo IS1111. Nesta fase foi usado o T3 Thermocycler, Biometra, com as seguintes condições: 1x 94°C 2min; 5x [94°C 30s; 77°C(-2°C/ciclo); 77°C 1min]; 37x (94°C 30s, 67°C 30s; 77 1min); 1x 77°C 5min (Mori et al., 2017; Santos et al., 2018).

Anaplasma phagocytophilum e *Neoehrlichia mikurenis* foram rastreados por *real-time* duplex PCR nas amostras de baço, sangue, gânglio ou fígado, dependendo do animal devido a escassez de algumas amostras de determinados animais. Foram usados os primers ApMSP2F/ ApMSP2R e sonda ApMSP2P, para amplificação de um fragmento de 77bp da *msp2* e primers NMikGroEL-F2a / NMikGroEL-R2b e sonda NMikGroEL-P2a para amplificação de um fragmento de 99bp do *groEL*. Foi usado o equipamento CFX Opus 96, Bio RAD, com as seguintes condições: 1x 50°C 2min; 1x 95°C 15min; 50x (95°C 10s, 60°C 60s; 72°C 1s aquisição-leitura placa em canal FAM e HEX) (Santos et al., 2018; Silaghi et al., 2017).

Foi ainda usado nas amostras de sangue um protocolo genérico de PCR convencional que amplifica agentes pertencentes à família Anaplasmataceae. As amostras positivas foram posteriormente sequenciadas. O termociclador usado para o Nested-PCR foi o T3 Thermocycler, Biometra, com os primers EHR16SD/ EHR16SR para amplificação de um fragmento de 345bp do 16SrDNA, com as seguintes condições: 1x 95°C 2min; 31x (95°C 30s, 55°C 30s; 72 45s) e 1x 77°C 5min (Santos et al., 2018; Silaghi et al., 2017).

Para detecção do vírus da febre hemorrágica da Crimeia-Congo em amostras de sangue, foi feito um ensaio de RT-PCR *real-time*, com os primers CCHF S1/CCHF S122 e sonda CCHF para amplificação do segmento S do vírus. O equipamento usado foi CFX Opus

96, BioRAD, aplicando as seguintes condições: 1x 50°C 10 min; 1x 95°C 2 min; 45x (95 °C 10s; 60 °C por 40s) e 40 °C por 30s. Para leitura dos resultados foram usados os canais FAM e JOE (Atkinson et al., 2012).

Na detecção do *Phlebovirus*, foi feito RT-PCR convencional em amostras de sangue, para amplificação parcial do gene/ORF N com os primers Phlebo forward 1, Phlebo forward 2 e Phlebo reverse, usando o termociclador T3 Thermocycler, Biometra, com as seguintes condições: 1x 50°C 30 min; 1x 95°C 15 min; 55x (94°C 30s; 55°C 1min e 72°C 2 min) e 1x 72°C 10 min (Lambert & Lanciotti, 2009).

Na detecção de *Flavivirus* foi aplicado o RT-PCR convencional e Nested-PCR com os mesmos primers, EDL/flaU-9093 e EDL/FlaL-9279, para amplificação de um fragmento do gene/ORF NS5. Foi usado o termociclador T3 Thermocycler com as seguintes condições de ciclagem para o RT-PCR: 30 min 50°C; Desnaturação inicial, 5 min 95°C; 45x (15s 94°C, 15s a 60°C, 20s 72°C); e 5 min a 72°C para extensão final. Enquanto, no Nested-PCR as condições usadas foram: 5 min 95°C; 45x (15s 94°C, 15s 60°C, 20s 72°C); e 5 min a 72°C para extensão final (Osório et al., 2014).

Os produtos de PCR amplificados foram observados ao transiluminador UV após separação por electroforese em gel de agarose (1,5% agarose-1X TAE, corado com GelRED, BIOTIUM) em paralelo com marcador molecular, Ladder 100 bp (BIORON).

3.11. Análise estatística

Os dados de parasitismo de cada raposa, encontrados em cada técnica de pesquisa acima indicada, foram organizados numa tabela no Microsoft Excel. Usando esta ferramenta, foi determinada a prevalência de cada parasita e com o programa R, foram determinados os respectivos intervalos de confiança, usando um nível de confiança de 95%. Ainda no Microsoft Excel, foi feita a análise da existência ou não, de significância estatística entre cada parasitose e os sexos das raposas, usando o teste Qui-quadrado. Sendo os resultados significativos quando o valor $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

Um total de 33 raposas, 23 machos e 10 fêmeas, foram analisadas quanto a existência de parasitas, utilizando todas as técnicas descritas no capítulo 3. As raposas, na sua totalidade (100%) encontravam-se parasitadas, a diversidade de endoparasitas encontrados nestes animais, tinham como grupo predominante de parasitas, o grupo dos nematodes, com 8 espécies (Figura 4.1), seguido por 3 gêneros de protozoários (Figura 4.2), 3 espécies de cestodes (Figura 4.3) e uma espécie de trematode (Figura 4.4). Alguns ectoparasitas (Figura 4.5), incluindo ixodídeos (2 gêneros), pulgas (2 espécies), piolhos (1 espécie) e ácaros astigmatas (1 espécie), também foram observados nestas raposas. Os dados de parasitismo estão resumidos nas tabelas 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 e 4.5.

Neste estudo, o parasita que mostrou maior prevalência foi *U. stenocephala* (96,96%), seguido por *O. cynotis* (75,75%), *A. alata* (54,54%) e *C. aerophila* (51,51%). Grande parte das restantes espécies de parasitas como, *A. vasorum* (3,03%), *T. canis* (3,03%), *C. plica* (6,06%), *C. vulpis* (6,06%), *Toxocara* spp. (6,06%), *R. affinis* (6,06%), *Taenia* spp. (9,09%), *J. echinorhynchoides* (12,12%), *Isospora* spp. (12,12%) e *Eimeria* spp. (18,18%) apresentaram baixas prevalências, onde o cestode mais prevalente foi *M. lineatus* (21,21%), enquanto o protozoário mais prevalente foi *Sarcocystis* spp. (36,36%) (Tabela 4.1).

Todos os parasitas do gênero *Taenia* encontrados, compartilhavam as mesmas características morfológicas, porém, não foi possível chegar à espécie de acordo com as características dos ganchos (ganchos menores 126 - 129,6 micrómetros e ganchos maiores 176,4 – 194,4 micrómetros). O mesmo aconteceu com os parasitas do gênero *Toxocara*, onde não foi possível a sua identificação, pois os ovos analisados das fêmeas não estavam maduros o suficiente para fazer uma distinção de espécies. Nenhum parasita macho foi encontrado, impedindo uma identificação através das estruturas sexuais.

Oocistos de *Isospora* foram encontrados tanto na coprologia, como na análise dos raspados intestinais, apresentando formato oval, transparente, com parede dupla e corpo residual esporocístico. Os oocistos tinham 28,6 micrómetros x 24,31 micrómetros, as dimensões dos 2 esporocistos foram de 17,16x10,1 micrómetros e dos 4 esporozoitos, 12,87x2,86 micrómetros.

Os oocistos de *Eimeria* spp., da mesma forma foram encontrados na coprologia e na análise dos raspados intestinais. Dois tipos diferentes deste oocisto foram verificados, um

esférico, transparente, com parede dupla e grânulo polar com uma dimensão de 18x18 micrómetros e um segundo subsférico, esporulado, transparente, com parede dupla, corpo de stieda e dimensões de 25,2x23,4 micrómetros.

Oocistos de *Sarcocystes* também foram observados nas fezes e nos raspados intestinais, porém as dimensões não foram analisadas. Quistos tecidulares foram observados durante procedimento de pesquisa de *Sarcocystis* no músculo das raposas.

Os esfregaços preparados e corados para pesquisa de protozoários hemoparasitas apresentaram alto nível de contaminação por cocos e bacilos, tornado os mesmos inconclusivos. A elevada contaminação deveu-se ao facto da necrópsia e consequentemente os esfregaços serem feitos um dia após a caça da raposa, onde o processo de decomposição já teria se iniciado.

Na análise do produto da digestão muscular nenhuma raposa apresentou resultado positivo para a presença de *Trichinella*.

Tabela 4.1: Prevalência de parasitas nas raposas-vermelhas

Parasitas	Número de raposas positivas (prevalência %)		
	Total (n = 33)		
	Nº	%	IC 95%
Ácaros			
<i>O. cynotis</i>	25	75,75	57,36 – 88,25
Trematodes			
<i>A. alata</i>	18	54,54	36,59 – 71,46
Cestodes			
<i>Taenia</i> spp.	3	9,09	2,37 – 25,47
<i>M. lineatus</i>	7	21,21	9,63 – 39,39
<i>J. echinorhynchoides</i>	4	12,12	3,95 – 29,14
Nematodes			
<i>A. vasorum</i>	1	3,03	0,15 – 17,51
<i>C. aerophila</i>	17	51,51	33,85 – 68,83
<i>C. plica</i>	2	6,06	1,05 – 21,62
<i>C. vulpis</i>	2	6,06	1,05 – 21,62
<i>R. affinis</i>	2	6,06	1,05 – 21,62
<i>T. canis</i>	1	3,03	0,15 – 17,51
<i>Toxocara</i> spp.	2	6,06	1,05 – 21,62
<i>U. stenocephala</i>	32	96,96	82,48 – 99,84
Protozoários			
<i>Eimeria</i> spp.	6	18,18	7,61 – 36,08
<i>Isospora</i> spp.	4	12,12	3,95 – 29,14
<i>Sarcocystis</i> spp.	12	36,36	20,96 – 54,85

Bactérias e vírus relacionados ao parasitismo das raposas também foram investigados. Estudos moleculares de *Flavivirus*, Vírus da febre hemorrágica da Crimeia-Congo, *Phlebovirus*, *Anaplasma* e *Ehrlichia*, apresentaram resultados negativos em todas as

raposas. Inicialmente, houve suspeita da presença de DNA de *Anaplasma* spp. em uma raposa, que não foi posteriormente confirmada pela sequenciação. Por outro lado, duas raposas (2/33) foram positivas para a presença de DNA da bactéria *Coxiella burnetii* (6,06% - IC 95%: 1,05% - 21,62%), na análise do produto da extração do fígado de uma raposa e baço de outra raposa. As duas raposas positivas eram do sexo masculino, não existindo nenhuma fêmea infetada, a comparação desta infecção entre os sexos não se mostrou estatisticamente significativa, com o valor de $X^2 = 0,92$ e valor $p = 0,33$, considerando o valor p significativo quando $p < 0,05$.

Nas raposas do sexo masculino, que constituem a maior parte da população total das raposas (69,70%), o parasita predominante também foi *U. stenocephala* (95,65%), seguido por *O. cynotis* (73,91%), *C. aerophila* (65,21%) e *A. alata* (52,17%), os dois últimos mudando de posição relativamente à análise geral. Por sua vez, as raposas fêmeas, que representam 30,30% da população geral, estavam na sua totalidade parasitadas por *U. stenocephala* (100%), tendo ainda elevadas prevalências para, *O. cynotis* (80%) e *A. alata* (60%). Parasitas presentes nos machos, como *A. vasorum*, *T. canis*, *C. vulpis*, *Toxocara* spp. e *R. affinis*, não foram observados nas fêmeas.

Apesar dos machos estarem infetados por um maior número de espécies de parasitas em comparação às fêmeas, não foi encontrada uma diferença estatística significativa nas infecções entre os sexos. Com exceção de *C. aerophila*, onde os machos se mostraram significativamente mais parasitados por este parasita do que as fêmeas, com um valor de p igual a 0,01, considerando o valor de p estatisticamente significativo quando $p < 0,05$. Informações da prevalência de parasitas nos diferentes sexos e sua significância estatística encontram-se resumidas na tabela 4.2.

Tabela 4.2: Prevalência de parasitas correlacionada ao sexo das raposas

Parasitas	Número de raposas positivas (prevalência %)					
	Correlação entre sexos					
	Total (n=33)					
	Macho (n=23)		Fêmea (n=10)		X ²	Valor P
Nº	%	Nº	%			
Ácaros						
<i>O. cynotis</i>	17	73,91	8	80	0,14	0,70
Trematodes						
<i>A. alata</i>	12	52,17	6	60	0,17	0,67
Cestodes						
<i>Taenia</i> spp.	2	8,69	1	10	0,01	0,90
<i>M. lineatus</i>	5	21,73	2	20	0,01	0,91
<i>J. echinorhynchoides</i>	2	8,69	2	20	0,83	0,36
Nematodes						
<i>A. vasorum</i>	1	4,34	0	0	0,44	0,50
<i>C. aerophila</i>	15	65,21	2	20	5,70	0,01*
<i>C. plica</i>	1	4,34	1	10	0,39	0,53
<i>C. vulpis</i>	2	8,69	0	0	0,92	0,33
<i>R. affinis</i>	2	8,69	0	0	0,92	0,33
<i>T. canis</i>	1	4,34	0	0	0,44	0,50
<i>Toxocara</i> spp.	2	8,69	0	0	0,92	0,33
<i>U. stenocephala</i>	22	95,65	10	100	0,44	0,50
Protozoários						
<i>Eimeria</i> spp.	4	17,39	2	20	0,03	0,85
<i>Isospora</i> spp.	2	8,69	2	20	0,83	0,36
<i>Sarcocystis</i> spp.	8	34,78	4	40	0,08	0,77

*p < 0,05

Das 33 raposas analisadas, somente 8 apresentavam pelagem, por esta razão elas foram as únicas analisadas quanto à existência de ectoparasitas (pulgas, carraças e piolhos). O ácaro *O. cynotis* é uma exceção, pois em todas as raposas teve-se acesso ao pavilhão auricular para recolha e análise de cerúmen, e por esta razão foi analisada juntamente com os restantes parasitas. A amostra sendo muito pequena impede uma análise estatística coerente, contudo a análise descritiva dos ectoparasitas encontrados encontra-se disponível na tabela 4.3.

Das 8 raposas com pele, 5 (62,5%) eram do sexo masculino e 3 (37,5%) do sexo feminino. Destas 8 raposas, somente 6 (75%) apresentavam algum tipo de ectoparasita, tendo 4 machos (50%) e 2 fêmeas (25%) parasitados. Os ixodídeos que mais parasitaram os machos foram os do género *Rhipicephalus* (60%), enquanto as pulgas mais prevalentes foram *P. irritans*, sendo este também o ectoparasita com maior prevalência nos machos (80%). Machos foram o único sexo a apresentar piolhos, tendo um único parasitado com este parasita (20%). Assim como os machos, as fêmeas tiveram como ixodídeo mais prevalente os ixodídeos do género *Rhipicephalus* (66,66%), no entanto, as pulgas *C. felis* e *P. irritans* apresentaram a mesma prevalência (33,33%).

