

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



IDENTIFICAÇÃO DE TROMBICULÍDEOS (ACARINA: TROMBICULIDAE) EM CÃES E GATOS
E UTILIZAÇÃO TERAPÊUTICA DA SELAMECTINA E SAROLANER

Pedro Miguel Martins Costa

ORIENTADOR(A):

Doutor David Wilson Russo Ramilo

COORIENTADOR(A):

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier Félix
Lourenço

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



IDENTIFICAÇÃO DE TROMBICULÍDEOS (ACARINA: TROMBICULIDAE) EM CÃES E GATOS
E UTILIZAÇÃO TERAPÊUTICA DA SELAMECTINA E SAROLANER

Pedro Miguel Martins Costa

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

JÚRI

PRESIDENTE:

Doutora Isabel Maria Soares Pereira da
Fonseca de Sampaio

ORIENTADOR(A):

Doutor David Wilson Russo Ramilo

VOGAIS:

Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira São
Braz
Doutor David Wilson Russo Ramilo

COORIENTADOR(A):

Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier Félix
Lourenço

DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nome: Pedro Miguel Martins Costa

Título da Tese ou
Dissertação: Identificação de Trombiculídeos (Acarina: Trombiculidae) em cães e gatos e utilização terapêutica da selamectina e sarolaner.

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas públicas):

14 de dezembro de 2020

Designação do curso
de Mestrado ou de
Doutoramento:

Mestrado integrado em Medicina Veterinária

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

☐ Clínica

☐ Produção Animal e Segurança Alimentar

☐ Morfologia e Função

☒ Sanidade Animal

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

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

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

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

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

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

* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

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

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, 14 de dezembro de 2020

Assinatura:

Pedro Miguel Martins Costa

Agradecimentos

Começo por agradecer a quem tornou este estudo possível, ao meu orientador, Doutor David Wilson Russo Ramilo, ao qual agradeço a disponibilidade, a infindável paciência e perseverança para comigo em todas as etapas desta dissertação, assim como durante o estágio no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da FMV – ULisboa. Também gostaria de agradecer à minha co-orientadora, Professora Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier Félix Lourenço pelos conselhos e pelo apoio prestado durante a realização deste projeto de dissertação.

Gostaria de agradecer a empresa Zoetis por terem acreditado este projeto e pelo apoio prestado com a oferta de produtos.

Agradeço à responsável pelo Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias, Professora Doutora Isabel Pereira da Fonseca, pela cedência do espaço e do material necessário para a execução deste trabalho.

Agradeço à Dra. Lídia Gomes, pelos ensinamentos, conselhos e boa disposição, que me proporcionou no tempo que passei no laboratório.

Agradeço a toda a equipa da Clínica Veterinária São Francisco de Assis, particularmente ao Dr. João Cláudio, ao Dr. João Martinho Cláudio e à enfermeira Deborah Oliveira, por todos os ensinamentos, conselhos e técnicas que me foram possíveis adquirir durante estes meses de estágio. Também gostaria de agradecer a forma como fui recebido na clínica e como me fizeram sentir integrado na equipa.

Agradeço também aos meus colegas de estágio Ana Filipe, André Gomes, Joana Sequeira, Jorge Silva e Sara Rocha por todos os bons momentos que passamos no laboratório, pelas risadas ao almoço, pelos conselhos e pela camaradagem.

Agradeço também ao Dr. Tiago Carrapiço, à Dra. Joana Simão e a Dra. Ana Lúcia Catarino por terem aceitado fazer parte deste projeto, estando sempre disponíveis para o esclarecimento de dúvidas e pelo cuidado na procura e envio destes exemplares para laboratório.

Gostaria também de agradecer à Professora Doutora Berta São Brás e à Professora Doutora Isabel Pereira da Fonseca, pela simpatia e pela disponibilidade para o esclarecimento de dúvidas sobre esta temática.

Agradeço ainda a todos os tutores e os seus patudos, que prontamente se disponibilizaram a contribuir para este estudo.

Agradeço à minha mãe, irmã, tios, primos e avós por me terem sempre apoiado durante a realização deste sonho, sem nunca terem questionado a minha decisão, tendo sempre me apoiado a 100%, mesmo nos momentos mais difíceis.

Agradeço a todos os amigos que a FMV proporcionou - foram, sem dúvida, a melhor coisa que tirei desta faculdade. Particularmente, gostaria de agradecer às minhas amigas Maria Inês Freitas, Rita Bronze Vinha, Rita Silva, Rita Rodrigues, Rita Diogo, Raquel Veloso, Sara Jacinto e Viviana Santos por todos os bons momentos que passamos juntos, pela amizade, pela paciência e pelas risadas e longas conversas que tivemos juntos.

Gostaria também de agradecer às minhas amigas Patrícia Alexandre e Teresa Nogueira, pelo apoio incondicional que sempre me fizeram sentir durante todos os anos em que nos conhecemos.

Título: IDENTIFICAÇÃO DE TROMBICULÍDEOS (ACARINA: TROMBICULIDAE) EM CÃES E GATOS E UTILIZAÇÃO TERAPÊUTICA DA SELAMECTINA E SAROLANER.

Resumo

A trombiculose é uma doença parasitária cutânea, provocada por ácaros da família Trombiculidae. Esta doença está pouco descrita no nosso país, apesar do diagnóstico ser de fácil realização, devido às dimensões e coloração alaranjada característica dos ácaros, tornando-os visíveis à vista desarmada. Os ácaros trombiculídeos são vetores e potenciais vetores de vários agentes patogénicos, tendo assim, uma grande importância em saúde pública e animal.

Este trabalho teve como objetivo, realizar o levantamento das espécies de trombiculídeos que parasitam cães e gatos em certas regiões de Portugal Continental, assim como, a descrição das localizações e dos sinais clínicos associados à doença. Adicionalmente pretendeu-se avaliar a eficácia terapêutica na infeção por trombiculídeos, do sarolaner em cães e quando associado à selamectina em felídeos, tendo sido realizada apenas uma única aplicação do fármaco estudado.

Foram diagnosticados 23 casos de trombiculose em pequenos animais, (18 gatos e 5 cães), sendo a espécie *Ericotrombidium ibericense* a mais prevalente (60,2%, n= 53), constituindo esta a primeira descrição desta espécie em cães. As espécies *Neotrombicula autumnalis* (21,6%, n=19) e *Neotrombicula inopinata* (18,2%, n=16) também foram identificadas durante a realização deste estudo.

As formas larvares deste ácaro foram recolhidas, mais frequentemente, das zonas interdigitais (65,2%, n= 15), tendo sido os membros (52,2%, n=12), os pavilhões auriculares (47,8%, n=11) e o abdómen (30,4%, n=7) outras das localizações do aparecimento da parasitose.

Os sinais clínicos mais comuns associados a estas 3 espécies de ácaros foram o eritema e a presença de crostas, tendo sido verificadas, em menor número, lesões de alopecia, escoriações e pústulas.

O tratamento com sarolaner apresentou um sucesso terapêutico de 100% na eliminação de trombiculídeos em cães. A associação de selamectina e sarolaner apresentou um sucesso terapêutico de 55,6% na eliminação completa de trombiculídeos, tendo sido verificada uma diminuição do número de formas larvares em 77,8% dos gatos.

Palavras-Chave

Trombiculidae, Sarolaner, Selamectina, Trombiculose, Cão/Gato.

Title: IDENTIFICATION OF TROMBICULIDS (ACARINA: TROMBICULIDAE) IN DOGS AND CATS AND TERAPEUTIC USE OF SELAMECTIN AND SAROLANER.

Abstract

Trombiculosis is a parasitic skin disease caused by mites of the family Trombiculidae. This disease is poorly described in our country, although the diagnosis is easy to perform, due to the dimensions and characteristic orange coloration of the mites, making them visible to the naked eye. Trombiculid mites are vectors and potential vectors of various pathogenic agents, thus they have a great importance in public and animal health.

This study aimed to survey trombiculids species that exist in dogs and cats of certain regions of mainland Portugal as well as the locations and clinical signs associated with the disease. This study also aimed to evaluate therapeutic efficacy of sarolaner for dog's trombiculosis and that of sarolaner in association with selamectin for cats with the same disease, with only one application of the product.

Twenty-three cases were diagnosed in small animals, (18 cats and 5 dogs), with the most prevalent trombiculid species being the species *Ericotrombidium ibericense* (60.2%, n=53), being this work the first description of this species in dogs. The species *Neotrombicula autumnalis* (21.6%, n=19) and *N. inopinata* (18.2%, n=16) were also identified during this study.

The larval forms were more frequently identified in the interdigital zones (65.2%, n=15), being the limbs (52.2%, n=12), ear pinna (47.8%, n=11) and the abdomen (30.4%, n=7) other frequent locations for the location of these parasitosis.

The most common clinical signs associated with these three species of mites were erythema and crusts, with lesions of alopecia, excoriations and pustules being observed in a few cases.

Treatment with sarolaner showed a therapeutic success of 100% in the elimination of trombiculids in dogs. Selamectin and sarolaner combination showed a therapeutic success of 55.6% for the complete elimination of trombiculids, with the number of larval forms dropping in 77.8% of the cats.

Keywords

Trombiculidae, Sarolaner, Selamectin, Trombiculosis, Dog/ Cat.

Índice

1.	Atividades desenvolvidas durante o estágio	1
1.1.	Estágio em ambiente clínico.....	1
1.2.	Estágio em ambiente laboratorial	2
2.	Introdução ao estudo experimental	4
3.	Revisão bibliográfica	5
3.1.	Classificação taxonómica	5
3.2.	Morfologia do parasita	7
3.2.1.	Escudo	8
3.2.2.	Cerdas e sensilhas do escudo	9
3.2.3.	Quelíceras.....	11
3.2.4.	Palpos	11
3.2.5.	Olhos	13
3.2.6.	Patas.....	13
3.3.	Caracterização morfológica das espécies de trombiculídeos descritas em Portugal Continental.....	14
3.3.1.	<i>Ericotrombidium ibericense</i>	14
3.3.2.	<i>Neotrombicula autumnalis</i>	14
3.3.3.	<i>Neotrombicula inopinata</i>	15
3.3.4.	<i>Straelensia cynotis</i>	16
3.4.	Ciclo de vida	16
3.4.1.	Método de alimentação das larvas	18
3.5.	Patogenia e resposta imunitária do hospedeiro.....	20
3.6.	Sinais Clínicos.....	20
3.7.	Localização das lesões	22
3.8.	Diagnóstico	22
3.9.	Tratamento.....	23
3.9.1.	Piretrinas e piretróides	23
3.9.2.	Lactonas macrocíclicas	24
3.9.3.	Isoxazolinás	25
3.9.4.	Fenilpirazóis	26
3.9.5.	Selamectina e Sarolaner	26
3.9.6.	Análogos da hormona juvenil	27
3.10.	Implicações para a Saúde Pública	27
4.	Objetivos do trabalho experimental	28

5. Material e métodos.....	29
5.1. Zonas geográficas de recolha dos ácaros	29
5.2. Amostra em estudo	29
5.2.1. Critérios de inclusão no estudo.....	30
5.2.2 Critérios de exclusão no estudo.....	30
5.3. Sinais clínicos e localização das lesões	30
5.4. Colheita e conservação das amostras.....	30
5.5. Preparação de amostras	30
5.6. Observação microscópica	31
5.7. Terapêutica farmacológica	33
5.8. Análise estatística.....	33
6. Resultados	34
6.1. Caracterização dos locais de colheita.....	34
6.2. Caracterização da amostra	36
6.2.1. Quanto às espécies e sexos.....	36
6.2.2. Quanto às idades	37
6.2.3. Quanto ao estilo de vida.....	37
6.2.4. Quanto à terapêutica antiparasitária.....	38
6.2.5. Quanto ao motivo da consulta	38
6.2.6. Quanto aos sinais clínicos	39
6.2.7. Quanto ao nível de prurido	40
6.2.8. Quanto à localização das lesões	40
6.2.9. Quanto à época do ano em que se observa o maior número de infestações.....	42
6.3. Caracterização dos trombiculídeos.....	43
6.3.1. Caracterização da espécie <i>Ericotrombidium ibericense</i>	43
6.3.2. Caracterização da espécie <i>Neotrombicula autumnalis</i>	45
6.3.3. Caracterização da espécie <i>Neotrombicula inopinata</i>	47
6.4. Sucesso terapêutico dos antiparasitários utilizados no projeto	48
6.4.1. Caracterização dos sinais clínicos e localização das lesões na reavaliação.....	49
6.4.2. Caracterização do nível de prurido durante as reavaliações.....	50
7. Discussão	50
7.1. Caracterização da amostra.....	50
7.2. Caracterização dos trombiculídeos recolhidos	52
7.3. Sucesso terapêutico da associação com selamectina e sarolaner na eliminação de trombiculídeos em cães e gatos	57
7.4. Limitação ao estudo	59

8. Conclusão e perspectivas futuras	59
Referências bibliográficas	61
Anexo1- Inquérito realizado aos tutores e ficha de cliente.....	67
Anexo2- Panfleto explicativo	69
Anexo 3- Escala de Prurido	70
Anexo 4 -Doses de sarolaner utilizada em canídeos	71
Anexo 5 -Doses de selamectina e sarolaner administrada em felinos	71
Anexo 6 - Informação recolhida nos inquéritos aos tutores	72
Anexo 7 - Motivo da consulta e sinais clínicos observados	74
Anexo 8- Localização das lesões	75
Anexo 9 - Sinais clínicos observados nas reavaliações.....	77
Anexo 10- Localização das formas larvares na reavaliação	78
Anexo 11- Medições realizadas nos ácaros trombiculídeos observados (valores em μm)....	80
Anexo 12- First report of <i>Ericotrombidium ibericense</i> in domestic dogs.....	86

Lista de Figuras

Figura 1-Idiossoma e gnatossoma de um ácaro da espécie <i>Ericotrombidium ibericense</i> – Escala 100 µm	8
Figura 2-Representação esquemática das medições do escudo dos trombiculídeos- AW- Distância entre as cerdas anterolaterais, PW - Distância entre as cerdas posterolaterais, ASB- Altura entre a base da sensilha e a cerda anterolateral, PSB - Distância entre a base e o extremo posterior do escudo, SB- Distância entre as sensilhas, AP- Distância entre a cerda anteolateral e posterolateral, P-PL- Distância entre a cerda posterolateral e a margem posterior do escudo - Adaptado de Stelkonikov, 2018	9
Figura 3-Representação esquemática das medições das cerdas e sensilhas do escudo. AM- Comprimento da cerda anteromedial, AL- Comprimento da cerda anterolateral, PL- Comprimento da cerda posterolateral, S- Sensilha. Adaptado de Stelkonikov, 2018.	10
Figura 4-Tipos de sensilhas de trombiculídeos. A - Sensilha flageliforme lisa, B - Sensilhas flageliformes ramificadas, C - Sensilhas expandidas. Adaptado de Goff et al. 1982.	10
Figura 5-Representação das extremidades anteriores das quelíceras dos trombiculídeos; A - Lâmina da quelícera simples; B - Lâmina tridentada; C - Lâminas polidentadas. Goff et al. 1982	11
Figura 6-Eschema das estruturas visualizadas no palpo. Vista ventral (A) e dorsal (B). Adaptado de Stelkonikov, 2018.	12
Figura 7-- Representação esquemática do tipo de garras do palpo. A – Garra polidentada; B, C, D -Garras bidentadas; E - Garra simples; F, G - Garras tridentadas. Adaptado de Goff et al. 1982.	12
Figura 8- Representação dos tipos de olhos dos trombiculídeos. A - Olhos duplos; B - Olhos simples. Adaptado de Stelkonikov 2018.	13
Figura 9-Representação esquemática das patas dos trombiculídeos. Adaptado de Goff et al.1982	13
Figura 10- Escudo do género <i>Ericotrombidium</i> . Stelkonikov 2016.....	14
Figura 11-- Escudo do género <i>Neotrombicula</i> . Escala: 30 µm. Stelkonikov 2012.	15
Figura 12-Escudo da espécie <i>Straelensia cynotis</i> . Escala: 50 µm . Fain and Le Net 2001 ...	16
Figura 13-Ciclo de vida dos Trombiculídeos - Adaptado de Santibáñez et al. 2015.....	17
Figura 14- Estilostoma de um ácaro da espécie <i>N.inopinata</i> . A - Hipostoma, B - Cone eosinofílico. Observado com uma objetiva de 200X.	19
Figura 15-Localização das lesões de dermatite por <i>Neotrombicula</i> (A) e comparação com as lesões de dermatite atópica (B)- Small et al. 2004.....	22

Figura 16-Representação esquemática das medições do escudo dos trombiculídeos. AW- Distância entre as cerdas anterolaterais, PW - Distância entre as cerdas posterolaterais, ASB- Altura entre a base da sensilha e a cerda anterolateral, PSB - Distância entre a base sensilha e o extremo posterior do escudo, SB- Distância entre as sensilhas, AP- Distância entre a cerda anterolateral e posterolateral, P-PL- Distância entre a cerda posterolateral e a margem posterior do escudo- Adaptado de Stelkonikov 2012 - Escala: 30 µm.....	31
Figura 17-- Representação das medições das cerdas e sensilhas do escudo- AL- Cerda anterolateral, AM- cerda anteromediana, PL- Cerda Posterolateral, S- Sensilha- Adaptado de Stelkonikov, 2012- Escala: 30 µm	32
Figura 18- Representação das patas dos trombiculídeos- Observado com a objectiva de 40 X	32
Figura 19-Localização das amostras recolhidas no distrito de Santarém.....	35
Figura 20- -Localização das amostras recolhidas no distrito de Faro	35
Figura 20- -Localização das amostras recolhidas no distrito de Faro	35
Figura 21-Localização da amostra recolhida no distrito de Sintra.....	36
Figura 22-- Lesões provocadas por trombiculídeos. A-Lesão no pavilhão auricular externo; B- Lesão interdigital; C- Trombiculídeos na cicatriz umbilical; D- Lesões generalizadas no abdómen; E- Lesão num membro anterior de um cão; F- Lesão localizada no abdómen de um cão; G- Trombiculídeos na vulva de uma gata; H- Trombiculídeos no escroto de um gato.....	41
Figura 23-Escudo do ácaro <i>Ericotrombidium ibericense</i> . Escala 25µm (Foto original).....	43
Figura 24-Escudo da espécie <i>Neotrombicula autumnalis</i> - Escala: 30µm.....	45
Figura 25- Escudo da espécie <i>Neotrombicula inopinata</i> - Escala 30µm	47

Lista de Tabelas

Tabela 1-- Espécies de trombiculídeos reportados na Península Ibérica (Stekolnikov et al. 2014, 2016)	6
Tabela 2-- Desparasitantes aplicados pelos tutores.	38
Tabela 3-Tipo de consulta onde foram observadas as formas larvares.	38
Tabela 4-Sinais clínicos observados em cães e gatos.	39
Tabela 5-Sinais clínicos observados em cães.	39
Tabela 6-Sinais clínicos observados em gatos.	39
Tabela 7- Localização das lesões observadas.	42
Tabela 8- Medições realizadas na espécie <i>Ericotrombidium ibericense</i> (valores em μm).	44
Tabela 9- Medições realizadas na espécie <i>Neotrombicula autumnalis</i> (valores em μm).	45
Tabela 10-Escudo da espécie <i>Neotrombicula inopinata</i> - Escala 30 μm	47
Tabela 11-Sinais clínicos observados durante as reavaliações.	49
Tabela 12- Localização das lesões durante as reavaliações.	50

Lista de Gráficos

Gráfico 1--Proporção de casos por local de colheita	34
Gráfico 1--Proporção de casos por local de colheita	34
Gráfico 2- Caracterização das espécies animais quanto ao sexo e ao estado de esterilização.	36
Gráfico 2- Caracterização das espécies animais quanto ao sexo e ao estado de esterilização.	36
Gráfico 3- Estilos de vida dos animais afetados	37
Gráfico 3- Estilos de vida dos animais afetados	37
Gráfico 4- Casos de trombiculose detetados por estação do ano.....	42
Gráfico 4- Casos de trombiculose detetados por estação do ano.....	42
Gráfico 5- Proporção das espécies de trombiculídeos analisados.....	43
Gráfico 5- Proporção das espécies de trombiculídeos analisados.....	43
Gráfico 6- Eficácia das substâncias ativas consoante a espécie de trombiculídeo.	48
Gráfico 6- Eficácia das substâncias ativas consoante a espécie de trombiculídeo.	48
Gráfico 7- Nível de prurido dos animais nas reavaliações.	50

Lista de Abreviaturas

AL- Cerda anterolateral

AM-Cerda anteromedial

ASB- Distância entre a sensilha e o extremo anterior do escudo

AW- Distância entre as cerdas anterolaterais

CAMV- Centro de Atendimento Médico Veterinário

FMV- Faculdade de Medicina Veterinária

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

GABA- Ácido gama-aminobutírico

G – Gauge

H- Cerda umeral

Ip- Somatório das medidas das 3 patas do mesmo lado

MIMV-Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Pa- Tamanho da pata anterior

PAAF- Punção aspirativa por agulha fina

PI- Cerda posterolateral

Pm- Tamanho da pata intermédia

Pp- Tamanho da pata posterior

P-PL- Distância entre a cerda posterolateral e a margem posterior do escudo

PSB- Distância entre a sensilha e o extremo posterior do escudo

PW- Distância entre as cerdas posterolaterais

S- Sensilha

SB- Distância entre as sensilhas

1. Atividades desenvolvidas durante o estágio

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária (MIMV) da Faculdade de Medicina Veterinária (FMV) teve a duração total de 6 meses, com uma carga horária total de 1253 horas, tendo sido realizado entre 9 de setembro de 2019 a 18 de março de 2020. O trabalho foi repartido entre um estágio em ambiente clínico na Clínica Veterinária São Francisco de Assis, em Santarém, onde foram realizadas 749 horas, e um estágio em ambiente laboratorial no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (FMV-ULisboa), onde foram realizadas 504 horas.

1.1. Estágio em ambiente clínico

O estágio realizado em ambiente clínico foi dividido entre as áreas de medicina interna, consultas de vacinação e profilaxia, dermatologia, imagiologia, cirurgia, consulta de novos animais de companhia / exóticos e consultas ao domicílio, sob tutoria do Mestre João Martinho Cláudio, num horário das 9h-13h e das 16h-20h de quarta a sexta-feira e aos sábados entre as 9-13h.