No geral, os ixodídeos mais prevalentes nestas raposas foram os do género *Rhipicephalus*, enquanto a pulga mais comum foi *P. irritans*, apresentando ambos a mesma prevalência de 62,5%. O ectoparasita menos prevalente por sua vez, foi o piolho *Felicola (suricatoecus) vulpis*, com prevalência igual a 12,5%.

Nestas raposas existiam coinfectações com 2, 3 e 4 ectoparasitas diferentes em simultâneo, não existindo nenhuma raposa parasitada com um único tipo de ectoparasita. A coinfectação mais comum foi a que envolvia 2 tipos de ectoparasitas simultaneamente (3/6), a seguinte infestação mais frequente foi a com 3 tipos (2/6) e a menos frequente foi a com 4 tipos (1/6). As coinfectações observadas com 2 tipos diferentes de ectoparasitas foram *P. irritans* + *Rhipicephalus* spp. (2/3) e *P. irritans* + *Ixodes* spp. (1/3). Coinfectações com 3 tipos diferentes de ectoparasitas foram, *Rhipicephalus* spp. + *Ixodes* spp. + *C. felis* (1/2) e *Ixodes* spp. + *P. irritans* + *Rhipicephalus* spp. (1/2). E por fim, a única coinfectação observada com 4 tipos diferentes de ectoparasitas envolvia, *C. felis* + *F. vulpis* + *P. irritans* + *Rhipicephalus* spp. (1/1).

Tabela 4.3: Prevalência de ectoparasitas em raposas com pelagem

Ectoparasitas	Nº de raposas com pelagem, positivas para ectoparasitas (prevalência %)					
	Total (n=8)					
	Macho (n=5)		Fêmea (n=3)		Nº	%
Nº	%	Nº	%			
Ixodídeos						
<i>Ixodes</i> spp.	2	40	1	33,33	3	37,5
<i>Rhipicephalus</i> spp.	3	60	2	66,66	5	62,5
Piolhos						
<i>F. vulpis</i>	1	20	0	0	1	12,5
Pulgas						
<i>C. felis</i>	1	20	1	33,33	2	25
<i>P. irritans</i>	4	80	1	33,33	5	62,5

A totalidade das raposas analisadas apresentaram infeções mistas, estas variaram de infeções com 2 a 8 parasitas diferentes, simultaneamente. A coinfectação mais comum foi a com 4 parasitas diferentes, partilhada por 11 raposas (33,33%) e a menos frequente, contudo com maior número de parasitas envolvidos, foi com 8 parasitas (3,03%), verificada em apenas uma raposa. A tabela 4.4 mostra a prevalência das coinfectações observadas e quais os parasitas envolvidos nestas infeções mistas, onde as infeções pela bactéria *C. burnetii* e por ectoparasitas não foram contabilizadas.

Tabela 4.4: Prevalência de infecções mistas em raposas e os parasitas envolvidos nestas infecções

Coinfecção com:	Nº raposas coinfectadas (prevalência %)		
	Total de raposas (n = 33)		
	Nº	%	IC 95%
2 parasitas	5	15,15%	5,71 – 32,66
<i>C. vulpis</i> + <i>C. aerophila</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>O. cynotis</i> (3x) <i>U. stenocephala</i> + <i>C. aerophila</i>			
3 parasitas	5	15,15%	5,71 – 32,66
<i>U. stenocephala</i> + <i>J. echinorhynchoides</i> + <i>A. alata</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>Sarcocystis</i> spp. + <i>O. cynotis</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>C. aerophila</i> + <i>A. alata</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>O. cynotis</i> + <i>C. aerophila</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>O. cynotis</i> + <i>M. lineatus</i>			
4 parasitas	11	33,33%	18,55 – 51,89
<i>U. stenocephala</i> + <i>O. cynotis</i> + <i>C. aerophila</i> + <i>A. alata</i> (2x) <i>U. stenocephala</i> + <i>O. cynotis</i> + <i>Isospora</i> spp. + <i>Eimeria</i> spp. <i>U. stenocephala</i> + <i>O. cynotis</i> + <i>J. echinorhynchoides</i> + <i>A. alata</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>R. affinis</i> + <i>O. cynotis</i> + <i>M. lineatus</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>J. echinorhynchoides</i> + <i>Isospora</i> spp. + <i>A. alata</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>O. cynotis</i> + <i>Isospora</i> spp. + <i>A. alata</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>Sarcocystis</i> spp. + <i>O. cynotis</i> + <i>C. aerophila</i> <i>T. canis</i> + <i>U. stenocephala</i> + <i>O. cynotis</i> + <i>C. aerophila</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>C. plica</i> + <i>C. aerophila</i> + <i>A. alata</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>O. cynotis</i> + <i>M. lineatus</i> + <i>C. aerophila</i>			
5 parasitas	7	21,21%	9,63 – 39,39
<i>U. stenocephala</i> + <i>Taenia</i> spp. + <i>Sarcocystis</i> spp. + <i>C. aerophila</i> + <i>A. alata</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>Sarcocystis</i> spp. + <i>O. cynotis</i> + <i>Eimeria</i> spp. + <i>A. alata</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>Sarcocystis</i> spp. + <i>O. cynotis</i> + <i>C. aerophila</i> + <i>A. alata</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>O. cynotis</i> + <i>M. lineatus</i> + <i>C. aerophila</i> + <i>A. alata</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>Sarcocystis</i> spp. + <i>O. cynotis</i> + <i>C. vulpis</i> + <i>A. alata</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>Sarcocystis</i> spp. + <i>O. cynotis</i> + <i>Isospora</i> spp. + <i>A. alata</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>Toxocara</i> spp. + <i>Sarcocystis</i> spp. + <i>O. cynotis</i> + <i>J. echinorhynchoides</i>			
6 parasitas	2	6,06%	1,05 – 21,62
<i>U. stenocephala</i> + <i>Sarcocystis</i> spp. + <i>M. lineatus</i> + <i>C. plica</i> + <i>C. aerophila</i> + <i>A. alata</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>Toxocara</i> spp. + <i>R. affinis</i> + <i>O. cynotis</i> + <i>Eimeria</i> spp. + <i>C. aerophila</i>			
7 parasitas	2	6,06%	1,05 – 21,62
<i>U. stenocephala</i> + <i>Sarcocystis</i> spp. + <i>O. cynotis</i> + <i>Eimeria</i> spp. + <i>C. aerophila</i> + <i>A. vasorum</i> + <i>A. alata</i> <i>U. stenocephala</i> + <i>Taenia</i> spp. + <i>Sarcocystis</i> spp. + <i>O. cynotis</i> + <i>M. lineatus</i> + <i>Eimeria</i> spp. + <i>A. alata</i>			
8 parasitas	1	3,03%	0,15 – 17,51
<i>U. stenocephala</i> + <i>Taenia</i> spp. + <i>Sarcocystis</i> spp. + <i>O. cynotis</i> + <i>M. lineatus</i> + <i>Eimeria</i> spp. + <i>C. aerophila</i> + <i>A. alata</i>			

Comparando as infecções mistas entre machos e fêmeas, é possível verificar que ambos apresentam maior prevalência de coinfeções envolvendo 4 parasitas distintos (Macho = 34,78% e Fêmea = 30%). Os machos não apresentam coinfeções com 8 parasitas, contudo as restantes coinfeções já citadas na tabela 4.4, estão presentes. Nas fêmeas, não há registo de infecções mistas envolvendo 6 e 7 parasitas distintos. A análise estatística destes dados não demonstra uma diferença significativa no que respeita a comparação de infecções mistas entre os sexos (Tabela 4.5).

Tabela 4.5: Prevalência de infecções mistas comparando os dois sexos

Coinfecção com:	Nº de raposas coinfectadas (prevalência %)					
	Correlação entre sexos					
	Total (n=33)					
	Macho (n=23)		Fêmea (n=10)		X ²	Valor P
Nº	%	Nº	%			
2 parasitas	3	13,04	2	20	0,26	0,60
3 parasitas	3	13,04	2	20	0,26	0,60
4 parasitas	8	34,78	3	30	0,07	0,78
5 parasitas	5	21,73	2	20	0,01	0,91
6 parasitas	2	8,69	0	0	0,92	0,33
7 parasitas	2	8,69	0	0	0,92	0,33
8 parasitas	0	0	1	10	2,37	0,12

*p < 0,05

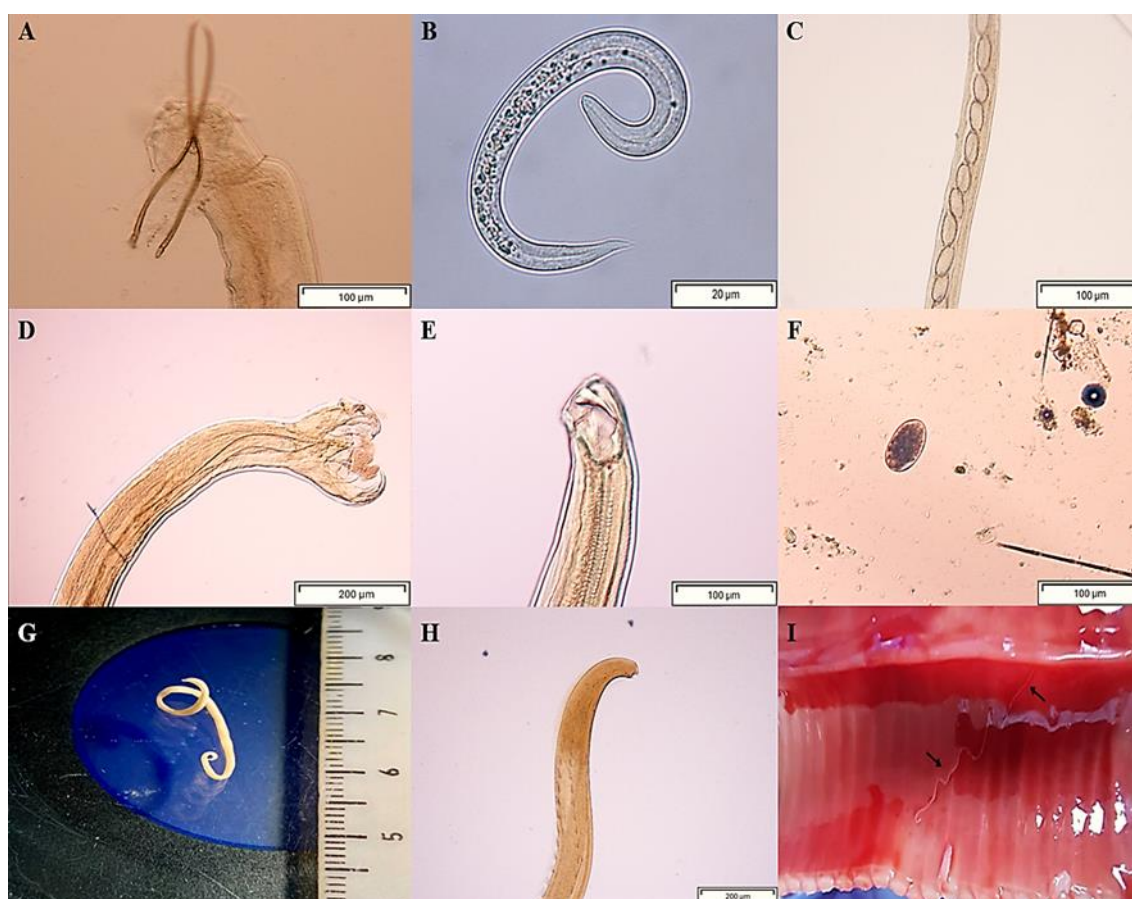


Figura 4.1: Nematodes. **A)** Extremidade posterior de macho de *A. vasorum*, parasita colhido nos sedimentos do coração; **B)** Larva L1 de *C. vulpis*, parasita colhido nos sedimentos do pulmão; **C)** Ovos no interior de *C. plica*, parasita colhido nos sedimentos da bexiga ; **D)** Extremidade posterior de *U. stenocephala*, parasita colhido nos sedimentos do intestino delgado; **E)** Extremidade anterior de *U. stenocephala*, parasita colhido nos sedimentos de intestino delgado; **F)** Ovo de *U. stenocephala* visualizado em amostras fecais; **G)** *T. canis*, parasita colhido no intestino delgado; **H)** Extremidade anterior de *R. affinis* com projeções cuticulares, parasita colhido no intestino delgado; **I)** *C. aerophila* na traqueia. **Fonte:** Original



Figura 4.2: Protozoários. **A)** Oocisto de *Sarcocystis* spp. visualizado em amostras de raspados intestinais; **B)** Oocisto de *Isospora* spp. visualizado em amostras fecais; **C)** Oocisto de *Eimeria* spp. visualizado em amostras fecais. **Fonte:** Original

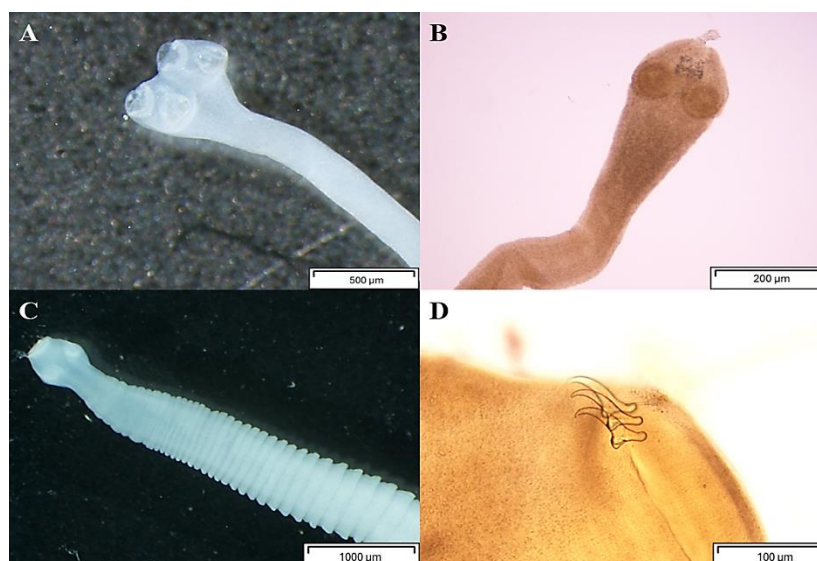


Figura 4.3: Cestodes. **A)** Extremidade anterior de *M. lineatus*, parasita colhido do intestino delgado; **B)** Extremidade anterior de *J. echinorhynchoides*, parasita colhido do intestino delgado; **C)** Extremidade anterior de *Taenia* spp., parasita colhido do intestino delgado; **D)** Ganchos de *Taenia* spp. parasita colhido do intestino delgado. **Fonte:** Original