No acompanhamento das consultas, sob orientação médico-veterinária, o aluno realizou exames de estado-geral, administração de medicamentos (oral, subcutânea, intramuscular e endovenosa), realização de pensos, limpezas e desinfecções de feridas, controlos de suturas, entre outros atos médico veterinários.

No início da consulta, foi dada liberdade ao estudante para contactar com os tutores, realizando a anamnese do paciente e explicando os métodos de vacinação e profilaxia mais adequados ao animal. Posteriormente, foram discutidos com o médico veterinário responsável, os diagnósticos diferenciais possíveis, exames complementares e terapêutica a ser administrada.

No laboratório da clínica, o estudante realizou vários exames complementares de diagnóstico, como hemogramas, bioquímicas e coprologias, recorrendo aos métodos de esfregaço direto, flutuações (método de Willis), sedimentações e o método de Baermann. Também foram realizadas, pelo estagiário, punções aspirativas por agulha fina (PAAF) para pesquisa de células neoplásicas, citologias de sedimento urinário para visualização de cristalúria e esfregaços sanguíneos em gota fresca para pesquisa de hemoparasitas e microfilárias.

Nas consultas de dermatologia, foi permitido ao estudante realizar citologias cutâneas e auriculares, efetuando posteriormente a coloração das amostras com o método de *diff-quick*, para pesquisa de parasitas cutâneos, infeções bacterianas, infeções fúngicas. Também foram realizados pelo aluno tricogramas para observação de alterações dos pêlos.

No internamento, o estudante monitorizou os pacientes, colocou cateteres, preparou e administrou medicação oral e injetável, realizou colheitas de amostras sanguíneas e realizou a monitorização da glicémia para posterior criação das curvas de glicémia em animais diabéticos.

No departamento de imagiologia, o estudante auxiliou na realização de radiografias, ecografias abdominais e ecocardiogramas, tendo sido observadas, alterações na válvula mitral, neoplasias em diferentes órgãos, patologias do trato urinário e pesquisa de corpos estranhos.

Na área cirúrgica, o estudante participou na preparação do paciente e na decisão do plano anestésico mais adequado, intubações e monitorização anestésica. O estudante foi também ajudante do cirurgião em ovário-histerectomias, orquiectomias, cistectomias, cirurgias ortopédicas, entre outras, tendo-lhe sido dada a liberdade para realizar castrações de gato e cão, suturas cutâneas e pequenas cirurgias sob supervisão do cirurgião responsável.

Nas consultas de novos animais de companhia / exóticos, contactou com diversas espécies, como furões, chinchilas, periquitos, ratazanas domésticas, ouriço-pigmeu africano, camaleões e coelhos, tendo realizado anamneses e procedido aos respetivos exames físicos.

Nas consultas ao domicílio, realizou contenções de vários animais e participou na recolha de informações sobre os diferentes casos acompanhados, assim como administração de fármacos e colheitas de sangue e de urina.

1.2. Estágio em ambiente laboratorial

O estudante realizou o estágio laboratorial às segundas e terças-feiras, no horário das 9h às 18h, num total de 504 horas, sob a supervisão do seu orientador, Doutor David Wilson Russo Ramilo.

Durante este estágio, participou no normal funcionamento do laboratório, tendo auxiliado na receção de amostras, identificação e processamento das mesmas, e posterior armazenamento.

O estudante observou amostras de outros trabalhos laboratoriais a decorrer no mesmo período, tendo-lhe sido possível visualizar e consolidar conhecimentos sobre doenças parasitárias de animais exóticos, como aves e répteis, e outras doenças parasitárias de animais de companhia, como por exemplo casos de leishmaniose e de hemoparasitas. O estudante realizou a observação microscópica de fezes, obtidas por esfregaço direto, flutuação (método de Willis), sedimentação e pelo método de Baermann. A pesquisa de hemoparasitas foi efetuada através da observação de esfregaços sanguíneos.

A informação sobre parasitismo externo foi consolidada através da observação de citologias de penas, de escamas e cutâneas de animais exóticos e domésticos.

O Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias também proporcionou a realização de necrópsias para a pesquisa de parasitas em cadáveres, tendo sido dada a oportunidade ao estudante de observar a realização das mesmas, incluindo um pelicano, três coelhos, um porco-da-índia e um camaleão. O processamento das amostras obtidas durante as necrópsias, foram realizadas através de sedimentações, para pesquisa de trematodes e cestodes, e flutuações (método de Willis), para pesquisa de ovos de nematodes gastrointestinais e oocistos de coccídias, e a montagem dos parasitas encontrados por decantação do conteúdo gastrointestinal entre lâmina e lamela, para posterior observação microscópica. Foram também realizadas raspagens cutâneas e colheita de penas para pesquisa de ectoparasitas.

O estudante realizou também a montagem de exemplares de trombiculídeos para o seu trabalho laboratorial, entre lâmina e lamela, usando como esclarecedor o meio de Hoyer. Posteriormente, realizou a medição de várias estruturas dos ácaros estudados, para depois os comparar com valores tabelados e identificar, até à espécie, os exemplares recolhidos em ambiente clínico.

2. Introdução ao estudo experimental

Uma das principais causas da ida dos tutores a uma consulta médico-veterinária são os problemas dermatológicos dos seus animais de companhia (Scott 2001). Entre estes, várias afeções podem ser mencionadas, sendo a principal causa dos mesmos os problemas associados a lesões parasitárias, seguindo-se as causas alérgicas, problemas nutricionais, hormonais, infeções fúngicas e, por fim, as doenças autoimunes (Sekaran et al. 2018).

A identificação da causa do problema dermatológico do animal, pode ser um processo árduo e moroso, devido à panóplia de afeções com sinais clínicos semelhantes. As lesões parasitárias, ocorrem frequentemente, em locais idênticos a outras afeções, como por exemplo, a dermatite atópica, com sinais clínicos e localizações similares. Desta forma, as doenças parasitárias devem ser incluídas na lista de diagnósticos diferenciais, por forma a se chegar à origem do problema e se proceder a um tratamento correto das lesões, com consequente eliminação dos sinais clínicos, que o animal apresenta (Small et al. 2009).

Algumas doenças zoonóticas, provocadas por vírus, parasitas e bactérias, podem estar presentes nos nossos animais de companhia, sendo facilmente transmitidas ao Homem através de vetores. Esta transferência de bactérias, vírus ou parasitas de animais para o homem, apresenta-se atualmente facilitada, devido ao aumento de contacto entre os tutores e os seus animais de companhia. A realização de mais estudos, sobre as vias de transmissão de doenças e formas de prevenção, tornou-se fundamental para a diminuição destas vias de transmissão e redução do número de casos no homem, por forma a evitar pandemias e dispersão destas doenças (Santibáñez 2015).

Os trombiculídeos são ácaros que podem transmitir agentes patogénicos, como a bactéria *Orientia tsutsugamushi*, causadora da doença de Tsutsugamushi, uma doença zoonótica relevante em saúde pública, endémica de regiões Asiáticas e das ilhas do Pacífico, mais especificamente numa zona denominada triângulo de Tsutsugamushi (Santibáñez 2015). Os trombiculídeos são também potenciais vetores de *Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi*, *Rickettsia* spp, *Bartonella tamiae*, entre outras, sendo necessários mais estudos para avaliar o papel destes ácaros na transmissão destes agentes patogénicos (Fernandez-Soto et al. 2001; Santibáñez 2015; Choi et al. 2018; Kapen et al. 2004).

A identificação das formas larvares dos trombiculídeos é muitas vezes subdiagnosticada, pelo facto de os Médicos Veterinários não se encontrarem alerta para a parasitose, falta de informação e pelos sinais clínicos semelhantes com outras patologias. Alguns animais apresentam uma reação inflamatória intensa ao processo de alimentação das formas larvares mesmo com um baixo número de parasitas, tornando por vezes difícil a visualização de um pequeno número de ácaros (Santibáñez 2015).

A identificação taxonómica das formas larvares de trombiculídeos, requer a utilização de chaves de identificação complexas, levando, por vezes, à incorreta classificação dos ácaros (Ramilo et al. 2019).

O facto do nosso país apresentar diferentes condições de relevo e clima, com a presença de territórios urbanos e rurais contíguos, contribui para que diversas espécies de trombiculídeos completem o seu ciclo de vida, com possíveis variações consoante as regiões. Os estudos relativos à presença de ácaros trombiculídeos em cães e gatos de Portugal Continental, assim como os sinais clínicos associados à parasitose, e os estudos sobre a eficácia terapêutica de antiparasitários contra estes ácaros são escassos. Foi a pouca informação disponível no nosso país relativamente aos aspetos referidos que levaram à realização deste trabalho experimental.

3. Revisão bibliográfica

3.1. Classificação taxonómica

A classificação taxonómica da família Trombiculidae, segundo o site Fauna Europaea (2020), é a seguinte:

Reino: **Animalia**

Filo: **Arthropoda**

Subfilo: **Chelicerata**

Classe: **Arachnida**

Subclasse: **Acarina**

Superordem: **Acariformes**

Ordem: **Prostigmata**

Superfamília: **Trombidoidea**

Família: **Trombiculidae**

Família: **Leeuwenhoeekiidae**

A primeira descrição de ácaros desta família remota ao ano de 1758, no Suriname, por Linnaeus, que descreveu uma espécie de ácaro que se encontrava nas plantações de batata-doce, dando-lhe posteriormente o nome de *Acarus batatas*. O primeiro trombiculídeo descrito a parasitar humanos foi *Acarus autumnalis*, atualmente denominado *Neotrombicula autumnalis*, no ano de 1790, na Europa, por Shawn (Brennant and Goff, 1977).

Atualmente, dentro da Superfamília Trombidoidea, encontramos várias famílias, destacando-se duas pela sua importância médico-veterinária: Trombiculidae (Ewing, 1929, 1931) e Leeuwenhoeekiidae (Vercammen-Grandjean, 1968; Langson, 1976). Dentro da família Trombiculidae podemos mencionar a subfamília Trombiculinae (Wharton, 1947) e dentro da família Leeuwenhoeekiidae podemos encontrar as subfamílias Leeuwenhoekinae e Apoloniinae (Vercammen-Grandjean, 1968; Langson, 1976).

Na Península Ibérica, até ao momento, foram observadas e identificadas as seguintes espécies de trombiculídeos (Tabela 1):

Tabela 1-- Espécies de trombiculídeos reportados na Península Ibérica (Stekolnikov et al. 2014, 2016)

Espécies de trombiculídeos
<i>Blankaartia acuscutellaris</i> (Walch, 1922)
<i>Brunehaldia bulgarica</i> Vercammen-Grandjean & Kolebinova, 1966
<i>Cheladonta ikaoensis</i> (Sasa, Sawada, Kano, Hayashi & Kumada, 1951)
<i>Cheladonta pannonica</i> (Kepka, 1956)
<i>Ericotrombidium hasei</i> (Feider, 1958)
<i>Ericotrombidium ibericense</i> Vercammen-Grandjean & Langston, 1976
<i>Ericotrombidium geloti</i> (Taufflieb, Mouchet & Courtois, 1972)
<i>Euschoengastia xerothermobia</i> (Willmann, 1942)
<i>Helenicula olsufjevi</i> (Schluger, 1955)
<i>Hirsutiella billabeta</i> Moraza & Stekolnikov, 2006
<i>Hirsutiella zachvatkini</i> (Schluger, 1948)
<i>Kepkatrombicula desaleri</i> (Methlagl, 1928)
<i>Leptotrombidium europaeum</i> (Daniel et Brelich, 1959)
<i>Leptotrombidium silvaticum</i> Hushcha et Schluger, 1967
<i>Neotrombicula autumnalis</i> (Shaw, 1790)
<i>Neotrombicula hispanica</i> Kepka, 1960
<i>Neotrombicula inopinata</i> (Oudemans, 1909)
<i>Neotrombicula japónica</i> (Tanaka, Kaiwa, Teramura & Kagaya, 1930)
<i>Neotrombicula jordana</i> Moraza et Stekolnikov, 2006
<i>Neotrombicula talmiensi</i> (Schluger, 1955)
<i>Neotrombicula vulgaris</i> (Schluger, 1955)
<i>Neotrombicula zachvatkini</i> (Schluger, 1948)
<i>Schoutedenichia dipodilli</i> Vercammen-Grandjean, 1958
<i>Schoutedenichia krampitzi</i> (Willmann, 1955)
<i>Straelensia cynotis</i> Fain and Le Net, 2000
<i>Trombicula toldti</i> (Winkler, 1955)
<i>Xinjiangsha tarda</i> (Schluger, 1957)

Em Portugal Continental, estão descritas quatro espécies de trombiculídeos capazes de parasitar cães e gatos: *Neotrombicula autumnalis*, *N. inopinata*, *Ericotrombidium ibericense* e *Straelensia cynotis*.

Apesar de não terem sido encontradas publicações científicas sobre *N. autumnalis* no nosso país, ela é a espécie mais abundante na Europa, tendo sido já referida a sua presença na Península Ibérica (Santibáñez, 2015) (Tabela 1).

A espécie *N. inopinata* foi descrita na região de Lisboa em gatos, não existindo, até à data, publicações a demonstrar que esta espécie possa parasitar canídeos no nosso país (Ramilo et al 2019).

A espécie *S. cynotis* foi descrita num cão, na região norte de Portugal, não estando ainda descrita em gatos, no nosso país, apesar de já ter sido reportada em outros países Europeus (Seixas et al. 2006).

A espécie *E. ibericense*, por sua vez, foi identificada num felídeo na região de Paço de Arcos, não existindo, até à data, a descrição deste ácaro em cães.

3.2. Morfologia do parasita

Estão descritas mais de 3000 espécies de trombiculídeos, dos quais 20 já foram reportadas em seres humanos. Esta ampla variedade de espécies, torna a identificação de trombiculídeos até esse nível taxonómico, um processo complexo, implicando uma medição exaustiva de várias estruturas morfológicas (Santibáñez 2015).

Os trombiculídeos são ácaros com uma coloração alaranjada, cujas formas larvares podem apresentar dimensões entre 200 µm a mais de 1 mm, após o seu processo de alimentação nos hospedeiros (Mullen and OChoner 2019). Os estádios larvares apresentam três pares de patas, ao contrário das restantes fases do seu ciclo de vida, que apresentam quatro pares.

A família Trombiculidae é caracterizada pela presença de um escudo dorsal queratinizado, cuja forma e dimensões variam consoante a espécie observada, possuindo entre 4 a 7 cerdas tácteis e um par de sensilhas. As quelíceras dos ácaros desta família apresentam lâminas móveis na extremidade anterior, sendo fixas na sua extremidade posterior. O palpo é caracterizado pela presença de cerdas em quantidade variável no tarsus, normalmente em número de 6 ou 7. No idiossoma do parasita, existem cerdas organizadas em linhas e em número variável consoante a espécie de trombiculídeo (Shatrov and Kudryashova 2008).

A primeira chave de identificação de trombiculídeos foi criada por Womersley e Heaslip (1943), que juntaram um vasto conjunto de critérios, incluindo a medição de várias estruturas anatómicas, como o escudo do parasita, patas, número de sensilhas e cerdas dorsais e ventrais (Goff et al.1982).

A estrutura do ácaro pode se dividir em 2 partes: o gnatossoma, constituído pelos palpos e pelas quelíceras, situando-se na porção anterior ao sulco circumcapitular, e o idiossoma, que se situa posteriormente a esse sulco (Figura 1).

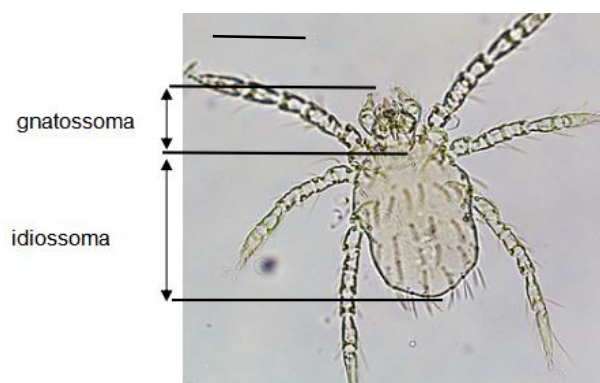


Figura 1-Idiossoma e gnatossoma de um ácaro da espécie *Ericotrombidium ibericense* – Escala 100 μ m

Esta parte do corpo do ácaro pode ser dividida em duas zonas – o podossoma, onde se incluem as inserções das patas, e o opistossoma, região mais posterior do corpo (Goff et al. 1982)

3.2.1. Escudo

O escudo, uma estrutura escleretizada situada em posição anterodorsal no idiossoma do ácaro, pode apresentar várias formas: pentagonal, subpentagonal, hexagonal, subhexagonal ou semicircular. É possível identificar uma projeção na região anteromediana do mesmo em algumas subfamílias, como Leeuwenhoeikiinae e Apoloniinae, denominada nasus (Goff et al. 1982).

As medições do escudo auxiliam a identificação do parasita através da comparação com dimensões tabeladas. Os cálculos horizontais caracterizam-se pela realização da medição da distância entre as cerdas anterolaterais do escudo (AW), a distância entre as cerdas posterolaterais (PW) e a medição da distância entre as sensilhas (SB) (Figura 2). As medições verticais caracterizam-se pelo cálculo da distância entre a sensilha e o extremo anterior do escudo (ASB), a distância entre a sensilha e o extremo posterior do escudo (PSB) e a distância entre a cerda posterolateral e a margem posterior do escudo (P-PL) (Goff et al. 1982). Também é realizada a medição entre as cerdas posterolateral (PW) e as cerdas anterolaterais (AW), como se pode observar na Figura 2, de forma, a se calcular a largura do escudo (Stekolnikov 2018).

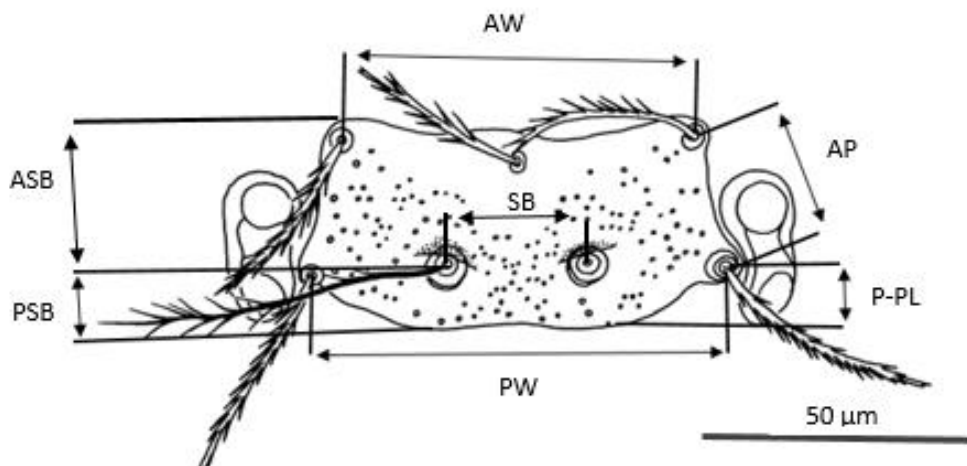


Figura 2-Representação esquemática das medições do escudo dos trombiculídeos- AW- Distância entre as cerdas anterolaterais, PW - Distância entre as cerdas posterolaterais, ASB- Altura entre a base da sensilha e a cerda anterolateral, PSB - Distância entre a base e o extremo posterior do escudo, SB- Distância entre as sensilhas, AP- Distância entre a cerda anteolateral e posterolateral, P-PL- Distância entre a cerda posterolateral e a margem posterior do escudo - Adaptado de Stelkonikov 2018

3.2.2. Cerdas e sensilhas do escudo

As cerdas são projeções semelhantes a pelos que surgem no tegumento do ácaro. Estas estruturas podem apresentar-se de variadíssimas formas, possuindo ou não ramificações nas suas extremidades. No escudo dos ácaros da família Trombiculidae existe um par de sensilhas e 4 a 7 cerdas, que apresentam funções mecanorreceptoras.

A medição das cerdas do escudo é um passo fundamental para a identificação da espécie do parasita. Para isso, é indispensável a realização da medição da cerda anteromedial (AM), anterolateral (AL), posterolateral (PL) e da sensilha (S) (Stekolnikov 2018; Sungvornyothin et al. 2019) (Figura 3).

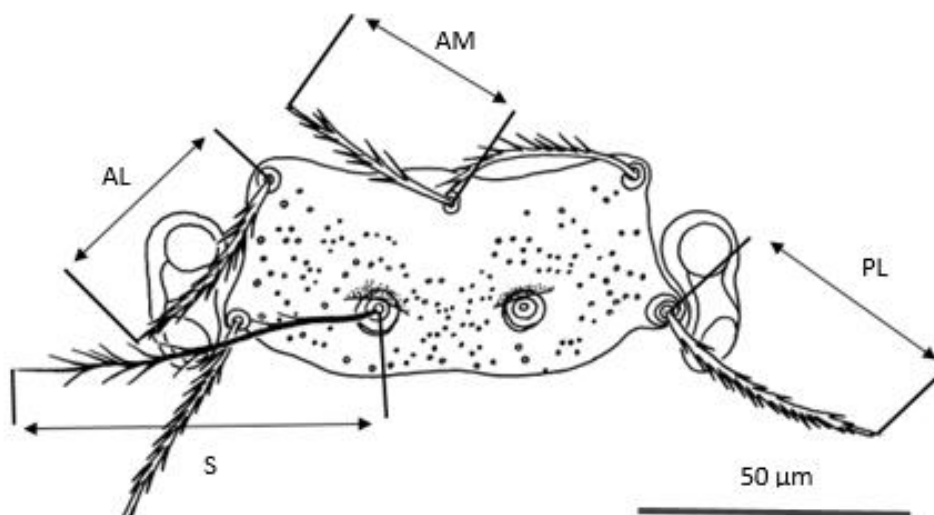


Figura 3-Representação esquemática das medições das cerdas e sensilhas do escudo. AM- Comprimento da cerda anteromedial, AL- Comprimento da cerda anterolateral, PL- Comprimento da cerda posterolateral, S- Sensilha. Adaptado de Stelkonikov, 2018.