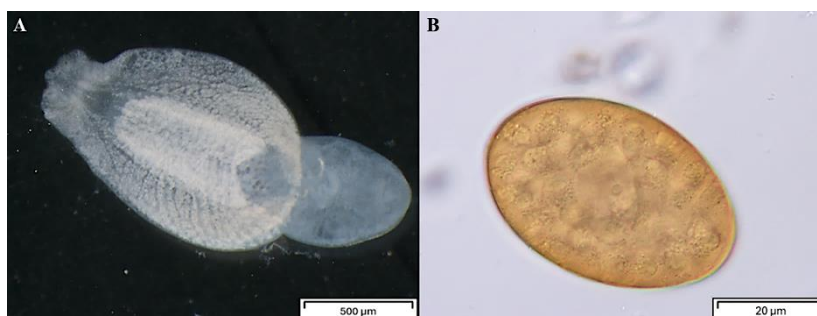


Figura 4.4: Trematodes. **A)** *A. alata*, parasita adulto colhido no intestino delgado; **B)** Ovo de *A. alata* visualizado em amostras fecais. **Fonte:** Original

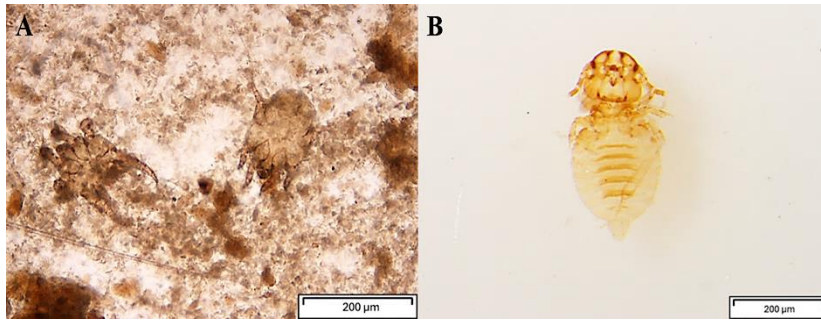


Figura 4.5: Ectoparasitas. **A)** *O. cynotis*, parasita visualizado em amostras de cerúmen; **B)** *F. vulpis*, parasita colhido da pelagem. **Fonte:** Original

5. DISCUSSÃO

O estilo de vida das raposas e a sua proximidade com os meios urbanos e peri-urbanos, faz com que tenham uma importante função no vínculo entre animais selvagens, animais domésticos e humanos, ocasionando uma possível disseminação de doenças. Por toda a Europa têm sido registados uma diversidade de endoparasitas (nematodes, cestodes, trematodes e protozoários) e ectoparasitas (pulgas, carraças, ácaros e piolhos), que infetam estes animais (Ilić et al., 2016; Lledó et al., 2015; Vergles Rataj et al., 2013; Waindok et al., 2021). No geral, alguns dos endoparasitas mais frequentes em raposas são *U. stenocephala*, *T. canis*, *R. affinis*, *A. alata*, *Taenia* spp., *T. polyacantha*, *Mesocestoides* spp., *E. multilocularis* e *D. caninum* (Erol et al., 2021).

O nematode mais prevalente nas raposas deste estudo foi *U. stenocephala* (32/33 - 96.96%), sendo não só o nematode, bem como o parasita com maior prevalência neste estudo, corroborando com a informação anterior. Em pesquisas pela Europa em raposas, não diferentemente, este nematode tem-se mostrado um dos mais prevalentes, sendo alguns exemplos, estudos na Eslovénia (58,9%) (Vergles Rataj et al., 2013), Dinamarca (84,1%) (Al-Sabi et al., 2013) e Lituânia (76,9%) (Bružinskaite-Schmidhalter et al., 2012). Um rastreio parasitário no Norte de Portugal, também teve este parasita como o nematode de maior prevalência (64,2%) (Silva, 2010). Este parasita, apesar de ser zoonótico, a sua manifestação em humanos é rara e não considerada grave. Todavia, não deverá ser descartado como um problema de saúde pública que deverá receber a devida atenção, pois é de se relembrar, o facto deste parasita poder causar doença grave em canídeos, incluindo os domésticos (Bowman et al., 2003). Devendo-se ainda considerar a sua alta prevalência nas raposas deste estudo, que foram caçadas em herdades com fluxo de pessoas e seus animais de estimação. A presença da raposa nestes espaços, poderá levar à contaminação do ambiente e conseqüentemente, à contaminação dos animais e pessoas que compartilham estes mesmos espaços.

Um outro nematode que frequentemente parasita raposas é o nematode *T. canis*. Estudos em países europeus como a Alemanha, Eslovénia, Sérvia e Dinamarca, apresentaram prevalências variáveis de 38,3% a 60,9%, deste parasita em raposas (Al-Sabi et al., 2013; Ilić et al., 2016; Vergles Rataj et al., 2013; Waindok et al., 2021). O contrário é verificado neste estudo onde a prevalência deste parasita é muito baixa (3,03%). Outro estudo, no centro de Portugal, também mostrou uma prevalência baixa deste parasita (21,43%), porém maior do que a apontada neste (Figueiredo et al., 2016). Diferenças na prevalência

de parasitismo consoante a região, num mesmo país, também foram verificadas em outras pesquisas, além disso, grande parte dos estudos apontou uma prevalência de moderada a alta para esta parasitose. Os fatores que impulsionam estas variações não são bem conhecidos, porém fatores que poderão estar relacionados são as condições climáticas e ambientais, devendo-se ainda levar em consideração as metodologias aplicadas em cada estudo (Holland, 2023). Apesar da baixa prevalência do parasita neste estudo, é evidenciada a presença deste em raposas que vivem próximas a regiões habitadas, mostrando que este animal é uma potencial fonte de disseminação deste parasita para os animais e pessoas destas regiões.

O nematode *C. aerophila* demonstrou ser muito importante nas raposas do Alentejo, sendo o segundo nematode apresentando a maior prevalência (51,51%) e o quarto parasita mais prevalente em todo o estudo, demonstrado ainda uma diferença estatisticamente significativa entre as infeções por este parasita em raposas fêmeas e machos, onde esta infeção é predominante em machos. Uma maior prevalência ainda desta parasitose, foi verificada em raposas na Lituânia (97,1%) (Bružinskaite-Schmidhalter et al., 2012), em consonância com os dados obtidos nesta investigação. Já em Portugal, um levantamento parasitário em raposas, revelou uma baixa prevalência deste nematode (3,7%), destacando assim variações de prevalências de região para região (Silva, 2010). Neste caso, a variação pode estar relacionada maioritariamente aos métodos utilizados em cada estudo, no entanto, o fator ambiental não deverá ser descartado. As altas prevalências de *C. aerophila*, que vêm sendo relatadas em raposas pela Europa, e a proximidade deste predador a locais de habitação humana, mostra o risco que este acarreta para a saúde pública, podendo a raposa ser uma fonte competente de disseminação desta infeção. Os sinais clínicos nos seus hospedeiros humanos e animais, são geralmente ligeiros ou inexistentes, sendo o diagnóstico no homem raro e muitas vezes feito de forma acidental. Todavia, existem casos onde altas cargas parasitárias, nos seus hospedeiros animais, podem ser fatais, tendo assim a necessidade da existência de estratégias bem definidas para vigilância deste parasita, bem como da raposa como seu reservatório (Elhamiani Khatat et al., 2016; Samorek-Pieróg et al., 2023).

C. plica, por sua vez, foi um dos nematodes com menor prevalência neste estudo (6,06%), o que mostra um contraste com o estudo feito na Lituânia onde a prevalência deste parasita é bem maior (93,3%) (Bružinskaite-Schmidhalter et al., 2012). Contudo, um estudo em Dunas de Mira, em Portugal, a prevalência deste parasita mostrou-se ainda

menor (1,61%) do que a aqui observada (Eira et al., 2006). Indicada uma possível baixa prevalência deste parasita em determinadas regiões do país. Mais uma vez os fatores que podem estar por trás das variações de prevalência podem ser as condições ambientais, disponibilidade do hospedeiro intermediário e a metodologia utilizada em cada estudo. As infecções por *C. plica*, normalmente não são muito patogênicas, e são raras para cães e gatos, contudo não deixam de ser importantes para a saúde animal (Petersen et al., 2018; Studzińska et al., 2015). A observação deste parasita nas raposas necropsiadas neste estudo, prova a necessidade de uma vigilância maior sobre este parasita e delimitação de protocolos específicos para seu diagnóstico e tratamento, em regiões onde raposas encontram-se de alguma forma, próximas aos animais domésticos, visto que muitas das vezes estas infecções são encontradas aleatoriamente nestes animais, no decorrer de outros exames clínicos (Aleksić et al., 2020).

Dois outros nematodes apresentaram baixa prevalência neste estudo, e estes são, *A. vasorum* (3,03%) e *C. vulpis* (6,06%). Comparando com outros estudos em Portugal e Espanha, a baixa prevalência de *A. vasorum* mostrou-se comum (Portugal – 7,14% e Espanha – 3,4%). O mesmo já não se verifica relativamente ao nematode *C. vulpis*, onde este apresenta uma prevalência muito mais acentuada, nestes mesmos estudos em Portugal (39,29%) e Espanha (44,8%) (Figueiredo et al., 2016; Garrido-Castañé et al., 2015). Ambos são parasitas cardiopulmonares importantes para saúde animal, nomeadamente de canídeos, que podem ser transportados pelas raposas, existindo a possibilidade de infeção em canídeos domésticos que se encontrem próximos a estes, quando estão presentes os hospedeiros intermediários para dar continuidade ao ciclo de vida (Conboy & Sykes, 2021; Morgan et al., 2021).

R. affinis, nematode considerado um dos mais frequentes na raposa, neste estudo apresentou-se como sendo um dos parasitas menos prevalentes, estando presente em somente 2 raposas (2/33 – 6,06%). Na Turquia, uma investigação em torno dos parasitas da raposa, mostrou uma prevalência muito maior (51,45%) (Erol et al., 2021), contudo pesquisas do mesmo parasita na Eslovénia e Portugal, tiveram assim como no presente estudo baixa prevalência, de 4,2% (Vergles Rataj et al., 2013) e 3,23% (Eira et al., 2006), respetivamente. Demonstrando assim, que embora seja considerado um parasita de alta prevalência nestes animais, a sua prevalência pode estar dependente de alguns fatores como, condições ambientais apresentadas por cada lugar, incluindo a disponibilidade do hospedeiro intermediário. No geral, existem informações escassas sobre este parasita.

Poucas informações também estão disponíveis sobre a infecção causada por este em animais domésticos (Scioscia et al., 2016), levando a necessidade de mais estudos para aprofundamento nesta questão e melhor compreensão do seu impacto na saúde destes animais e do papel da raposa como sentinela deste agente.

O único trematode evidenciado neste estudo foi *A. alata*, um parasita prevalente em raposas na Europa, o que não foi diferente neste estudo, tendo o parasita demonstrado uma prevalência de 54,54%, sendo o terceiro parasita com maior prevalência em todo o estudo. Prevalências altas, bem como médias deste trematode foram relatados em alguns estudos na Lituânia (94,8%), Sérvia (49,41%) e Dinamarca (34,4%) (Bružinskaite-Schmidhalter et al., 2012; Ilić et al., 2016; Saeed et al., 2006). Em Portugal, num levantamento parasitário em raposas, este parasita também foi evidenciado, sendo o trematode mais prevalente do estudo, com prevalência de 27,42% (Eira et al., 2006). Este trematode apesar de não causar doença grave nos seus hospedeiros definitivos, nos últimos anos vem sendo apontado como uma ameaça relativamente à *One Health*, visto que mesocercárias tem sido encontradas com maior frequência em carnes de caça, consumidas pelo homem e existem relatos de casos com outras espécies de *Alaria*, com comportamento semelhante a esta, que tiveram desfechos fatais (Korpysa-Dzirba et al., 2021). A prevalência de *A. alata* neste trabalho, é mais um alerta para a necessidade de existirem regulamentos e um maior controlo sob este trematode em carnes de caça e outras carnes de consumo humano, passíveis de infecção pelo mesmo.

Os três cestodes encontrados neste trabalho foram, *Taenia* spp., *J. echinorhynchoides* e *M. lineatus*, com prevalências iguais a 9,09%, 12,12% e 21,21%, respetivamente. Várias espécies de *Taenia* já foram apontadas, em estudos na Europa, como parasitas da raposa tendo diversos níveis de prevalência e como no presente estudo por vezes não é possível chegar as espécies (Bružinskaite-Schmidhalter et al., 2012; Citterio et al., 2021; Ilić et al., 2016; Saeed et al., 2006; Vergles Rataj et al., 2013; Waindok et al., 2021). No norte de Portugal, uma prevalência de 0% de parasitas desta família foi relatada (Silva, 2010), enquanto, em Dunas de Mira foi apontada uma prevalência de 4,84% (Eira et al., 2006), corroborando com os achados deste estudo e sugerindo uma tendência a baixas prevalências deste cestode em algumas regiões do país.

Na Turquia, um estudo em torno do parasitismo da raposa, o cestode *J. echinorhynchoides* mostrou prevalência maior (33,00%) em comparação aos resultados obtidos neste estudo (Erol et al., 2021). O mesmo foi verificado num estudo feito na Espanha, onde raposas

apresentaram prevalência igual a 27,62% para este parasita (Sanchis-Monsonís et al., 2020). Relatos deste parasita em Portugal são escassos, tendo um estudo demonstrado uma prevalência de 9,8%. O estudo foi feito em raposas recolhidas por todo o país, indicando assim uma baixa prevalência deste parasita em Portugal, entre 1970 e 1987 (Varela & Marcos, 1993). Comparando com os dados aqui obtidos, pode-se supor que esta parasitose permanece baixa entre as raposas no país ou, ao menos no Alentejo.