As sensilhas, cerdas sensoriais especializadas, surgem aos pares na região medial do escudo. Estas apresentam várias formas, podendo ser flageliformes ou expandidas. As sensilhas flageliformes podem ser ramificadas, com barbas ou lisas. As sensilhas expandidas podem ser mais ou menos globosas consoante a espécie em causa (Figura 4) (Goff et al. 1982).



Figura 4-Tipos de sensilhas de trombiculídeos. A - Sensilha flageliforme lisa, B - Sensilhas flageliformes ramificadas, C - Sensilhas expandidas. Adaptado de Goff et al. 1982.

No idiossoma do ácaro são contabilizados o número de cerdas dorsais e ventrais, bem como a sua distribuição e localização. A presença ou ausência de cerda umeral na posição imediatamente posterior ao escudo, anterior à primeira fila de cerdas do idiossoma, é outro

critério de distinção das espécies de trombiculídeos. Estas cerdas são organizadas segundo formulas, da região anterior para a região posterior, onde se contabilizam o número total destes órgãos sensoriais em cada fila. Um exemplo duma formula de organização das cerdas do idiossoma dorsal é a seguinte: 2H-8-6-6-4-2-2, que representa a distribuição das cerdas do idiossoma de *E. ibericense* (Goff et al. 1982, Stekolnikov et al. 2016).

3.2.3. Quelíceras

As quelíceras são um par de apêndices pré-orais de pequenas dimensões, que apresentam como função o corte da pele dos hospedeiros. A sua extremidade posterior é fixa, mas a extremidade anterior apresenta uma lâmina móvel com dentes em posição dorsal, lateral e/ou ventral, que podem ser simples, tridentados ou multidentados (Figura 5) (Goff et al. 1982).

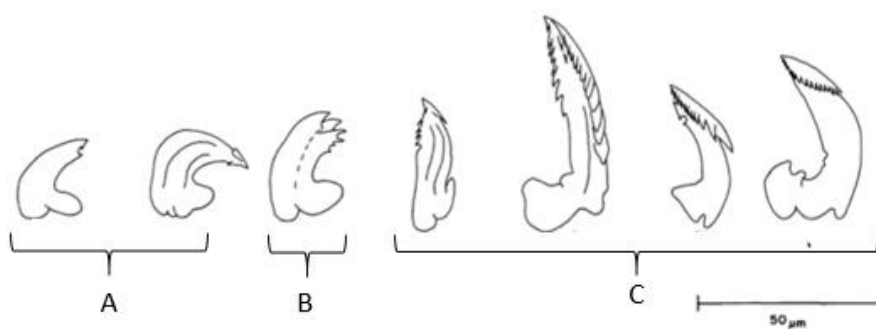


Figura 5-Representação das extremidades anteriores das quelíceras dos trombiculídeos; A - Lâmina da quelícera simples; B - Lâmina tridentada; C - Lâminas polidentadas. Goff et al. 1982

3.2.4. Palpos

Nos trombiculídeos, os palpos estão localizados no gnatossoma e são formados por 4 segmentos, que se denominam da região posterior para a região anterior: fémur, genu, tíbia e tarsos (Figura 6) (Stekolnikov 2018).

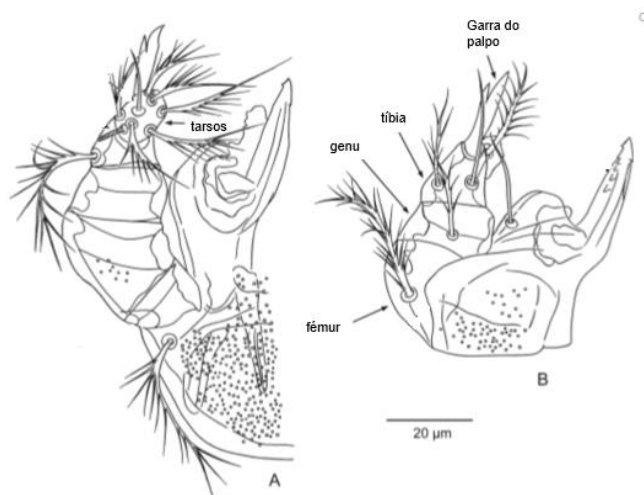


Figura 6-Esquema das estruturas visualizadas no palpo. Vista ventral (A) e dorsal (B). Adaptado de Stekolnikov, 2018.

Na extremidade distal da tíbia surge uma projeção denominada garra do palpo, podendo esta ser simples, bidentada, tridentada ou polidentada (Figura 7) (Goff et al. 1982).

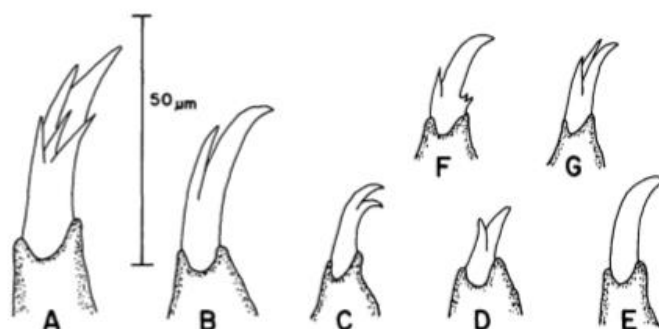


Figura 7-- Representação esquemática do tipo de garras do palpo. A – Garra polidentada; B, C, D - Garras bidentadas; E - Garra simples; F, G - Garras tridentadas. Adaptado de Goff et al. 1982.

3.2.5. Olhos

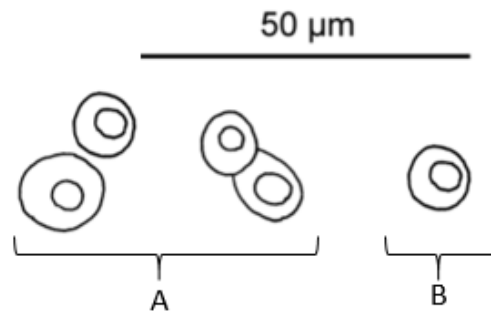


Figura 8- Representação dos tipos de olhos dos trombiculídeos. A - Olhos duplos; B - Olhos simples. Adaptado de Stelkolnikov 2018.

Os olhos são estruturas sensíveis à luz ambiente, que se localizam em posição lateral ao escudo (Goff et al.1982). Apresentam-se frequentemente em número par, numa placa esclerotizada, que pode ser ou não fundida com o escudo. Existem dois tipos de olhos em trombiculídeos: duplos e simples (Figura 8). Em algumas famílias, como na família Marcandea, não são encontradas estas estruturas sensitivas (Stekolnikov 2018).

3.2.6. Patas

Na grande maioria das espécies de trombiculídeos as patas são formadas por 7 segmentos denominados da região mediana para a região distal do ácaro: coxa, trocânter, basifemur, telofemur, genu, tíbia e tarso (Figura 9).

Na subfamília Leeuwenhoeikiinae e em algumas espécies da subfamília Trombiculinae as patas são constituídas por apenas 6 segmentos, devido ao facto do basifemur e do telofemur se encontrarem fundidos (Goff et al. 1982).

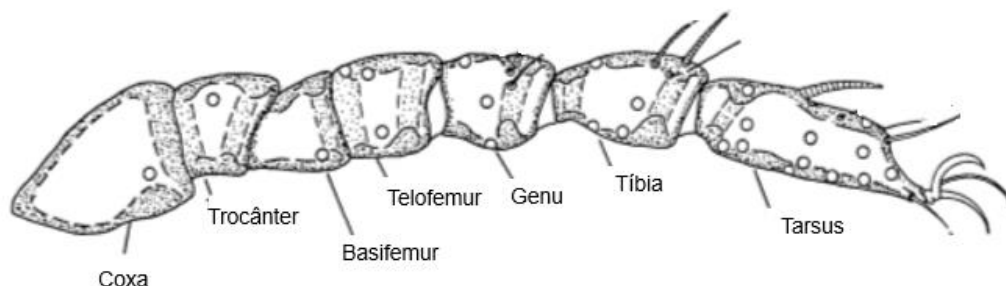


Figura 9-Representação esquemática das patas dos trombiculídeos. Adaptado de Goff et al.1982

3.3. Caracterização morfológica das espécies de trombiculídeos descritas em Portugal Continental

3.3.1. *Ericotrombidium ibericense*

A espécie *E. ibericense* é caracterizada pela presença de 7 cerdas no tarso do palpo e uma lâmina tridentada. A espécie apresenta um escudo retangular com olhos duplos separados do mesmo e com sensilhas flageliformes ramificadas na extremidade distal (Figura 10).

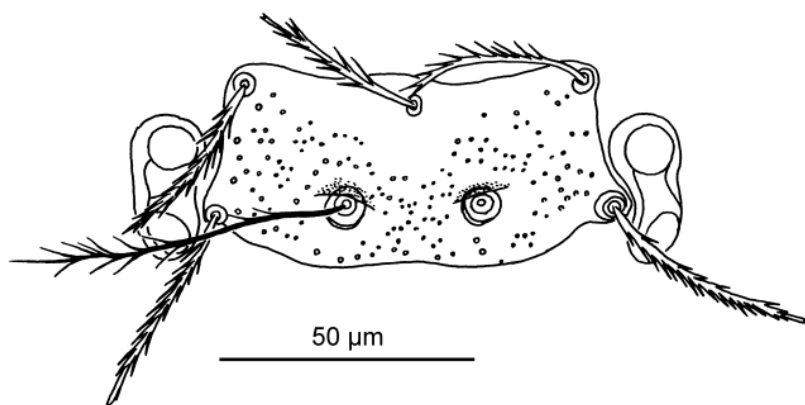


Figura 10- Escudo do género *Ericotrombidium*. Stekolnikov 2016

As cerdas do idiossoma da espécie estão organizadas segundo a fórmula 2H-8-6-6-4-2-2, apresentando um total de 30 cerdas na região dorsal. No idiossoma existem 24 cerdas, com organizações variáveis.

No nosso país, o parasita foi previamente identificado num felídeo que habitava na região de Paço de Arcos. Este animal apresentava um elevado número de trombiculídeos nas regiões interdigitais, com uma maior concentração de indivíduos nas zonas envolventes às garras. O animal apresentava lesões alopecicas e um nível elevado de prurido, não tendo sido encontrado eritema associado à lesão parasitária (Stekolnikov et al. 2016).

Até a data da realização desta dissertação não se encontravam relatados casos deste parasita em cães a nível mundial.

3.3.2. *Neotrombicula autumnalis*

A espécie *N. autumnalis* é caracterizada pela presença de 7 cerdas no tarso do palpo, e uma lâmina tridentada. O escudo apresenta uma forma semicircular, sensilhas flageliformes ramificadas na extremidade e olhos duplos separados do mesmo (Figura 11).