Relativamente a cestodes do género *Mesocestoides*, variações da prevalência entre 0,38% a 69,50%, vêm sendo demonstrados em pesquisas em países como Dinamarca, Itália, Espanha, Eslovénia, Turquia, Alemanha e Lituânia (Bružinskaite-Schmidhalter et al., 2012; Citterio et al., 2021; Erol et al., 2021; Lledó et al., 2015; Saeed et al., 2006; Vergles Rataj et al., 2013; Waindok et al., 2021). E assim como neste estudo, outro estudo em Portugal indicou este género de parasita como o género de cestode mais prevalente em raposas (30,65%) (Eira et al., 2006).

Dos 3 cestodes aqui evidenciados, o menos nefasto é o cestode *J. echinorhynchoides*, porém não deixa de ser um risco à saúde animal (Bowman et al., 2003), onde os resultados positivos destas raposas para este parasita, podem significar um maior risco de contaminação para os animais que vivem livres pelas herdades no Alentejo. Cestodes do género *Mesocestoides*, na grande maioria das vezes não causam doença grave nem ao homem e nem aos seus demais hospedeiros, porém existem casos onde os sinais clínicos podem agravar e até mesmo ser letais em cães e gatos (Bowman et al., 2003). Informações mais definidas sobre manifestações clínicas e outros parâmetros neste género, constituem lacunas que devem ser preenchidas (Jesudoss Chelladurai & Brewer, 2021), para um melhor entendimento das consequências que podem causar a nível de saúde pública. Parasitas do género *Taenia*, por sua vez, na sua maioria, são parasitas de ameaça à *One Health*, mas existem algumas espécies mais preocupantes do que outras. Deste modo, futuros estudos na raposa, devem se aprofundar na classificação das espécies deste cestode nesta região e demais regiões de Portugal, para melhor perceber quais os verdadeiros riscos que este animal acarreta para a saúde pública.

Protozoários intestinais como *Eimeria* spp., *Isospora* spp. e *Sarcocystis* spp. também infetam estes animais, tendo ainda poucos estudos direcionados especificamente para estes tipos de infeções (Ilić et al., 2016; Perrucci et al., 2023; Vergles Rataj et al., 2013; Waindok et al., 2021). Investigações na Alemanha mostram prevalências baixas (13,8%) de coccídeas em raposas (Waindok et al., 2021). Do mesmo modo, estudos na Eslovénia

e Portugal mostraram baixas prevalências de *Isospora* spp., iguais a 0,5% (Vergles Rataj et al., 2013) e 1,2% (Silva, 2010), respetivamente. Não diferentemente do género *Isospora* spp., no mesmo estudo em Portugal, o género *Eimeria* spp. também teve uma baixa prevalência (11,1%), mas ainda assim, maior do que a do primeiro protozoário (Silva, 2010). Os dados citados corroboram com os achados do presente estudo, existindo uma baixa prevalência tanto para *Eimeria* spp. (18,18%) como para *Isospora* spp. (12,12%), indicando uma real propensão a baixas prevalências destes protozoários nas raposas em Portugal, porém estudos mais focados neste tipo de parasitismo em diferentes áreas deverão ser feitos, para confirmar este efeito. Estudos direcionados as espécies infantantes deste animal em Portugal, também são necessários para perceber quais os riscos que estes parasitas e o seu reservatório acarretam para a saúde pública. A infeção por coccídeas, acaba por ser mais importante em animais do que no homem, mas a maior probabilidade de infeção em pessoas imunocomprometidas, é alarmante. A disseminação rápida desta infeção entre animais que coabitam, a contaminação rápida do ambiente e a dificuldade para eliminar as infeções, faz com que esta cause grandes perdas económicas (Bowman et al., 2003; Dubey & Almeria, 2019).

Relativamente ao género *Sarcocystis* spp., publicações mostram variações no nível de prevalência. No mesmo estudo anterior, na Eslovénia, a prevalência deste protozoário foi de 2,8% (Vergles Rataj et al., 2013), enquanto na República Checa a prevalência foi igual a 38,1% (Máca et al., 2024), estando a prevalência observada neste estudo (36,36%), neste intervalo de valores. Em Portugal, um trabalho sobre o parasitismo de raposas no Norte, identificou uma prevalência ainda mais baixa deste parasita (1,2%) (Silva, 2010), indicando mais uma vez uma variação parasitária de região para região. Pelo facto da infeção por *Sarcocystis* spp. ser rara em humanos, a grande preocupação, recai sobre os hospedeiros intermediárias (gado doméstico) que fazem parte do seu ciclo de vida, que são grandemente afetados, causando assim como as coccídeas, grandes perdas económicas (Bowman et al., 2003; Rathish & K, 2022). Contudo, pela existência de diversas espécies deste protozoário, partilhadas entre raposas e o homem, e entre este animal e outros próximos ao homem, é necessário que sejam feitos mais estudos para determinação do real papel deste animal, na disseminação deste parasita. Bem como, para a implementação de protocolos bem definidos de tratamento e vigilância.

Poucos são os estudos referentes ao ácaro do ouvido, *O. cynotis*, em raposas. Estudos na Europa tem demonstrado uma prevalência de infestação de baixa a média (2 – 17%). No

entanto, este foi o segundo parasita com maior prevalência apontado neste trabalho (75,75%), contrariando esta expectativa, como também dados de estudos feitos na Hungria e Itália, onde as prevalências deste parasita foram baixas (2% e 8%, respectivamente) (Perrucci et al., 2016; Sréter et al., 2003). A existência de poucos estudos em torno do parasitismo por *O. cynotis*, pode ser apontado como uma explicação para esta discrepância, contudo outros fatores ambientais também podem estar relacionados. Apesar de existirem relatos deste ácaro parasitando humanos, estas infestações são raras e têm se mostrado pouco preocupantes, porém estes fatores não o excluem como uma preocupação para a saúde humana. Este parasita, no entanto, é mais importante para a saúde veterinária, onde pode causar sinais clínicos severos em diversos carnívoros, incluindo cães e gatos, sendo os resultados deste estudo um alerta para essa parasitose que poderá ser disseminada por raposas nesta região (Cakabay et al., 2016; Otranto et al., 2004; Sréter et al., 2003).

As pulgas são ectoparasitas importantes das raposas, sendo algumas das mais frequentemente encontradas nestes animais, *Ch. globiceps* (pulga específica da raposa), *P. melis*, *C. canis*, *P. irritans* e *A. erinacei* (Víchová et al., 2018). Neste estudo, foram observadas duas espécies de pulgas, *C. felis* (2/8 - 25%) e *P. irritans* (5/8 – 62,5%). Outros estudos de levantamento de ectoparasitas que infestam raposas, mostram prevalências muito baixas de *C. felis*, na Polónia obteve-se uma prevalência de 0,3%, enquanto na Espanha verificou-se uma prevalência de 0,75% (Dwuźnik et al., 2020; Lledó et al., 2015). Já em relação à pulga *P. irritans*, existe uma variação da sua prevalência, comparando estudos feitos na Espanha (29%), Hungria (43%) e Polónia (1,1%), onde este foi a pulga mais prevalente nos dois primeiros estudos (Dwuźnik et al., 2020; Lledó et al., 2015; Sréter et al., 2003), como também foi observado neste estudo. No entanto, a amostra pequena analisada neste estudo impede uma comparação coerente. Estas variações podem estar relacionadas a ambientes ecológicos diferentes, onde pequenas variações de temperatura podem causar grandes efeitos no ciclo biológico de determinados parasitas. As duas espécies aqui encontradas, além de poderem afetar animais domésticos, também podem parasitar o homem e transmitir uma série de agentes patogénicos causadores de doença, como *Rickettsia* spp., *Bartonella* spp. e *Yersinia pestis* (Azarm et al., 2022; Moore et al., 2023; Zurita et al., 2019).

O ixodídeo que mais infesta raposas na Europa é a espécie *I. ricinus*, no entanto, outros como, *I. hexagonus*, *I. canisuga* (carraça com especificidade para raposa), *D. reticulatus*

e *H. concinna*, são frequentemente relatados (Víchová et al., 2018). Neste trabalho foram evidenciados dois géneros de ixodídeos, o género *Ixodes* (37,5%) e o *Rhipicephalus* (62,5%), dois dos géneros mais relevantes para a saúde pública, contudo não foi possível a identificação das espécies e a amostra observada foi muito pequena para qualquer análise mais aprofundada. Dependendo da espécie, estes vetores podem transportar diversos agentes patogénicos (vírus, bactérias e parasitas), nefastos para animais domésticos e humanos, constituindo assim, um problema de saúde pública (Berenger & Parola, 2017). As espécies mais importantes destes dois géneros em Portugal são, *Rhipicephalus sanguineus*, associado a transmissão de *Rickettsia conorii*, bactéria responsável pela febre escaro-nodular e *Ixodes ricinus*, que vetoriza a bactéria *Borrelia burgdorferi*, que é responsável por causar borreliose de Lyme (Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas Doutor Francisco Cambournac, 2024). São necessários mais estudos em torno das espécies de ixodídeos que parasitam as raposas em Portugal, para melhor compreender os riscos para a saúde pública.

Estudos em torno do parasitismo por piolhos em raposas são limitados, existindo poucos dados de prevalência disponíveis. O piolho *Felicola (Suricatoecus) vulpis*, artrópode da família Trichodectidae, é o piolho com especificidade para raposas e o mais observado neste animal na Europa (Eren et al., 2021; Sréter et al., 2003). No presente trabalho, este foi isolado em uma única raposa (1/8 – 12,5%), sendo identificado com base na descrição do parasita feita por Eren et al. (2021). Este é o primeiro relato do mesmo em raposas em Portugal, até onde se sabe. A infestação por este parasita pode ser considerada rara, tendo em conta alguns estudos pela Europa como estudos feitos na Polónia (0,3%) (Dwuźnik et al., 2020) e na Hungria (0%) (Sréter et al., 2003), não sendo possível a comparação destes com os dados obtidos neste estudo, devido a pequena amostra de raposas analisadas. A baixa prevalência deste parasita, ausência de informações sobre ele vetorizar algum agente patogénico e a sua alta especificidade para o hospedeiro, levam a pressupor que o mesmo não constitui uma preocupação muito grande para a saúde pública.

A bactéria intracelular obrigatória, parte da família Rickettsiaceae, *Coxiella burnetii*, responsável por causar a zoonose conhecida por febre Q em humanos e coxielose em animais, foi identificada em duas raposas neste estudo (2/33 – 6,06%), através de estudos moleculares. Na Europa, infeções por esta bactéria em raposas têm se mostrado raras, corroborando com os resultados aqui obtidos (Ebani et al., 2017). Embora exista uma baixa prevalência deste parasita, podemos ver que o mesmo circula pelas regiões

alentejanas nestes animais. Apesar de já ter sido encontrada em outros animais selvagens em Portugal, esta é a primeira vez, até onde se sabe, que é relatada em raposas no país (Pires et al., 2023). Animais que podem ser infetados como, pequenos roedores, ruminantes, cavalos e cães, em situações de contacto próximo com outros animais infetados, podem criar uma cadeia de transmissão entre eles e humanos. As infeções com essa bactéria normalmente são adquiridas através da inalação de aerossóis contaminados, porém podem também ocorrer através da picada de vetores artrópodes contaminados (*Amblyomma*, *Dermacentor*, *Hyalomma*, *Rhipicephalus* e *Ixodes*) que constituem mais uma fonte de disseminação deste agente, sendo esta bactéria indiscutivelmente uma preocupação para a saúde pública (Ebani et al., 2017; Pires et al., 2023).

Todos os cadáveres analisados neste estudo, apresentaram infeções simultâneas com mais de um tipo de parasita, tendo 8 parasitas diferentes, como nível máximo de infeções simultâneas. Outros níveis de coinfeção foram com 2, 3, 4, 5, 6 e 7 parasitas diferentes. Isto, sugere que para além da raposa ser reservatório para diferentes espécies, ela poderá também, contribuir para disseminação de uma diversidade de agentes patogénicos simultaneamente. Outros estudos na Europa, nomeadamente na Alemanha e Sérvia, tal como este, demonstraram a existência de variados níveis de coinfeção neste animal, tendo como nível máximo de coinfeção 6 e 5 diferentes endoparasitas, respetivamente (Ilić et al., 2016; Waindok et al., 2021).

6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste levantamento parasitário, em raposas no Alentejo, mostram que estas albergam uma fauna parasitaria que compreende uma diversidade de endo e ectoparasitas de interesse para a abordagem *One Health*. Os dados aqui apresentados vão de encontro com os resultados alcançados em estudos anteriores feitos na Europa, inclusivamente em Portugal. Contudo, o ectoparasita *Felicola (Suricatoecus) vulpis*, foi aqui relatado pela primeira vez em raposas em Portugal, até onde se tem conhecimento. O mesmo foi verificado com a bactéria *Coxiella burnetii*, cuja infeção está relacionada ao parasitismo das raposas. Variações de prevalências entre países e entre regiões de um mesmo país, são observáveis na comparação de dados, pois alguns fatores como, fatores ambientais, disponibilidade de hospedeiros intermediários, metodologia utilizada e amostragem, podem interferir nestes valores. A quantidade de estudos disponíveis sobre cada parasita e as suas prevalências, também podem interferir na comparação de dados.

Apesar de algumas limitações no estudo – como a não identificação das espécie de *Taenia*, *Isospora*, *Sarcocystis* e *Eimeria* encontradas; a reduzida amostragem de raposas na análise de ectoparasitas; a não identificação das espécies destes ectoparasitas; e o facto das necrópsias serem feitas sempre no dia seguinte à caça, o que impediu uma análise conclusiva de hemoparasitas, devido à contaminação – os resultados fornecem informações importantes sobre o potencial risco de disseminação de agentes patogénicos de raposas para humanos e animais domésticos em regiões peri-urbanas. Indicando, a necessidade de mais estudos, a fim de melhor entender a importância deste animal para a saúde pública animal e humana, e seja então possível implementar estratégias de vigilância que possam mitigar possíveis impactos.

REFÊRENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdullah, S., Helps, C., Tasker, S., Newbury, H., & Wall, R. (2019). Pathogens in fleas collected from cats and dogs: Distribution and prevalence in the UK. *Parasites and Vectors*, *12*(1), 71. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3326-x>
- Adolph, C. B., & Peregrine, A. S. (2021). Tapeworms. In *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat* (5th ed., pp. 1455–1484). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-50934-3.00115-4>
- Aguirre, A. A., Longcore, T., Barbieri, M., Dabritz, H., Hill, D., Klein, P. N., Lepczyk, C., Lilly, E. L., McLeod, R., Milcarsky, J., Murphy, C. E., Su, C., VanWormer, E., Yolken, R., & Sizemore, G. C. (2019). The One Health Approach to Toxoplasmosis: Epidemiology, Control, and Prevention Strategies. *EcoHealth*, *16*(2), 378–390. <https://doi.org/10.1007/s10393-019-01405-7>
- Ahn, K. S., Huh, S. E., Seol, S. W., Kim, H. J., Suh, K. H., & Shin, S. (2018). *Ctenocephalides canis* is the dominant flea species of dogs in the Republic of Korea. *Parasites and Vectors*, *11*(1), 196. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2769-9>
- Aleksić, J., Stepanović, P., Dimitrijević, S., Gajić, B., Bogunović, D., Davidov, I., Aleksić-Agelidis, A., & Ilić, T. (2020). *Capillaria plica* in Red Foxes (*Vulpes vulpes*) from Serbia: Epidemiology and Diagnostic Approaches to Urinary Capillariosis in Domestic Carnivores. *Acta Parasitologica*, *65*(4), 954–962. <https://doi.org/10.1007/s11686-020-00244-9>
- Alho, A. M., Seixas, R., Rafael, T., & De Carvalho, L. M. (2010). Formas larvares dos helmintas: o elo mais forte na desparasitação do cão e do gato. *Veterinary Medicine*, *33*–46.
- Al-Sabi, M. N. S., Chriél, M., Jensen, T. H., & Enemark, H. L. (2013). Endoparasites of the raccoon dog (*Nyctereutes procyonoides*) and the red fox (*Vulpes vulpes*) in Denmark 2009-2012 - A comparative study. *International Journal for Parasitology. Parasites and Wildlife*, *2*, 144–151. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2013.04.001>
- Anderson, J. F., & Magnarelli, L. A. (2008). Biology of ticks. *Infectious Disease Clinics of North America*, *22*(2), 195–215. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2007.12.006>
- Araújo, H. G. de, Silva, J. T. da, Sarmiento, W. F., Silva, S. D. S., Bezerra, R. A., Azevedo, S. S., & Vilela, V. L. R. (2020). Diversity of enteric coccidia in pigs from the Paraíba Semiarid Region of Northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária = Brazilian Journal of Veterinary Parasitology: Órgão Oficial Do Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária*, *29*(4), e009120. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612020079>
- Arlan, L. G., & Morgan, M. S. (2017). A review of *Sarcoptes scabiei*: Past, present and future. *Parasites and Vectors*, *10*(1), 297. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2234-1>
- Atkinson, B., Chamberlain, J., Logue, C. H., Cook, N., Bruce, C., Dowall, S. D., & Hewson, R. (2012). Development of a real-time RT-PCR assay for the detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)*, *12*(9), 786–793. <https://doi.org/10.1089/vbz.2011.0770>
- Azarm, A., Dalimi, A., Pirestani, M., Mohammadiha, A., Zahraei-Ramazani, A., Marvi-Moghaddam, N., & Amiri, E. (2022). *Pulex irritans* on Dogs and Cats: Morphological

- and Molecular Approach. *Journal of Arthropod-Borne Diseases*, 16(3), 196–205. <https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>
- Bandi, K. M., & Saikumar, C. (2013). Sarcoptic mange: A zoonotic ectoparasitic skin disease. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 7(1), 156–157. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2012/4839.2694>
- Baneth, G., Florin-Christensen, M., Cardoso, L., & Schnittger, L. (2015). Reclassification of *Theileria annae* as *Babesia vulpes* sp. nov. *Parasites and Vectors*, 8(1), 207. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0830-5>
- Berenger, J.-M., & Parola, P. (2017). *Infectious Diseases (Arthropod Vectors of Medical Importance)* (4th ed., Vol. 1). Elsevier.
- Beugnet, F., & Moreau, Y. (2015). Babesiosis. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz*, 34(2), 627–639.
- Bezerra-Santos, M. A., Mendoza-Roldan, J. A., Lia, R. P., Annoscia, G., Schuster, R., Varcasia, A., Sgroi, G., Modry, D., & Otranto, D. (2022). Description of *Joyeuxiella pasqualei* (Cestoda: Dipylidiidae) from an Italian domestic dog, with a call for further research on its first intermediate host. *Parasitology*, 149(13), 1769–1774. <https://doi.org/10.1017/S0031182022001342>
- Bowman, D. D., Lynn, R. C., & Eberhard, M. L. (2003). *Georgis' Parasitology for Veterinarians* (R. R. Kersey, Ed.; 8th ed.). Saunders.
- Bružinskaite-Schmidhalter, R., Sarkunas, M., Malakauskas, A., Mathis, A., Torgerson, P. R., & Deplazes, P. (2012). Helminths of red foxes (*Vulpes vulpes*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) in Lithuania. *Parasitology*, 139(1), 120–127. <https://doi.org/10.1017/S0031182011001715>
- Buczek, A., Bartosik, K., Zając, Z., & Stanko, M. (2015). Host-feeding behaviour of *Dermacentor reticulatus* and *Dermacentor marginatus* in mono-specific and inter-specific infestations. *Parasites and Vectors*, 8(1), 470. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1078-9>
- Cakabay, T., Gokdogan, O., & Kocyigit, M. (2016). Human otoacariasis: Demographic and clinical outcomes in patients with ear-canal ticks and a review of literature. *Journal of Otolaryngology*, 11(3), 111–117. <https://doi.org/10.1016/j.joto.2016.06.003>
- Campbell, S. J., Ashley, W., Gil-Fernandez, M., Newsome, T. M., Di Giallonardo, F., Ortiz-Baez, A. S., Mahar, J. E., Towerton, A. L., Gillings, M., Holmes, E. C., Carthey, A. J. R., & Geoghegan, J. L. (2020). Red fox viromes in urban and rural landscapes. *Virus Evolution*, 6(2), 1–11. <https://doi.org/10.1093/ve/veaa065>
- Campos, M., Freitas, N. L., & Gomes, D. E. (2019). *Sarna Otodécica -Uma Revisão*. <http://clinipet.com>
- Carithers, D., Crawford, J., De Vos, C., Lotriet, A., & Fourie, J. (2016). Assessment of afoxolaner efficacy against *Otodectes cynotis* infestations of dogs. *Parasites and Vectors*, 9(1), 635. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1924-4>
- Centro de Estudos de Vetores e Doenças Infeciosas Doutor Francisco Cambournac. (2024). *REVIVE 2023 - Culicídeos, Ixodídeos e Flebótomos: Rede de Vigilância de vetores*. www.insa.pt

- Černý, J., Lynn, G., Hrnková, J., Golovchenko, M., Rudenko, N., & Grubhoffer, L. (2020). Management options for *Ixodes ricinus*-associated pathogens: A review of prevention strategies. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *17*(6), 1830. <https://doi.org/10.3390/ijerph17061830>
- Chai, J. Y., & Jung, B. K. (2017). Fishborne zoonotic heterophyid infections: An update. *Food and Waterborne Parasitology*, *8–9*, 33–63. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2017.09.001>
- Chai, J. Y., & Jung, B. K. (2020). Foodborne intestinal flukes: A brief review of epidemiology and geographical distribution. *Acta Tropica*, *201*, 105210. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105210>
- Chandler, D. J., & Fuller, L. C. (2019). A Review of Scabies: An Infestation More than Skin Deep. *Dermatology*, *235*(2), 79–80. <https://doi.org/10.1159/000495290>
- Chisu, V., Giua, L., Bianco, P., Masala, G., Sechi, S., Cocco, R., & Piredda, I. (2023). Molecular Survey of *Hepatozoon canis* Infection in Domestic Dogs from Sardinia, Italy. *Veterinary Sciences*, *10*(11), 640. <https://doi.org/10.3390/vetsci10110640>
- Chiummo, R., Petersen, I., Plehn, C., Zschiesche, E., Roepke, R., & Thomas, E. (2020). Efficacy of orally and topically administered fluralaner (Bravecto®) for treatment of client-owned dogs with sarcoptic mange under field conditions. *Parasites and Vectors*, *13*(1), 524. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04395-6>
- Citterio, C. V., Obber, F., Trevisiol, K., Dellamaria, D., Celva, R., Bregoli, M., Ormelli, S., Sgubin, S., Bonato, P., Da Rold, G., Danesi, P., Ravagnan, S., Vendrami, S., Righetti, D., Agreiter, A., Asson, D., Cadamuro, A., Ianniello, M., & Capelli, G. (2021). *Echinococcus multilocularis* and other cestodes in red foxes (*Vulpes vulpes*) of northeast Italy, 2012–2018. *Parasites and Vectors*, *14*(1), 29. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04520-5>
- Clark, N. J., Seddon, J. M., Šlapeta, J., & Wells, K. (2018). Parasite spread at the domestic animal - wildlife interface: anthropogenic habitat use, phylogeny and body mass drive risk of cat and dog flea (*Ctenocephalides* spp.) infestation in wild mammals. *Parasites & Vectors*, *11*(1), 8. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2564-z>
- Colella, V., Mutafchiev, Y., Cavalera, M. A., Giannelli, A., Lia, R. P., Dantas-Torres, F., & Otranto, D. (2016). Development of *Crenosoma vulpis* in the common garden snail *Cornu aspersum*: implications for epidemiological studies. *Parasites & Vectors*, *9*, 208. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1483-8>
- Conboy, G. A., & Sykes, J. E. (2021). Nematode Infections of the Respiratory Tract. In *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat* (5th ed., pp. 1505–1527). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-50934-3.00117-8>
- Conforti, C., Dri, A., Toffoli, L., Zelin, E., Zalaudek, I., & Di Meo, N. (2021). Entodermoscopy: A Useful Tool for the Diagnosis of Cutaneous Larva Migrans. *Dermatology Practical & Conceptual*, *11*(2), e2021014. <https://doi.org/10.5826/dpc.1102a14>
- Cordsmeier, A., Wagner, N., Lührmann, A., & Berens, C. (2019). Defying Death-How *Coxiella burnetii* Copes with Intentional Host Cell Suicide. *YALE JOURNAL OF BIOLOGY AND MEDICINE*, *92*(4), 619–628.

- Correia, T. R., Luz, H. R., Faccini, J. L. H., Coumendouros, K., Famadas, K. M., Rodrigues, M. L. A., Gôlo, P. S., Menezes, R. C. A. A., Bezerra, S. Q., Bittencourt, V. R. E. P., & Perinotto, W. M. S. (2015). *Apostila Didática: Zoologia Médica e Parasitologia I IV* 401.
- Curtis, C. F. (2004). Current trends in the treatment of *Sarcoptes*, *Cheyletiella* and *Otodectes* mite infestations in dogs and cats. *Veterinary Dermatology*, *15*, 108–114. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2004.00362>
- Dantas-Torres, F. (2008). The brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae): From taxonomy to control. *Veterinary Parasitology*, *152*(3–4), 173–185. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.12.030>
- Dantas-Torres, F. (2010). Biology and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Parasites and Vectors*, *3*(1), 26. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-3-26>
- Dantas-Torres, F., Maia, C., Latrofa, M. S., Annoscia, G., Cardoso, L., & Otranto, D. (2017). Genetic characterization of *Rhipicephalus sanguineus* (sensu lato) ticks from dogs in Portugal. *Parasites and Vectors*, *10*(1), 133. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2072-1>
- Di Cesare, A., & Traversa, D. (2014). Canine angiostrongylosis: recent advances in diagnosis, prevention, and treatment. *Veterinary Medicine (Auckland, N.Z.)*, *5*, 181–192. <https://doi.org/10.2147/VMRR.S53641>
- Diaz, J. H., Warren, R. J., & Oster, M. J. (2020). The Disease Ecology, Epidemiology, Clinical Manifestations, and Management of Trichinellosis Linked to Consumption of Wild Animal Meat. *Wilderness & Environmental Medicine*, *31*(2), 235–244. <https://doi.org/10.1016/j.wem.2019.12.003>
- Dubey, J. P., & Almeria, S. (2019). *Cystoisospora belli* infections in humans: the past 100 years. *Parasitology*, *146*(12), 1490–1527. <https://doi.org/10.1017/S0031182019000957>
- Duhey, J. P., Whitesell, L. E., Culp, W. E., & Daye, S. (2014). Diagnosis and treatment of *Neospora caninum*--associated dermatitis in a red fox (*Vulpes vulpes*) with concurrent *Toxoplasma gondii* infection. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine: Official Publication of the American Association of Zoo Veterinarians*, *45*(2), 454–457. <https://doi.org/10.1638/2013-0277.1>
- Dumitrache, M. O., & Cadiergues, M. C. (2023). The most effective systemic treatment in dogs with sarcoptic mange: a critically appraised topic. *BMC Veterinary Research*, *19*(1), 189. <https://doi.org/10.1186/s12917-023-03759-1>
- Dwuźnik, D., Mierzejewska, E. J., Kowalec, M., Alsarraf, M., Stańczak, Ł., Opalińska, P., Krokowska-Paluszak, M., Górecki, G., & Bajer, A. (2020). Ectoparasites of red foxes (*Vulpes vulpes*) with a particular focus on ticks in subcutaneous tissues. *Parasitology*, *147*(12), 1359–1368. <https://doi.org/10.1017/S003118202000116X>
- Ebani, V. V., Rocchigiani, G., Nardoni, S., Bertelloni, F., Vasta, V., Papini, R. A., Verin, R., Poli, A., & Mancianti, F. (2017). Molecular detection of tick-borne pathogens in wild red foxes (*Vulpes vulpes*) from Central Italy. *Acta Tropica*, *172*, 197–200. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.05.014>
- 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), 26–36. <https://doi.org/10.2461/wbp.2006.2.5>