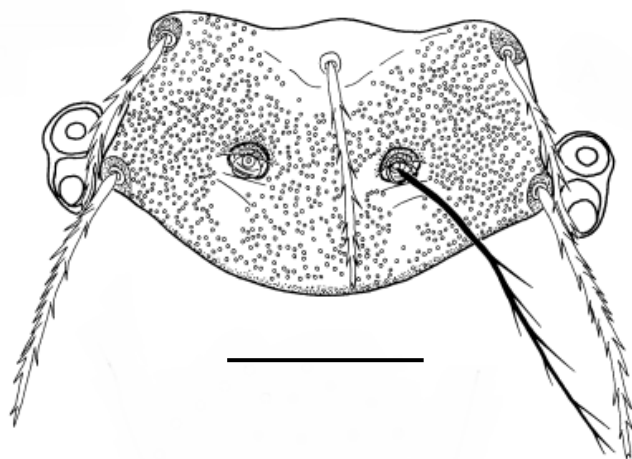


Figura 11-- Escudo do género *Neotrombicula*. Escala: 30 µm. Stekolnikov 2012.

As cerdas do idiossoma dorsal da espécie estão organizadas segundo a formula 2H-6-6-6-4-4(6) -2, apresentando, no total, entre 26 e 33 cerdas.

Apesar de não terem sido encontradas publicações científicas sobre esta espécie em Portugal, esta está descrita a parasitar cães e gatos por toda a Europa, existindo vários casos reportados na Península Ibérica (Santibáñez 2015).

As localizações mais frequentes das formas larvares são os pavilhões auriculares, particularmente as bolsas marginais cutâneas, sendo também afetados o pescoço, pálpebras, lábios, região abdominal, região inguinal, região interocular, membros e regiões interdigitais (Leone et al. 2013).

Esta espécie nem sempre provoca lesões cutâneas nos animais parasitados, estando descrito na literatura que apenas um quarto dos indivíduos afetados apresentavam eritema, crostas, pústulas ou escoriações (Leone et al. 2013).

3.3.3. *Neotrombicula inopinata*

A espécie *N. inopinata* é caracterizada pela presença de 7 cerdas no tarso do palpo e uma lâmina tridentada. O seu escudo tem uma forma semicircular com olhos duplos separados do mesmo, tal como em *N. autumnalis* (Figura 11).

As sensilhas da espécie são ramificadas nas suas extremidades, estando as cerdas do idiossoma dorsal organizadas segundo a fórmula 2H-(8-9) -(8-9) -(7-8) -6-4-2 num total de 37 a 40 cerdas. A principal diferença entre as espécies *N. inopinata* e *N. autumnalis* são as duas primeiras filas de cerdas do ácaro, onde a espécie *N. inopinata* apresenta oito ou nove cerdas e a espécie *N. autumnalis* apresenta seis cerdas apenas.

Esta espécie foi relatada por Ramilo et al. (2019) em dois gatos na região de Lisboa, estando as formas larvares localizadas na cabeça, pescoço, pavilhões auriculares e abdómen. Os autores também referiram a existência de pequenas crostas, tendo os animais prurido nessas mesmas regiões.

Até à data, esta espécie ainda não foi descrita em cães no nosso país, apesar de a mesma já ter sido descrita neste hospedeiro, noutros países europeus (Ramilo et al. 2019).

3.3.4. *Straelensia cynotis*

A espécie *S. cynotis* é caracterizada pela presença de um escudo subpentagonal, mais largo que comprido, com a presença de um nasus em posição mediana. O palpo da espécie apresenta duas lâminas tridentadas, com um tarso composto por seis cerdas e olhos pares com um diâmetro de 6 a 8,5 µm (Fain and Le Net, 2001) (Figura 12).

As sensilhas e cerdas do escudo apresentam uma ramificação abundante, característica do género (Fain and Le Net, 2001) (Figura 12).

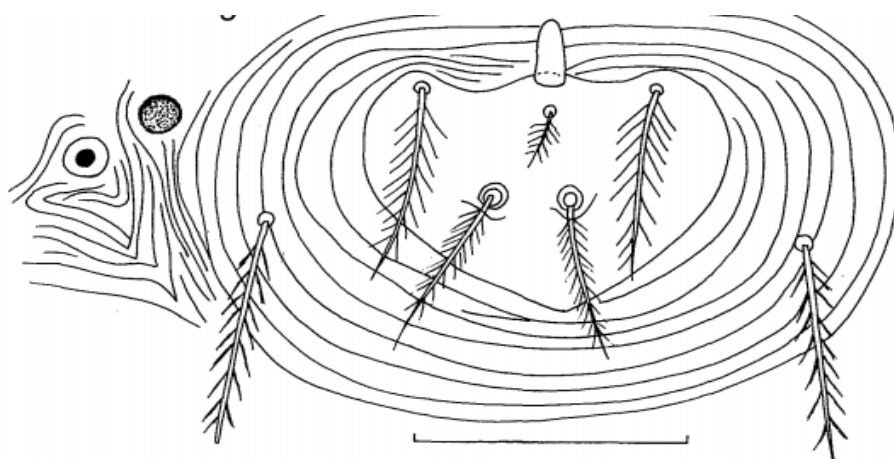


Figura 12-Escudo da espécie *Straelensia cynotis*. Escala: 50 µm . Fain and Le Net 2001

O idiossoma desta espécie apresenta estriações ligeiras, sendo as suas cerdas longas e ramificadas. As cerdas do idiossoma dorsal estão organizadas segundo a formula 5-3-7-5-4(5)-4(3)- 5-3, sendo mais frequente a presença de 34 cerdas no total.

Esta espécie foi identificada pela primeira vez no nosso país por Seixas et al. (2006) num cão que apresentava uma dermatite pruriginosa intensa no dorso e na cabeça, estando menos afetado na zona abdominal e no tórax. O animal apresentava alopecias, pele eritematosa nas zonas das lesões, crostas e pápulas ao longo do corpo. A identificação dos ácaros foi realizada através de biopsia cutânea uma vez que os ácaros se encontram em quistos intradérmicos.

Apesar de, até à data, não estarem descritos casos de *S. cynotis* em gatos no nosso país, esta espécie já foi previamente descrita a parasitar felídeos (Kaufmann et al. 2015).

3.4. Ciclo de vida

O ciclo de vida dos trombiculídeos apresenta 7 estádios de desenvolvimento: ovo, deutovum, larva, protoninfa, deutoninfa, tritoninfa e adulto. A duração do ciclo de vida destes ácaros é variável, indo de 2 meses até mais de 1 ano (Muller and OChoner 2019). As formas

larvares já foram encontradas numa grande variedade de hospedeiros vertebrados, incluindo mamíferos (Ramilo et al., 2019), insetos (Stekolnikov et al. 2019), aves (Kaluz et al. 2016), reptéis (Rubio and Simonetti 2009) e anfíbios (Mendez et al. 2010).

As larvas, após o seu processo de alimentação nos hospedeiros, caem para o solo onde os estádios pós-larvares habitam, alimentando-se de artrópodes e dos seus ovos. Desta forma, apenas as formas larvares são consideradas parasitas, devido a serem as únicas que se alimentam em hospedeiros vertebrados (Santibáñez et al. 2015).

A maior parte das espécies de trombiculídeos apresentam apenas um ciclo de vida por ano, geralmente numa estação específica, variável consoante a espécie de trombiculídeo em causa. Por exemplo, as formas larvares da espécie *N. autumnalis* são mais abundantes no final do verão, início do outono, apesar de poderem serem encontradas no inverno e primavera em locais de clima ameno, devido ao facto da maioria das fêmeas adultas realizarem a sua ovoposição no solo durante a primavera e o verão (Ramilo et al. 2019; Leone et al. 2013). Este fenómeno ocorre devido ao ácaro apresentar fases quiescentes durante o seu desenvolvimento, nomeadamente nas fases de ovo, larva, deutoninfa e adulto e também uma vez que esta última fase de desenvolvimento consegue sobreviver por longos períodos no meio ambiente (Santibáñez 2015; Bowman 2013). (Figura 13).

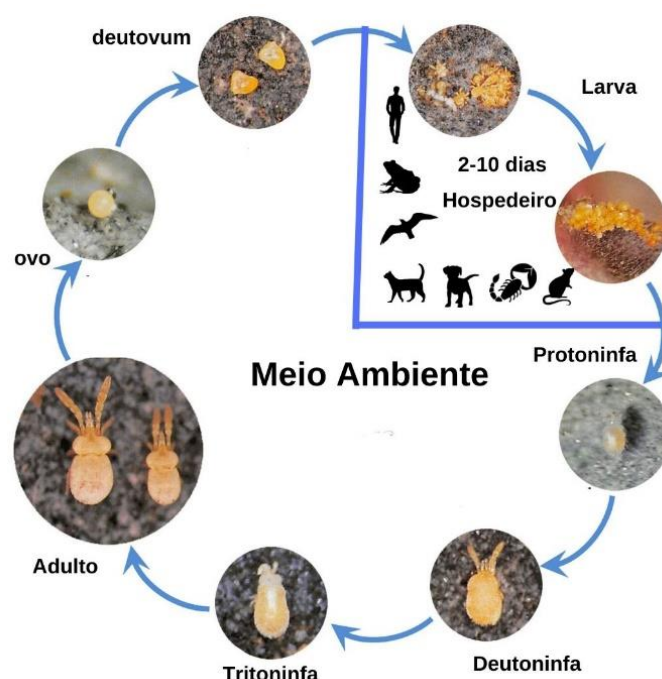


Figura 13-Ciclo de vida dos Trombiculídeos - Adaptado de Santibáñez et al. 2015

Os trombiculídeos na sua fase de ninfa e adulto habitam, preferencialmente, em solos neutros a ligeiramente alcalinos, húmidos e cobertos com vegetação rasteira. Por sua vez, as

fêmeas adultas preferem realizar a sua oviposição em solos secos e bem drenados, também cobertos com vegetação rasteira (Santibáñez et al. 2015).

As formas larvares apresentam uma temperatura ótima de desenvolvimento entre os 25 a 30 °C e uma humidade relativa de cerca de 80%, sendo as temperaturas referidas as ideais para a eclosão dos ovos e para o seu desenvolvimento até a formação da larva (Santibáñez et al. 2015). Apesar desta preferência de habitats, a família Trombiculidae é também flexível, apresentando uma grande capacidade de adaptação a diferentes temperaturas, vegetações, variações de pH e características do solo, existindo descrições destes ácaros, incluindo as suas formas larvares, a habitar áreas urbanas, ambientes rurais e florestas (Caputo et al. 2018).

Quando a abundância de hospedeiros no local é baixa, as formas larvares juntam-se em aglomerações bem definidas denominadas “ilhas parasitárias”, onde se podem encontrar trombiculídeos em números elevados. Este fenómeno ocorre devido ao facto de as formas larvares não se deslocarem mais do que alguns metros dos locais onde eclodiram e com a finalidade de provocar um aumento da superfície de contacto das larvas com o animal, levando a que um maior número de ácaros tenha a possibilidade de se fixar no hospedeiro (Santibáñez et al. 2015).

A família Trombiculidae apresenta um par de quelíceras de pequenas dimensões que dificultam o seu processo de alimentação quando realizado por um único trombiculídeo; como adaptação, os ácaros preferem alimentar-se nos chamados “poços de alimentação” comuns, uma vez que um maior número destes ácaros facilita o processo de corte da epiderme do hospedeiro (Santibáñez 2015).