- Elhamiani Khatat, S., Rosenberg, D., Benchekroun, G., & Polack, B. (2016). Lungworm *Eucoleus aerophilus* (*Capillaria aerophila*) infection in a feline immunodeficiency virus-positive cat in France. *JFMS Open Reports*, 2(1), 2055116916651649. <https://doi.org/10.1177/2055116916651649>
- Eren, G., Gürler, A. T., Gençay Topçu, E. B., Tuygun, T., & Açıcı, M. (2021). First Recorded *Felicola* (*Suricatoecus*) *vulpis* (Phthiraptera: Trichodectidae) Infestation in a Red Fox (*Vulpes vulpes*) in Turkey. *Turkiye Parazitolojii Dergisi*, 45(2), 157–159. <https://doi.org/10.4274/tpd.galenos.2021.7047>
- Erol, U., Sarimehmetoglu, O., & Utuk, A. E. (2021). Intestinal system helminths of red foxes and molecular characterization Taeniid cestodes. *Parasitology Research*, 120(8), 2847–2854. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07227-3>
- Fanelli, A., Doménech, G., Alonso, F., Martínez-Carrasco, F., Tizzani, P., & Martínez-Carrasco, C. (2020). *Otodectes cynotis* in urban and peri-urban semi-arid areas: a widespread parasite in the cat population. *Journal of Parasitic Diseases*, 44(2), 481–485. <https://doi.org/10.1007/s12639-020-01215-7>
- Fayer, R. (2004). *Sarcocystis* spp. in human infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 17(4), 894–902. <https://doi.org/10.1128/CMR.17.4.894-902.2004>
- Ferdushy, T., & Hasan, M. T. (2010). *Angiostrongylus vasorum*: The “French Heartworm.” *Parasitology Research*, 107(4), 765–771. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-2026-4>
- Figueiredo, A., Oliveira, L., Madeira de Carvalho, L., Fonseca, C., & Torres, R. T. (2016). Parasite species of the endangered Iberian wolf (*Canis lupus signatus*) and a sympatric widespread carnivore. *International Journal for Parasitology. Parasites and Wildlife*, 5(2), 164–167. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2016.04.002>
- Földvári, G., Široký, P., Szekeres, S., Majoros, G., & Sprong, H. (2016). *Dermacentor reticulatus*: A vector on the rise. *Parasites and Vectors*, 9(1), 314. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1599-x>
- Franssen, F., Nijse, R., Mulder, J., Cremers, H., Dam, C., Takumi, K., & Van Der Giessen, J. (2014). Increase in number of helminth species from Dutch red foxes over a 35-year period. *Parasites and Vectors*, 7(1), 166. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-166>
- Gajadhar, A. A., Noeckler, K., Boireau, P., Rossi, P., Scandrett, B., & Gamble, H. R. (2019). International Commission on Trichinellosis: Recommendations for quality assurance in digestion testing programs for *Trichinella*. *Food and Waterborne Parasitology*, 16, e00059. <https://doi.org/10.1016/j.fawpar.2019.e00059>
- Gállego, L., González-Moreno, O., & Gracenea, M. (2014). Terrestrial edible land snails as vectors for geographic dissemination of *Brachylaima* species. *The Journal of Parasitology*, 100(5), 674–678. <https://doi.org/10.1645/13-386.1>
- Gálvez, R., Musella, V., Descalzo, M. A., Montoya, A., Checa, R., Marino, V., Martín, O., Cringoli, G., Rinaldi, L., & Miró, G. (2017). Modelling the current distribution and predicted spread of the flea species *Ctenocephalides felis* infesting outdoor dogs in Spain. *Parasites and Vectors*, 10(1), 428. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2357-4>
- Garrido-Castañé, I., Ortuño, A., Marco, I., & Castellà, J. (2015). Cardiopulmonary helminths in foxes from the Pyrenees. *Acta Parasitologica*, 60(4), 712–715. <https://doi.org/10.1515/ap-2015-0101>

- Gelaye, W., Williams, N. A., Kepha, S., Junior, A. M., Fleitas, P. E., Marti-Soler, H., Damtie, D., Menkir, S., Krolewiecki, A. J., Van Lieshout, L., & Enbiale, W. (2021). Performance evaluation of Baermann techniques: The quest for developing a microscopy reference standard for the diagnosis of *Strongyloides stercoralis*. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, *15*(2), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009076>
- Gentle, Matt. (2006). *Red fox: pest status review* (pp. 7–13). Queensland Govt., Natural Resources and Water.
- Gillis-Germitsch, N., Kockmann, T., Asmis, L. M., Tritten, L., & Schnyder, M. (2021). The *Angiostrongylus vasorum* Excretory/Secretory and Surface Proteome Contains Putative Modulators of the Host Coagulation. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *11*, 753320. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.753320>
- Gillis-Germitsch, N., Müller, S., Gori, F., & Schnyder, M. (2020). *Capillaria boehmi* (syn. *Eucoleus boehmi*): Challenging treatment of a rarely diagnosed nasal nematode in dogs and high prevalence in Swiss foxes. *Veterinary Parasitology*, *281*, 109103. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109103>
- Gray, J., Dantas-Torres, F., Estrada-Peña, A., & Levin, M. (2013). Systematics and ecology of the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, *4*(3), 171–180. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2012.12.003>
- Greigert, V., Brunet, J., Ouarti, B., Laroche, M., Pfaff, A. W., Henon, N., Lemoine, J. P., Mathieu, B., Parola, P., Candolfi, E., & Abou-Bacar, A. (2020). The Trick of the Hedgehog: Case Report and Short Review about *Archaeopsylla erinacei* (Siphonaptera: Pulicidae) in Human Health. *Journal of Medical Entomology*, *57*(1), 318–323. <https://doi.org/10.1093/jme/tjz157>
- Holland, C. V. (2023). A walk on the wild side: A review of the epidemiology of *Toxocara canis* and *Toxocara cati* in wild hosts. *International Journal for Parasitology. Parasites and Wildlife*, *22*, 216–228. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2023.10.008>
- Hornok, S., Sándor, A. D., Beck, R., Farkas, R., Beati, L., Kontschán, J., Takács, N., Földvári, G., Silaghi, C., Meyer-Kayser, E., Hodžić, A., Tomanović, S., Abdullah, S., Wall, R., Estrada-Peña, A., Duscher, G. G., & Plantard, O. (2017). Contributions to the phylogeny of *Ixodes (Pholeoixodes) canisuga*, *I. (Ph.) kaiseri*, *I. (Ph.) hexagonus* and a simple pictorial key for the identification of their females. *Parasites and Vectors*, *10*(1), 545. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2424-x>
- Hosseini, S. M., Moshrefi, A. H., Esfandiyari, A., Youssefi, M. R., & Nassiri, A. (2020). First Report of *Joyeuxiella* spp. Infection in Eurasian Lynx and Its Histopathology Study from Iran: A Case Report. *Iranian Journal of Parasitology*, *15*(2), 282–286.
- Huang-Bastos, M., Bassini-Silva, R., Rolim, L. S., Oconnor, B., Ochoa, R., Barros-Battesti, D. M., & Jacinavicius, F. D. C. (2020). *Otodectes cynotis* (Sarcoptiformes: Psoroptidae): New Records on Wild Carnivores in Brazil with a Case Report. *Journal of Medical Entomology*, *57*(4), 1090–1095. <https://doi.org/10.1093/jme/tjaa042>
- Husin, N. A., Khoo, J. J., Zulkifli, M. M. S., Bell-Sakyi, L., & Abubakar, S. (2021). Replication kinetics of *Rickettsia raoultii* in tick cell lines. *Microorganisms*, *9*(7), 1370. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071370>
- Hvidsten, D., Frafjord, K., Gray, J. S., Henningsson, A. J., Jenkins, A., Kristiansen, B. E., Lager, M., Rognerud, B., Slåtve, A. M., Stordal, F., Stuen, S., & Wilhelmsson, P. (2020).

- The distribution limit of the common tick, *Ixodes ricinus*, and some associated pathogens in north-western Europe. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 11(4), 101388. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101388>
- Iannino, F., Sulli, N., Maitino, A., Pascucci, I., Pampiglione, G., & Salucci, S. (2017). Fleas of dog and cat: species, biology and flea-borne diseases. *Veterinaria Italiana*, 53(4), 277–288. <https://doi.org/10.12834/VetIt.109.303.3>
- Ilić, T., Becskei, Z., Petrović, T., Polaček, V., Ristić, B., Milić, S., Stepanović, P., Radisavljević, K., & Dimitrijević, S. (2016). Endoparasitic fauna of red foxes (*Vulpes vulpes*) and golden jackals (*Canis aureus*) in Serbia. *Acta Parasitologica*, 61(2), 389–396. <https://doi.org/10.1515/ap-2016-0051>
- Illiano, S., Ciuca, L., Bosco, A., Rinaldi, L., & Maurelli, M. P. (2024). Comparison of different molecular protocols for the detection of *Uncinaria stenocephala* infection in dogs. *Veterinary Parasitology*, 330, 110249. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2024.110249>
- Illiano, S., Ciuca, L., Maurelli, M. P., Pepe, P., Caruso, V., Bosco, A., Pennacchio, S., Amato, R., Pompameo, M., & Rinaldi, L. (2023). Epidemiological and molecular updates on hookworm species in dogs from southern Italy. *BMC Veterinary Research*, 19(1), 204. <https://doi.org/10.1186/s12917-023-03765-3>
- Ionică, A. M., Deak, G., Matei, I. A., D'Amico, G., Cotuțiu, V. D., Gherman, C. M., & Mihalca, A. D. (2018). *Thelazia callipaeda*, an Endemic Parasite of Red Foxes (*Vulpes vulpes*) in Western Romania. *Journal of Wildlife Diseases*, 54(4), 829–833. <https://doi.org/10.7589/2017-10-251>
- Jahfari, S., Ruyts, S. C., Frazer-Mendelewska, E., Jaarsma, R., Verheyen, K., & Sprong, H. (2017). Melting pot of tick-borne zoonoses: The European hedgehog contributes to the maintenance of various tick-borne diseases in natural cycles urban and suburban areas. *Parasites and Vectors*, 10(1), 134. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2065-0>
- Jalovecka, M., Sojka, D., Ascencio, M., & Schnittger, L. (2019). *Babesia* Life Cycle - When Phylogeny Meets Biology. *Trends in Parasitology*, 35(5), 356–368. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2019.01.007>
- Jansen, F., Claes, M., Bakkers, E., Aryal, A., Madimba, K. C., Gabriël, S., Dermauw, V., Van Hul, A., Vervaeke, M., & Dorny, P. (2020). *Echinococcus multilocularis* in red foxes in North Belgium: Prevalence and trends in distribution. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 22, 100470. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100470>
- Jenkins, D. J., Urwin, N. A. R., Williams, T. M., Mitchell, K. L., Lievaart, J. J., & Armua-Fernandez, M. T. (2014). Red foxes (*Vulpes vulpes*) and wild dogs (dingoes (*Canis lupus dingo*) and dingo/domestic dog hybrids), as sylvatic hosts for Australian *Taenia hydatigena* and *Taenia ovis*. *International Journal for Parasitology. Parasites and Wildlife*, 3(2), 75–80. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2014.03.001>
- Jesudoss Chelladurai, J. R. J., & Brewer, M. T. (2021). Global prevalence of *Mesocestoides* infections in animals - A systematic review and meta-analysis. *Veterinary Parasitology*, 298, 109537. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109537>
- Kahl, O., Bulling, I., & Chitimia-Dobler, L. (2022). Some new findings on the endophilic vector tick *Ixodes hexagonus* in Germany. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 13(4), 101954. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2022.101954>

- Karamo, J., Sroka, J., Dąbrowska, J., Bilaska-zajac, E., Skrzypek, K., Różycki, M., Zdybel, J., & Cencek, T. (2020). Distribution of parasitic helminths in the small intestine of the red fox (*Vulpes vulpes*). *Pathogens*, 9(6), 477. <https://doi.org/10.3390/pathogens9060477>
- Khalil, L. F., Jones, A., & Bray, R. A. (1994). *Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates*. CAB International.
- Kiewra, D., Czułowska, A., Dyczko, D., Zieliński, R., & Plewa-Tutaj, K. (2019). First record of *Haemaphysalis concinna* (Acari: Ixodidae) in Lower Silesia, SW Poland. *Experimental & Applied Acarology*, 77(3), 449–454. <https://doi.org/10.1007/s10493-019-00344-w>
- Korpysa-Dzirba, W., Różycki, M., Bilaska-Zajac, E., Karamon, J., Sroka, J., Belcik, A., Wasiak, M., & Cencek, T. (2021). *Alaria alata* in terms of risks to consumers' health. *Foods*, 10(7), 1614. <https://doi.org/10.3390/foods10071614>
- Labuschagne, J., Frean, J., Parbhoo, K., Mutyaba, D., Pillay, T., Boughan, S., & Nkala, H. (2022). Disseminated Human Subarachnoid Coenurosis. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 7(12), 405. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed7120405>
- Lambert, A. J., & Lanciotti, R. S. (2009). Consensus amplification and novel multiplex sequencing method for S segment species identification of 47 viruses of the *Orthobunyavirus*, *Phlebovirus*, and *Nairovirus* genera of the family Bunyviridae. *Journal of Clinical Microbiology*, 47(8), 2398–2404. <https://doi.org/10.1128/JCM.00182-09>
- Langeron, M. (1934). *Précis de Microscopie: Technique - Expérimentation - Diagnostic* (5th ed.). Masson et Cie.
- Lawrence, A. L., Hii, S. F., Jirsová, D., Panáková, L., Ionică, A. M., Gilchrist, K., Modrý, D., Mihalca, A. D., Webb, C. E., Traub, R. J., & Šlapeta, J. (2015). Integrated morphological and molecular identification of cat fleas (*Ctenocephalides felis*) and dog fleas (*Ctenocephalides canis*) vectoring *Rickettsia felis* in central Europe. *Veterinary Parasitology*, 210(3–4), 215–223. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.03.029>
- Lescano, A. G., & Zunt, J. (2013). Other cestodes: sparganosis, coenurosis and *Taenia crassiceps* cysticercosis. In *Handbook of Clinical Neurology* (Vol. 114, pp. 335–345). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53490-3.00027-3>
- Lesiczka, P. M., Rudenko, N., Golovchenko, M., Juránková, J., Daněk, O., Modrý, D., & Hrazdilová, K. (2023). Red fox (*Vulpes vulpes*) play an important role in the propagation of tick-borne pathogens. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 14(1), 102076. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2022.102076>
- Li, Q., Liang, W., Zhang, X., & Mahamood, M. (2017). Nematode Genera and Species Description Along the Transect. In *Soil Nematodes of Grasslands in Northern China* (pp. 45–228). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813274-6.00003-X>
- Little, S. E., & Cortinas, R. (2021). Mites. In *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat* (5th ed., pp. 1378–1398). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-50934-3.00110-5>
- Liu, J., Han, X. Y., Ye, R. Z., Xu, Q., Wang, X. Y., Li, Z. H., Sun, Y., Song, K., Wang, B. Y., Wang, S. S., Liu, J. Y., Zhao, L., & Cao, W. C. (2024). An integrated data analysis reveals distribution, hosts, and pathogen diversity of *Haemaphysalis concinna*. *Parasites and Vectors*, 17(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13071-024-06152-5>

- Lledó, L., Giménez-Pardo, C., Saz, J. V., & Serrano, J. L. (2015). Wild red foxes (*Vulpes vulpes*) as sentinels of parasitic diseases in the province of Soria, Northern Spain. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 15(12), 743–749. <https://doi.org/10.1089/vbz.2014.1766>
- Lobo, C. A., Singh, M., & Rodriguez, M. (2020). Human babesiosis: recent advances and future challenges. *Current Opinion in Hematology*, 27(6), 399–405. <https://doi.org/10.1097/MOH.0000000000000606>
- Lukášová, R., Marková, J., Bártová, E., Murat, J.-B., & Sedlák, K. (2018). Molecular Evidence of *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, and *Encephalitozoon cuniculi* in Red Foxes (*Vulpes vulpes*). *Journal of Wildlife Diseases*, 54(4), 825–828. <https://doi.org/10.7589/2017-09-240>
- Luong, L. T., & Hudson, P. J. (2012). Complex life cycle of *Pterygodermatites peromysci*, a tropically transmitted parasite of the white-footed mouse (*Peromyscus leucopus*). *Parasitology Research*, 110(1), 483–487. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2542-x>
- Máca, O., Gudiškis, N., Butkauskas, D., González-Solís, D., & Prakas, P. (2024). Red foxes (*Vulpes vulpes*) and raccoon dogs (*Nyctereutes procyonoides*) as potential spreaders of *Sarcocystis* species. *Frontiers in Veterinary Science*, 11, 1392618. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1392618>
- Mackenstedt, U., Jenkins, D., & Romig, T. (2015). The role of wildlife in the transmission of parasitic zoonoses in peri-urban and urban areas. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 4(1), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2015.01.006>
- Magi, M., Macchioni, F., Dell’omodarme, M., Prati, M. C., Calderini, P., Gabrielli, S., Iori, A., & Cancrini, G. (2009). Endoparasites of Red Fox (*Vulpes vulpes*) in Central Italy. *Journal of Wildlife Diseases*, 45(3), 881–885. http://meridian.allenpress.com/jwd/article-pdf/45/3/881/2238850/0090-3558-45_3_881.pdf
- Main, M. T., Davis, R. A., Blake, D., Mills, H., & Doherty, T. S. (2020). Human impact overrides bioclimatic drivers of red fox home range size globally. *Diversity and Distributions*, 26(9), 1083–1092. <https://doi.org/10.1111/ddi.13115>
- Mans, B. J., Featherston, J., Kvas, M., Pillay, K. A., de Klerk, D. G., Pienaar, R., de Castro, M. H., Schwan, T. G., Lopez, J. E., Teel, P., Pérez de León, A. A., Sonenshine, D. E., Egekwu, N. I., Bakkes, D. K., Heyne, H., Kanduma, E. G., Nyangiwe, N., Bouattour, A., & Latif, A. A. (2019). Argasid and ixodid systematics: Implications for soft tick evolution and systematics, with a new argasid species list. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 10(1), 219–240. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.09.010>
- Marchiondo, A. A., & Endris, R. G. (2019). Arachnida. In *Parasiticide Screening* (Vol. 1, pp. 257–377). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813890-8.00004-3>
- Mardahl, M., Borup, A., & Nejsum, P. (2019). A new level of complexity in parasite-host interaction: The role of extracellular vesicles. In *Advances in Parasitology* (Vol. 104, pp. 39–112). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2019.02.003>
- Mathias, M. (coord.), Fonseca, C., Rodrigues, L., Grilo, C., Lopes-Fernandes, M., Palmeirim, J., Santos-Reis, M., Alves, P., Cabral, J., Ferreira, M., Mira, A., Eira, C., Negrões, N., Paupério, J., Pita, R., Rainho, A., Rosalino, L., Tapisso, J. & Vingada, J. (eds.). (2023). *Livro Vermelho dos Mamíferos de Portugal Continental*.

- Mechouk, N., Deak, G., Ionică, A. M., Toma, C. G., Bouslama, Z., & Daniel Mihalca, A. (2023). First report of *Crenosoma vulpis* in Africa and *Eucoleus aerophilus* in Algeria. *International Journal for Parasitology. Parasites and Wildlife*, 20, 187–191. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2023.03.003>
- Meng, H., Xu, S., Yu, Z., Liu, Z., Liu, J., Yang, X., & Liu, J. (2014). The life cycle and occurrence of *Haemaphysalis concinna* (Acari: Ixodidae) under field conditions. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 5(6), 887–891. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.07.007>
- Mierzejewska, E. J., Dwużnik, D., Koczwarska, J., Stańczak, Ł., Opalińska, P., Krokowska-Paluszak, M., Wierzbicka, A., Górecki, G., & Bajer, A. (2021). The red fox (*Vulpes vulpes*), a possible reservoir of *Babesia vulpes*, *B. canis* and *Hepatozoon canis* and its association with the tick *Dermacentor reticulatus* occurrence. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 12(1), 101551. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101551>
- Miltzer, N., Bartel, A., Clausen, P.-H., Hoffmann-Köhler, P., & Nijhof, A. M. (2021). Artificial Feeding of All Consecutive Life Stages of *Ixodes ricinus*. *Vaccines*, 9(4), 385. <https://doi.org/10.3390/vaccines9040385>
- Miró, G., & López-Vélez, R. (2018). Clinical management of canine leishmaniosis versus human leishmaniasis due to *Leishmania infantum*: Putting “One Health” principles into practice. *Veterinary Parasitology*, 254, 151–159. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.03.002>
- Mitreva, M., & Jasmer, D. P. (2024). *Trichinella spiralis* Infection. In *WormBook* (pp. 1–21). WormBook: The C. elegans Research Community.
- Moore, C., Breitschwerdt, E. B., Kim, L., Li, Y., Ferris, K., Maggi, R., & Lashnits, E. (2023). The association of host and vector characteristics with *Ctenocephalides felis* pathogen and endosymbiont infection. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1137059. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1137059>
- Morales-Yuste, M., Martín-Sánchez, J., & Corpas-Lopez, V. (2022). Canine Leishmaniasis: Update on Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Veterinary Sciences*, 9(8), 387. <https://doi.org/10.3390/vetsci9080387>
- Moré, G., Abrahamovich, P., Jurado, S., Bacigalupe, D., Marin, J. C., Rambeaud, M., Venturini, L., & Venturini, M. C. (2011). Prevalence of *Sarcocystis* spp. in Argentinean cattle. *Veterinary Parasitology*, 177(1–2), 162–165. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.11.036>
- Morgan, E. R., Modry, D., Paredes-Esquivel, C., Foronda, P., & Traversa, D. (2021). Angiostrongylosis in Animals and Humans in Europe. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 10(10), 1236. <https://doi.org/10.3390/pathogens10101236>
- Mori, M., Mertens, K., Cutler, S. J., & Santos, A. S. (2017). Critical Aspects for Detection of *Coxiella burnetii*. *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)*, 17(1), 33–41. <https://doi.org/10.1089/vbz.2016.1958>
- Mubarak, A. G., Mohammed, E. S., Elaadli, H., Alzaylaee, H., Hamad, R. S., Elkholy, W. A., & Youseef, A. G. (2023). Prevalence and risk factors associated with *Toxocara canis* in dogs and humans in Egypt: A comparative approach. *Veterinary Medicine and Science*, 9(6), 2475–2484. <https://doi.org/10.1002/vms3.1228>

- Najm, N.-A., Meyer-Kayser, E., Hoffmann, L., Herb, I., Fensterer, V., Pfister, K., & Silaghi, C. (2014). A molecular survey of *Babesia* spp. and *Theileria* spp. in red foxes (*Vulpes vulpes*) and their ticks from Thuringia, Germany. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 5(4), 386–391. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2014.01.005>
- Neimanis, A. S., Moraes, C., Bergman, A., Bignert, A., Höglund, J., Lundström, K., Strömberg, A., & Bäcklin, B.-M. (2016). Emergence of the Zoonotic Biliary Trematode *Pseudamphistomum truncatum* in Grey Seals (*Halichoerus grypus*) in the Baltic Sea. *PLoS One*, 11(10), e0164782. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0164782>
- Nimmervoll, H., Hoby, S., Robert, N., Lommano, E., Welle, M., & Ryser-Degiorgis, M. P. (2013). Pathology of sarcoptic mange in red foxes (*Vulpes vulpes*): Macroscopic and histologic characterization of three disease stages. *Journal of Wildlife Diseases*, 49(1), 91–102. <https://doi.org/10.7589/2010-11-316>
- Ord, R. L., & Lobo, C. A. (2015). Human Babesiosis: Pathogens, Prevalence, Diagnosis and Treatment. *Current Clinical Microbiology Reports*, 2(4), 173–181. <https://doi.org/10.1007/s40588-015-0025-z>
- Ortega-Mora, L. M., Gottstein, B., Conraths, F. J., & Buxton, D. (2007). *PROTOZOAL ABORTION IN FARM RUMINANTS: GUIDELINES FOR DIAGNOSIS AND CONTROL*. CAB International.
- Osório, H. C., Zé-Zé, L., Amaro, F., & Alves, M. J. (2014). Mosquito surveillance for prevention and control of emerging mosquito-borne diseases in Portugal - 2008-2014. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(11), 11583–11596. <https://doi.org/10.3390/ijerph111111583>
- Otranto, D., Milillo, P., Mesto, P., De Caprariis, D., Perrucci, S., & Capelli, G. (2004). *Otodectes cynotis* (Acari: Psoroptidae): examination of survival off-the-host under natural and laboratory conditions. *Experimental and Applied Acarology*, 32, 171–179.
- Palomo, L. J., Gisbert, J. y, & Blanco, J. C. (2007). *Atlas y Libro Rojo de los Mamíferos Terrestres de España*. Dirección General para la Biodiversidad - SECEM-SECEMU, Madrid.
- Paulauskas, A., Sakalauskas, P., Kaminskienė, E., Šimkevičius, K., Kibiša, A., & Radzijeuskaja, J. (2020). First record of *Haemaphysalis concinna* (Acari: Ixodidae) in Lithuania. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 11(5), 101460. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2020.101460>
- Perez, R., Pérez-Cutillas, P., González, M., Muñoz-Hernández, C., Arcenillas-Hernández, I., de Ruiz de Ybáñez, R., Escribano, F., & Martínez-Carrasco, C. (2023). Predictive factors for flea occurrence in red foxes (*Vulpes vulpes*) from semi-arid Mediterranean environments. *Medical and Veterinary Entomology*, 37(1), 86–95. <https://doi.org/10.1111/mve.12611>
- Perrucci, S., Maestrini, M., Coppola, F., Di Marco, M., Rosso, A. Di, Pacini, M. I., Zintu, P., & Felicioli, A. (2023). Gray Wolf (*Canis lupus italicus*) and Red Fox (*Vulpes vulpes*) Parasite Survey in Anthropized and Natural Areas of Central Italy. *Veterinary Sciences*, 10(2), 108. <https://doi.org/10.3390/vetsci10020108>
- Perrucci, S., Verin, R., Mancianti, F., & Poli, A. (2016). Sarcoptic mange and other ectoparasitic infections in a red fox (*Vulpes vulpes*) population from central Italy. *Parasite Epidemiology and Control*, 1(2), 66–71. <https://doi.org/10.1016/j.parepi.2016.03.007>

- Petersen, H. H., Nielsen, S. T., Larsen, G., Holm, E., & Chriél, M. (2018). Prevalence of *Capillaria plica* in Danish wild carnivores. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 7(3), 360–363. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2018.09.006>
- Pires, H., Cardoso, L., Lopes, A. P., Fontes, M. da C., Matos, M., Pintado, C., Figueira, L., Mesquita, J. R., Matos, A. C., & Coelho, A. C. (2023). Seropositivity for *Coxiella burnetii* in Wild Boar (*Sus scrofa*) and Red Deer (*Cervus elaphus*) in Portugal. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 12(3), 421. <https://doi.org/10.3390/pathogens12030421>
- Pisano, S. R. R., Zimmermann, F., Rossi, L., Capt, S., Akdesir, E., Bürki, R., Kunz, F., Origgi, F. C., & Ryser-Degiorgis, M. P. (2019). Spatiotemporal spread of sarcoptic mange in the red fox (*Vulpes vulpes*) in Switzerland over more than 60 years: Lessons learnt from comparative analysis of multiple surveillance tools. *Parasites and Vectors*, 12(1), 521. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3762-7>
- Plumer, L., Davison, J., Saarma, U., & Cameron, E. Z. (2014). Rapid urbanization of red foxes in estonia: distribution, behaviour, attacks on domestic animals, and health-risks related to zoonotic diseases. *PLoS ONE*, 9(12), e115124. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115124>
- Pozio, E., Armignacco, O., Ferri, F., & Gomez Morales, M. A. (2013). *Opisthorchis felineus*, an emerging infection in Italy and its implication for the European Union. *Acta Tropica*, 126(1), 54–62. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2013.01.005>
- Rajamannar, V., Govindarajan, R., Kumar, A., & Samuel, P. (2022). A review of public health important fleas (Insecta, Siphonaptera) and flea-borne diseases in India. *Journal of Vector Borne Diseases*, 59(1), 12–21. <https://doi.org/10.4103/0972-9062.328977>
- Rathish, B., & K, R. (2022). *Sarcocystis*. StatPearls Publishing (Internet).
- Rentería-Solís, Z., Min, A. M., Alasaad, S., Müller, K., Michler, F. U., Schmäschke, R., Wittstatt, U., Rossi, L., & Wibbelt, G. (2014). Genetic epidemiology and pathology of raccoon-derived *Sarcoptes* mites from urban areas of Germany. *Medical and Veterinary Entomology*, 28(SUPPL.1), 98–103. <https://doi.org/10.1111/mve.12079>
- Ribicich, M., Pasqualetti, M. I., & Fariña, F. A. (2021). Trichinellosis in animals. In *Trichinella and Trichinellosis* (pp. 315–331). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821209-7.00013-5>
- Rikihisa, Y. (2022). The “Biological Weapons” of *Ehrlichia chaffeensis*: Novel Molecules and Mechanisms to Subjugate Host Cells. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 830180. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.830180>
- Robley, A., Gormley, A. M., Forsyth, D. M., & Triggs, B. (2014). Long-term and large-scale control of the introduced red fox increases native mammal occupancy in Australian forests. *Biological Conservation*, 180, 262–269. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2014.10.017>
- Rojas, A., Dvir, E., Farkas, R., Sarma, K., Borthakur, S., Jabbar, A., Markovics, A., Otranto, D., & Baneth, G. (2018). Phylogenetic analysis of *Spirocerca lupi* and *Spirocerca vulpis* reveal high genetic diversity and intra-individual variation. *Parasites & Vectors*, 11(1), 639. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-3202-0>