3.4.1. Método de alimentação das larvas

Quando parasitam o animal, as formas larvares cortam a pele do hospedeiro com o auxílio das quelíceras, inserindo-as juntamente com o hipostoma na ferida que causam. No hospedeiro ocorre, em seguida, uma resposta imunitária fraca com chamada de eosinófilos ao local, que formam um cone eosinófilico na proximidade do hipostoma e das quelíceras do ácaro, por reacção às secreções salivares libertadas na epiderme. Posteriormente, este cone solidifica rapidamente, fixando o trombiculídeo ao animal, finalizando-se o processo de formação do estilostoma do ácaro (Shatrov et al. 2009) (Figura 14).



Figura 14- Estilostoma de um ácaro da espécie *N.inopinata*. A - Hipostoma, B - Cone eosinofílico. Observado com uma objetiva de 200X.

O método de alimentação da larva provoca uma resposta imunológica variável no hospedeiro, existindo animais que apresentam uma reação muito ligeira, principalmente em primeiros contactos com o ácaro, e aqueles que pelo contrário podem desenvolver uma reação mais exuberante. Estas últimas tendem a estar associadas a situações de infestações sucessivas (Santibáñez 2015).

O ácaro liberta enzimas proteolíticas na pele do hospedeiro, que formam uma cavidade alimentar (“poço de alimentação”) constituída por células epiteliais derivadas da pele e linfoides, derivadas da linfa, provocando, também, uma dilatação dos vasos sanguíneos circundantes. Nestes locais, e uma vez fixo, o ácaro ingere linfa e células cutâneas previamente digeridas (Santibáñez 2015; Shatrov et al. 2009; Caputo et al. 2018).

Nas regiões envolventes ao estilostoma, encontram-se frequentemente tecido necrótico e leucócitos, podendo também ser encontradas crostas na superfície cutânea do hospedeiro (Caputo et al. 2018).

Algumas espécies de trombiculídeos alimentam-se no interior da pele do hospedeiro, como na espécie *S. cynotis*, que formam várias cavidades na derme com alterações nas estruturas envolventes. Nestes casos o período de alimentação das larvas pode ser de várias semanas a meses, ao contrário do que ocorre na maioria das espécies, em que o período de alimentação é significativamente mais curto (entre 3 e 6 dias) (Caputo et al. 2018; Seixas et al. 2006).

Durante o processo de alimentação, em alguns mamíferos e anfíbios, o estilostoma dos trombiculídeos pode prolongar-se para o exterior da pele dos hospedeiros formando uma cápsula hialina. Esta adaptação ocorre principalmente quando os trombiculídeos se alimentam na derme, como forma de se fixarem e protegerem de agressões externas. No local

ocorre uma reação inflamatória mais intensa, associada a edema e quistos, que pode predispor a infecções secundárias (Shatrov and Kudryashova 2008).

Ainda durante o seu período de alimentação, os trombiculídeos aumentam as suas dimensões entre 250 µm a 750 µm, alterando a sua cor de laranja para amarelo pálido (Caputo et al. 2018).

3.5. Patogenia e resposta imunitária do hospedeiro

A resposta imunitária do hospedeiro é determinada por diversos fatores, como a localização das formas larvares, lesões cutâneas predisponentes, a densidade da infestação e o contacto prévio com formas larvares (Santibáñez 2015).

A reação inflamatória varia consoante a espécie de trombiculídeo em causa, podendo esta ser de ligeira a exuberante, dependendo do local de alimentação do ácaro. Quando a alimentação ocorre na derme do hospedeiro, como acontece na espécie *S. cynotis*, a reação imunitária é muito mais exuberante em comparação a trombiculídeos que se alimentam na epiderme (Seixas et al. 2006).

O tamanho do estilostoma do ácaro também influencia a reação dérmica do hospedeiro, estando descritas reações mais exuberantes em espécies com o estilostoma mais longo, como ocorre no género *Leptotrombidium* (Hase et al. 1978).

As infestações repetidas podem aumentar a reação dérmica que ocorre no hospedeiro vertebrado, tendo esta evidência sido testada por Shatov (2009), através de infestações repetidas com larvas de *Eutrombicula cinnabaris* em comparação com animais que apresentaram a parasitose pela primeira vez.

3.6. Sinais Clínicos

A trombiculose é uma doença parasitária que apresenta uma ampla variedade de sinais clínicos. Macroscopicamente, as lesões são caracterizadas por apresentarem pequenos pontos de coloração alaranjada nas zonas afetadas, devido ao facto de as larvas serem visíveis à vista desarmada (ESCCAP 2018).

Os animais infetados apresentam uma escala variável de prurido, podendo uma infestação com um grande número de trombiculídeos não provocar lesões, nem prurido associado ou, pelo contrário, animais infestados com um pequeno número de ácaros demonstrarem níveis de prurido elevado (Schöler et al. 2006). Em alguns casos o prurido só se inicia quando ocorre uma infeção secundária tanto por bactérias, e/ou, leveduras como malassezia, que podem provocar pústulas que são facilmente identificadas nos animais afetados (ESCCAP 2018).

Nos animais de companhia, as lesões encontradas com maior frequência são: escoriações, eritema, erosões, pápulas, crostas, alopecia e vesículas em infeções que se encontram na superfície cutânea do hospedeiro, como ocorre, por exemplo, nas infeções por

N. autumnalis, *N. inopinata* e *E. Ibericense* (Ramilo et al. 2019; ESCCAP 2018; Stekolnikov et al. 2016).

Um estudo realizado no Reino Unido verificou-se que as lesões provocadas por trombiculídeos eram responsáveis por 1,4% dos casos de lesões dermatológicas em canídeos domésticos, tendo-se também constatado no mesmo estudo que, no caso dos felídeos domésticos, estes ácaros apenas eram responsáveis por 0,6% dos casos de lesões dermatológicas nesta espécie (Hill et al. 2006).

A parasitose também já foi associada a quadros digestivos ou neurológicos, com os animais afetados a apresentarem diarreia, alterações comportamentais e ataxia. Na literatura também se encontraram descritos casos de conjuntivite provocados por estes ácaros, tendo sido associados aos locais de alimentação das larvas perto do globo ocular do hospedeiro, que provocaram irritação nas zonas adjacentes (Santibáñez 2015; Santibáñez et al. 2020; Parcell et al. 2013).

Nas regiões do Este da Inglaterra, existe uma doença, denominada *seasonal canine illness*, que apresenta um início agudo, cerca de 24 a 72 horas após passeios em locais campestres, desta região. A doença provoca quadros clínicos de vômito intenso, diarreia, letargia, anorexia, tremores e febre em cães, estando descrita mesmo a morte de alguns deles. A síndrome ocorre entre os meses de agosto e novembro, o que coincide com os períodos de atividade descritos para as formas larvares de *N. autumnalis* na região. Apesar da sua causa ainda não se encontrar esclarecida, pois são possíveis outros diagnósticos diferenciais como a ingestão de plantas exóticas, fungos, venenos, plantas tóxicas ou infeção por *Tritrichomonas foetus*, os trombiculídeos surgem como uma forte suspeita de serem a causa da doença na região (McGarry et al. 2012).

Em Espanha foram também reportados nove cães com sinais clínicos muito semelhantes aos ocorridos em Inglaterra durante a época da *seasonal canine illness*, tendo sido colhidos ácaros da espécie *N. inopinata* nestes animais, podendo esta espécie ser também uma causa possível para doença anteriormente descrita (Apesteguía et al. 2019).

O diagnóstico de lesões provocadas por trombiculídeos é principalmente realizado em consultas de dermatologia em que a principal queixa por parte dos tutores é o prurido, sendo que apenas alguns descrevem que o seu animal apresenta pequenas granulações de coloração alaranjada ao longo do corpo. O diagnóstico de casos de trombiculose, ocorre também, frequentemente, por descoberta acidental, durante a realização do exame de estado geral em consultas de vacinação ou de rotina (Leone et al. 2013).

No caso de animais infetados com formas larvares que se alimentam na derme do hospedeiro, como no caso da espécie *S. cynotis*, as lesões assemelham-se a lesões quísticas,

frequentemente numerosas, hemorrágicas e pigmentadas. Em casos de infeções severas, os animais podem apresentar-se letárgicos e com anorexia concomitante (Guaguére et al. 2008).

3.7. Localização das lesões

A localização das lesões está associada ao ciclo de vida do parasita, sendo as zonas corporais com maior contacto com o solo aquelas onde mais frequentemente se encontram os ácaros trombiculídeos (Apesteguía et al. 2019). Nos animais domésticos, os locais mais frequentemente afetados são: o pavilhão auricular externo, particularmente nas bolsas marginais cutâneas ou bolsas de Henry, o pescoço, as pálpebras, os lábios, a região abdominal, a região inguinal, a região interocular, os membros e regiões interdigitais (Ramilo et al. 2019; Leone et al. 2013).

O facto dos ácaros se encontrarem na maioria dos casos em pequeno número e localizações definidas, faz com que esta parasitose possa ser facilmente confundida com outras doenças causadoras de prurido, como a dermatite atópica canina, devido às localizações idênticas e sinais clínicos semelhantes, devendo esta doença ser incluída no diagnóstico diferencial em cães com lesões pruriginosas (Figura 15) (Small et al. 2004).

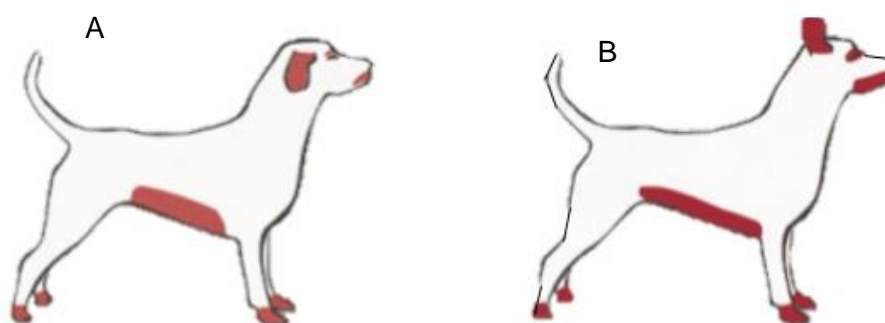


Figura 15-Localização das lesões de dermatite por *Neotrombicula* (A) e comparação com as lesões de dermatite atópica (B)- Small et al. 2004

Quando a doença é causada pelo ácaro *S. cynotis*, para além das localizações atrás descritas, outras zonas também são frequentemente afetadas, como a região dorsal, pescoço, face, dorso, região lombossagrada e a região lateral e medial dos membros (Guaguére et al. 2008).

3.8. Diagnóstico

O diagnóstico de casos de trombiculose, baseia-se principalmente na observação microscópica e macroscópica de lesões, associada à história pregressa e aos sinais clínicos do animal. As larvas apresentam uma dimensão de até 1 mm quando totalmente ingurgitadas, permitindo a sua fácil visualização à vista desarmada durante o exame físico (ESCCAP 2018).

A observação microscópica de raspagens cutâneas e de amostras de trombiculídeos, usando o método da fita-cola ou a sua extração com o auxílio de pinças, permitem o

diagnóstico definitivo da parasitose, através da observação da forma larvar destes ácaros. A visualização das formas larvares pode também ser realizada diretamente no paciente, através da utilização do dermatoscópio, sendo necessária uma posterior observação dos trombiculídeos recolhidos, ao microscópio para uma correta identificação (Scott et al. 2001, Meo et al. 2017).