- Rousseau, J., Castro, A., Novo, T., & Maia, C. (2022). *Dipylidium caninum* in the twenty-first century: epidemiological studies and reported cases in companion animals and humans. *Parasites & Vectors*, *15*(1), 131. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05243-5>
- Rubel, F., Brugger, K., Walter, M., Vogelgesang, J. R., Didyk, Y. M., Fu, S., & Kahl, O. (2018). Geographical distribution, climate adaptation and vector competence of the Eurasian hard tick *Haemaphysalis concinna*. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, *9*(5), 1080–1089. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.04.002>
- Rudenko, N., Golovchenko, M., Horak, A., Grubhoffer, L., Mongodin, E. F., Fraser, C. M., Qiu, W., Luft, B. J., Morgan, R. G., Casjens, S. R., & Schutzer, S. E. (2023). Genomic Confirmation of *Borrelia garinii*, United States. *Emerging Infectious Diseases*, *29*(1), 64–69. <https://doi.org/10.3201/eid2901.220930>
- Saeed, I., Maddox-Hyttel, C., Monrad, J., & Kapel, C. M. O. (2006). Helminths of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Denmark. *Veterinary Parasitology*, *139*(1–3), 168–179. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.02.015>
- Samorek-Pieróg, M., Cencek, T., Łabuć, E., Pac-Sosińska, M., Pieróg, M., Korpysa-Dzirba, W., Bełcik, A., Bilska-Zajac, E., & Karamon, J. (2023). Occurrence of *Eucoleus aerophilus* in wild and domestic animals: a systematic review and meta-analysis. *Parasites & Vectors*, *16*(1), 245. <https://doi.org/10.1186/s13071-023-05830-0>
- Sanchis-Monsonís, G., Fanelli, A., Martínez-Carrasco, C., & Tizzani, P. (2020). The typical cestodes of the red fox in eastern areas of the Iberian Peninsula have a grouped distribution. *Veterinary Parasitology*, *283*, 109168. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109168>
- Sang, C., Yang, Y., Dong, Q., Xu, B., Liu, G., Hornok, S., Liu, Z., Wang, Y., & Hazihan, W. (2021). Molecular survey of *Babesia* spp. in red foxes (*Vulpes Vulpes*), Asian badgers (*Meles leucurus*) and their ticks in China. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, *12*(4), 101710. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101710>
- Santos, A. S., de Bruin, A., Veloso, A. R., Marques, C., Pereira da Fonseca, I., de Sousa, R., Sprong, H., & Santos-Silva, M. M. (2018). Detection of *Anaplasma phagocytophilum*, *Candidatus Neoehrlichia* sp., *Coxiella burnetii* and *Rickettsia* spp. in questing ticks from a recreational park, Portugal. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, *9*(6), 1555–1564. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2018.07.010>
- Scioscia, N. P., Beldomenico, P. M., & Denegri, G. M. (2016). New host and distribution expansion for *Pterygodermatites (Multipectines) affinis*. *Helminthologia*, *53*(1), 81–86. <https://doi.org/10.1515/helmin-2015-0076>
- Seindé Espérance, M., Ogouyomi Roland, A., Pascal, T., Paul, S., Irène, T., Pascal, A., Pascal, A., & Maximin, S. (2024). Diagnostic performance of the Willis, Ritchie and Bailenger methods in Parasitic Coprology. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.*, *11*(3), 27–36. <https://doi.org/10.22192/ijarbs>
- Sgroi, G., Iatta, R., Veneziano, V., Bezerra-Santos, M. A., Lesiczka, P., Hrazdilová, K., Annoscia, G., D'Alessio, N., Golovchenko, M., Rudenko, N., Modrý, D., & Otranto, D. (2021). Molecular survey on tick-borne pathogens and *Leishmania infantum* in red foxes (*Vulpes vulpes*) from southern Italy. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, *12*(3), 101669. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2021.101669>

- Shepherd, J. G. (2023). Mating, Sperm Transfer and Oviposition in Soft Ticks (Acari: Argasidae), a Review. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 12(4), 582. <https://doi.org/10.3390/pathogens12040582>
- Silaghi, C., Santos, A. S., Gomes, J., Christova, I., Matei, I. A., Walder, G., Domingos, A., Bell-Sakyi, L., Sprong, H., von Loewenich, F. D., Oteo, J. A., de la Fuente, J., & Dumler, J. S. (2017). Guidelines for the Direct Detection of *Anaplasma* spp. in Diagnosis and Epidemiological Studies. *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)*, 17(1), 12–22. <https://doi.org/10.1089/vbz.2016.1960>
- Silva, M. S. S. da. (2010). *Rastreo de parasitas gastrointestinais, pulmonares, cutâneos e musculares em canídeos domésticos e silvestres no norte de Portugal* [BS thesis]. Universidade Técnica de Lisboa.
- Silva, N. P. A. da, Lima, A. R. de, Branco, É., Pinheiro, R. H. da S., & Giese, E. G. (2020). *Pterygodermatites (Multipectines) affinis* (Jägerskiöl, 1904) (Nematoda: Rictulariidae), a parasite of *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) (Carnivora: Canidae) from the Brazilian Amazon. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária = Brazilian Journal of Veterinary Parasitology: Órgão Oficial Do Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária*, 29(3), e003220. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612020041>
- Sobrino, R., Millán, J., Oleaga, A., Gortázar, C., de la Fuente, J., & Ruiz-Fons, F. (2012). Ecological preferences of exophilic and endophilic ticks (Acari: Ixodidae) parasitizing wild carnivores in the Iberian Peninsula. *Veterinary Parasitology*, 184(2–4), 248–257. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.09.003>
- Sréter, T., Széll, Z., & Varga, I. (2003). Ectoparasite infestations of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Hungary. *Veterinary Parasitology*, 115(4), 349–354. [https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(03\)00216-4](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(03)00216-4)
- Stock, S. P., & Goodrich-Blair, H. (2012). Nematode parasites, pathogens and associates of insects and invertebrates of economic importance. In *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology* (2nd ed., pp. 373–426). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386899-2.00012-9>
- Studzińska, M. B., Obara-Gałek, J., Demkowska-Kutrzepa, M., & Tomczuk, K. (2015). Diagnosis and therapy of *Capillaria plica* infection: report and literature review. *Acta Parasitologica*, 60(3), 563–566. <https://doi.org/10.1515/ap-2015-0081>
- Stuen, S., Granquist, E. G., & Silaghi, C. (2013). *Anaplasma phagocytophilum*-a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 3, 1–33. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00031>
- Sunderkötter, C., Wohlrab, J., & Hamm, H. (2021). Scabies: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Deutsches Arzteblatt International*, 118(41), 695–704. <https://doi.org/10.3238/arztebl.m2021.0296>
- Széll, Z., Tolnai, Z., & Sréter, T. (2013). Environmental determinants of the spatial distribution of *Alaria alata* in Hungary. *Veterinary Parasitology*, 198(1–2), 116–121. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.08.002>
- Taylor, M. A., Coop, R. L., & Wall, R. L. (2007). *Veterinary Parasitology* (3rd ed.). Blackwell Publishing.

- Thomson, P., Carreño, N., & Núñez, A. (2023). Main mites associated with dermatopathies present in dogs and other members of the Canidae family. *Open Veterinary Journal*, *13*(2), 131–142. <https://doi.org/10.5455/OVJ.2023.v13.i2.1>
- Tolnai, Z., Sréter-Lancz, Z., & Sréter, T. (2015). Spatial distribution of *Anaplasma phagocytophilum* and *Hepatozoon canis* in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Hungary. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, *6*(5), 645–648. <https://doi.org/10.1016/j.ttbdis.2015.05.009>
- Tolnai, Z., Széll, Z., Marucci, G., Pozio, E., & Sréter, T. (2014). Environmental determinants of the spatial distribution of *Trichinella britovi* and *Trichinella spiralis* in Hungary. *Veterinary Parasitology*, *204*(3–4), 426–429. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.04.024>
- Van Die, I., & Cummings, R. D. (2010). Glycomics in Unraveling Glycan-Driven Immune Responses by Parasitic Helminths. In *Handbook of Glycomics* (pp. 367–396). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373600-0.00015-9>
- Varcasia, A., Tamponi, C., Ahmed, F., Cappai, M. G., Porcu, F., Mehmood, N., Dessì, G., & Scala, A. (2022). *Taenia multiceps* coenurosis: a review. *Parasites and Vectors*, *15*(1), 84. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05210-0>
- Varcasia, A., Tamponi, C., Tosciri, G., Pipia, A. P., Dore, F., Schuster, R. K., Kandil, O. M., Manunta, M. L., & Scala, A. (2015). Is the red fox (*Vulpes vulpes*) a competent definitive host for *Taenia multiceps*? *Parasites & Vectors*, *8*, 491. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-1096-7>
- Varela, M. C., & Marcos, M. V. (1993). A helmintofauna da raposa (*Vulpes vulpes silacea* MILLER, 1907) em Portugal. *Acta Parasitológica Portuguesa*, *1*(1), 73–79.
- Velusamy, R., Annamalai, L., & Vijayasarithi, M. K. (2023). Parasites in the gastrointestinal system of dogs and cats. In *Organ-Specific Parasitic Diseases of Dogs and Cats* (pp. 205–238). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-95352-8.00001-1>
- Vergles Rataj, A., Posedi, J., Žele, D., & Vengušt, G. (2013). Intestinal parasites of the red fox (*Vulpes vulpes*) in Slovenia. *Acta Veterinaria Hungarica*, *61*(4), 454–462. <https://doi.org/10.1556/AVet.2013.029>
- Víchová, B., Bona, M., Miterpáková, M., Kraljik, J., Čabanová, V., Nemčíková, G., Hurníková, Z., & Oravec, M. (2018). Fleas and Ticks of Red Foxes as Vectors of Canine Bacterial and Parasitic Pathogens, in Slovakia, Central Europe. *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Larchmont, N.Y.)*, *18*(11), 611–619. <https://doi.org/10.1089/vbz.2018.2314>
- Vincent-Johnson, N., Baneth, G., & Allen, K. E. (2021). Hepatozoonosis. In *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat* (5th ed., pp. 1230–1247). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-50934-3.00099-9>
- Wails, C. N., Helmke, C. C., Black, K. M., Ramirez-Barrios, R., Karpanty, S. M., Catlin, D. H., & Fraser, J. D. (2024). Epidemiology of sarcoptic mange in a geographically constrained insular red fox population. *Parasites & Vectors*, *17*(1), 248. <https://doi.org/10.1186/s13071-024-06330-5>
- Waindok, P., Raue, K., Grilo, M. L., Siebert, U., & Strube, C. (2021). Predators in northern Germany are reservoirs for parasites of One Health concern. *Parasitology Research*, *120*, 4229–4239. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07073-3/Published>

- Wanger, A., Chavez, V., Huang, R. S. P., Wahed, A., Actor, J. K., & Dasgupta, A. (2017). Infections Caused by Parasites. In *Microbiology and Molecular Diagnosis in Pathology* (pp. 191–219). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805351-5.00010-7>
- Wodecka, B., Michalik, J., & Grochowalska, R. (2022). Red Foxes (*Vulpes vulpes*) Are Exposed to High Diversity of *Borrelia burgdorferi* Sensu Lato Species Infecting Fox-Derived *Ixodes* Ticks in West-Central Poland. *Pathogens*, *11*(6), 696. <https://doi.org/10.3390/pathogens11060696>
- Xiong, Q., Lin, M., Huang, W., & Rikihisa, Y. (2019). Infection by *Anaplasma phagocytophilum* requires recruitment of low-density lipoprotein cholesterol by flotillins. *MBio*, *10*(2), e02783-18. <https://doi.org/10.1128/mBio.02783-18>
- Yamaguti, S. (1961). *Systema Helminthum* (Vol. 3). Interscience Publishers.
- Zajac, Z., Bartosik, K., & Woźniak, A. (2020). Monitoring *Dermacentor reticulatus* host-seeking activity in natural conditions. *Insects*, *11*(5), 264. <https://doi.org/10.3390/insects11050264>
- Zajac, Z., Kulisz, J., Woźniak, A., Obregón, D., Foucault-Simonin, A., Bartosik, K., Moutailler, S., & Cabezas-Cruz, A. (2024). Spatial Distribution and Pathogen Profile of *Dermacentor reticulatus* Ticks in Southeastern Poland: A Genetic and Environmental Analysis. *Transboundary and Emerging Diseases*, *2024*, 1–16. <https://doi.org/10.1155/2024/5458278>
- Zhao, G. P., Wang, Y. X., Fan, Z. W., Ji, Y., Liu, M. jin, Zhang, W. H., Li, X. Lou, Zhou, S. X., Li, H., Liang, S., Liu, W., Yang, Y., & Fang, L. Q. (2021). Mapping ticks and tick-borne pathogens in China. *Nature Communications*, *12*(1), 1075. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21375-1>
- Zineldar, H. A., Abouzeid, N. Z., Eisa, M. I., Bennour, E. M., & Neshwy, W. M. El. (2023). Prevalence, clinical presentation, and therapeutic outcome of ectoparasitic infestations in dogs in Egypt. *Open Veterinary Journal*, *13*(12), 1631–1644. <https://doi.org/10.5455/OVJ.2023.V13.I12.13>
- Zurita, A., Callejón, R., García-sánchez, M., Urdapilleta, M., Lareschi, M., & Cutillas, C. (2019). Origin, evolution, phylogeny and taxonomy of *Pulex irritans*. *Medical and Veterinary Entomology*, *33*(2), 296–311. <https://doi.org/10.1111/mve.12365>