O diagnóstico de lesões causadas por *S. cynotis*, é realizado através de raspagem profunda ou biópsia cutânea, uma vez que o parasita se encontra na derme. Nestas zonas podem observar-se folículos pilosos dilatados com estruturas quísticas nas regiões envolventes com larvas no interior. Estas lesões estão frequentemente associadas a hiperplasia pseudoepiteliomatosa, em que o estroma se apresenta com uma elevada quantidade de mucina e pequenos focos de necrose nas proximidades das peças bucais do parasita. A derme do hospedeiro apresenta ectasia vascular, fibrose, linfócitos e sinais de dermatite perivascular. Em redor dos folículos pilosos afetados são encontrados um número abundante de células mononucleares, devido a infiltração por plasma, mastócitos e alguns neutrófilos. A superfície cutânea do hospedeiro apresenta-se, frequentemente, hiperplásica, com hiperqueratose e crostas (Seixas et al. 2006; Kaufmann et al. 2015).

3.9. Tratamento

Na literatura consultada, não foram encontradas especialidades farmacêuticas autorizadas, para o tratamento desta parasitose em animais de companhia. No entanto, vários estudos referem que a utilização de piretrinas e piretróides, lactonas macrocíclicas, fenilpirazóis e análogos da hormona juvenil são eficazes na eliminação do ácaro, apesar das reinfestações dos animais serem frequentes (ESCCAP 2018, Leone et al. 2013).

3.9.1. Piretrinas e piretróides

As piretrinas são compostos inseticidas extraídos da flor da planta *Tanacetum cinerariifolium* (Crisântemo) (Boland and Angles 2010). Quando expostas ao ar, luz ou calor, as piretrinas tendem a quebrar as suas ligações químicas com facilidade (Boland and Angles 2010; Anadón et al 2009).

Os piretróides são análogos sintéticos das piretrinas, criados com a finalidade de aumentar a estabilidade, o espectro de ação e o tempo de semi-vida destes inseticidas. Podem ser classificados em piretróides do tipo I ou tipo II (Ensley and Gupta 2018).

Tanto as piretrinas como os piretróides afetam a atividade dos canais de sódio, resultando num estado de hiperexcitabilidade celular (Haworth and Smart 2012). No entanto, o mecanismo de ação varia consoante se trata de um piretróide tipo I ou tipo II. Os piretróides do tipo I, como a permetrina, ligam-se aos canais de sódio e prolongam, de forma reversível, a condutância de sódio; diminuem ainda a condutância do potássio, levando a descargas nervosas repetitivas. Os piretróides do tipo II, como a cipermetrina, causam um

prolongamento no tempo de abertura dos canais de sódio, aumentando o número destes íons que entram para as células (Linnett 2008).

Alguns estudos demonstram que a utilização da associação permetrina e piroxifeno apresentam resultados positivos no controlo e eliminação de trombiculídeos em cães infetados (Small et al. 2009).

3.9.2. Lactonas macrocíclicas

3.9.2.1. Ivermectina

A ivermectina é uma lactona macrocíclica extraída de culturas de *Streptomyces avermitilis*. É considerada um antiparasitário de largo espectro, podendo ser utilizada como antiparasitário externo e interno (Sharun et al., 2019).

O seu modo de ação consiste na abertura dos canais de cloro ligados ao ácido gama-aminobutírico (GABA) e ao glutamato, provocando um aumento dos níveis de íons cloro no interior das células, com consequente paralisia dos músculos faríngeos e estomáticos do parasita (Ozdemir 2019; Sharun et al. 2019; Taylor 2001).

O tratamentos com ivermectina em vários esquemas posológicos, estão descritos como eficazes no tratamento de infeções por trombiculídeos, que se alimentam na superfície cutânea do hospedeiro, devido a serem atingidas concentrações terapêuticas na linfa e nos tecidos (Net et al. 2002). Este tratamento também pode ser utilizado no controlo de infeções por *S. cynotis* através da administração da substância durante longos períodos, uma vez que a cura clínica só ocorre 6 a 12 meses após o início da terapêutica (ESCCAP 2018).

3.9.2.2. Moxidectina

A moxidectina, um derivado da nemadectina, é um antiparasitário que atua contra uma ampla gama de parasitas internos e externos, devido ao facto de ser uma lactona macrocíclica de segunda geração, da família das milbemicinas. O seu mecanismo de ação consiste na abertura dos canais de cloro dependentes do GABA e glutamato, na junção pós-sináptica do parasita, induzindo um estado de repouso irreversível no ácaro, que resulta numa paralisia flácida e eventual morte quando expostos ao fármaco (Page 2008).

A associação da moxidectina com a imidaclopride, foi utilizada, em trombiculídeos, no tratamento de 8 gatos em Itália. Porém, esse estudo não descreve a eficácia terapêutica da substância, nem o número de aplicações do medicamento (Leone et al. 2013).

Outro estudo demonstrou que um cão, que apresentava prurido intenso, foi tratado, com resultados promissores, com uma associação de moxidectina e ivermectina, durante várias semanas, até ter sido atingida a eliminação completa de ácaros da espécie *S. cynotis* (Kaufmann et al.2015).

3.9.2.3. Selamectina

A selamectina é uma avermectina semissintética produzida a partir do fungo *Streptomyces avermitilis*. A molécula atua ao nível dos canais de cloro dos nervos e músculos dos parasitas, levando à entrada de um grande número de íões cloro que provoca uma despolarização nervosa podendo levar à morte do ácaro (Foley et al. 2016).

A molécula foi utilizada num estudo realizado em 8 gatos, com infestações naturais de *N. autumnalis*, com uma eficácia de 100% na eliminação destes ácaros, levando a uma redução dos sinais clínicos da doença (Leone and Albanese 2004).

Esta substância ativa foi amplamente estudada no tratamento de outras parasitoses provocadas por ácaros, tendo sido demonstrada, num ensaio clínico realizado por Six (2000), uma eficácia terapêutica superior a 95% no tratamento de *Sarcoptes scabiei* durante 30 dias e de quase 100% durante 60 dias de tratamento. Já no caso da utilização contra o ácaro *Otodectes cynotis*, observou-se uma eficácia terapêutica de cerca de 94 a 100% ao dia 30 e de 90% no 60.º dia após o tratamento, tendo a molécula apresentado resultados favoráveis na eliminação destas duas espécies de ácaros.

Um estudo realizado em 15 gatos verificou que a utilização de selamectina com intervalos de 15 dias, apresentava uma alternativa segura e eficaz no tratamento de infeções por *Cheyletiella* spp., tendo sido observada uma eliminação completa dos ácaros 60 dias após o início do tratamento (Chailleux and Paradis, 2002). Outro ensaio clínico também demonstrou a necessidade da realização de 3 ciclos de tratamentos para a eliminação completa dos ácaros nos animais testados (Chadwell et al, 2003). A molécula também se demonstrou eficaz contra *Notoedres cati* através de aplicações quinzenais ou mensais do produto (Foley et al 2016).

3.9.3. Isoxazolinas

3.9.3.1. Sarolaner

O sarolaner é um ectoparasiticida de largo espectro da classe das isoxazolinas de última geração. A substância atua provocando um bloqueio dos canais de cloro dependentes do GABA e glutamato, atuando ao nível das junções neuromusculares (Mctier et al. 2016).

A utilização da substância ativa demonstrou-se eficaz em vários ensaios clínicos no tratamento de parasitoses provocadas por ácaros. Num estudo realizado por Becksei (2016), no qual se procedeu ao tratamento de *S. scabiei* em cães, esta molécula apresentou bons resultados na eliminação do parasita, apresentando uma eliminação dos ácaros na ordem dos 77% em 14 dias e de 100% nas reavaliações aos 30.º e 60.º dias após o tratamento.

O tratamento contra *Demodex* spp. foi avaliado por Six (2016) tendo o efeito desta molécula provocado uma redução no número de ácaros na ordem dos 97% em 14 dias e de aproximadamente 99% em 29 dias após a aplicação da substância, com concomitante

redução dos sinais clínicos associados à doença em cães. Durante o segundo mês de tratamento, não foram identificados ácaros vivos nos animais tratados. O mesmo estudo verificou a eficácia terapêutica do sarolaner contra infestações de *O. cynotis*, apresentando uma redução de ácaros na ordem dos 98% com uma única administração.

Tanto quanto é do conhecimento do estudante, a substância ativa não apresenta, até à data, estudos realizados no tratamento de trombiculídeos em cães e gatos.

3.9.4. Fenilpirazóis

3.9.4.1. Fipronil

O fipronil atua interagindo com canais de cloro-ligantes que são ativados pelo neurotransmissor GABA, bloqueando a transferência dos iões cloro através da membrana celular, tanto na junção pré como pós-sináptica. Este fluxo iónico provoca alterações no sistema nervoso central do ácaro, levando a sua morte (Cadiergues et al. 2018).

A aplicação desta substância mensalmente, sob a forma de *spray*, no corpo dos animais afetados mostrou-se eficaz no tratamento de trombiculídeos. A associação de fipronil com permetrina também se demonstrou eficaz no controlo da parasitose em cães (Lecru et al. 2019). A utilização de produtos unções punctiformes (*spot-ons*) com a substância ativa, também se revelou eficaz no tratamento de casos de *N. autumnalis* em gatos (Cadiergues et al. 2018).

Nas mais recentes da ESCAAP é aconselhada a utilização da substância na forma de *spray* a cada 3-5 dias, de forma a prevenir reinfestações. O *spray* deve ser aplicado nas zonas mais frequentemente afetadas pela parasitose, como as patas e o abdómen (ESCCAP, 2018).

3.9.5. Selamectina e Sarolaner

A associação de selamectina e sarolaner é atualmente muito utilizada em animais de companhia na terapêutica duma ampla gama de parasitas externos.

A associação já apresentou uma eficácia comprovada no tratamento de lesões parasitárias provocadas por ácaros, como *O. cynotis*, tendo apresentado uma eficácia terapêutica de 99% no tratamento da parasitose em gatos. Estes antiparasitários também apresentaram resultados positivos no tratamento de *Demodex gatoi* e *S. scabiei*, com aplicações mensais do medicamento (Becskei et al. 2016a; Becskei et al. 2017b; Becskei et al. 2018; Walker 2019; Vatta et al. 2019). Não é do conhecimento do estudante qualquer referência sobre o uso desta associação no tratamento e prevenção de reinfestações por trombiculídeos.

3.9.6. Análogos da hormona juvenil

3.9.6.1. Piriproxifeno

O piriproxifeno, um análogo da hormona juvenil, atua nas formas parasitárias mantendo-as nas fases de ovo ou nos seus estádios larvares, impedindo que estes passem a pupa ou adulto (Baynes 2009).

O piriproxifeno altera a morfogénese do parasita, pelo aumento da libertação da hormona ecdisona, em vez da libertação da hormona juvenil, mantendo assim o parasita em estádios imaturos. A molécula é um larvicida, por ser o último estadio de desenvolvimento do parasita afetado (Pires 2015).

O sinergismo com as piretrinas foi testado no controlo de trombiculídeos em cães, por Small (2009), tendo sido verificado que 73% dos animais tratados não apresentavam trombiculídeos após uma toma única da associação. Os restantes animais necessitaram de uma segunda aplicação do antiparasitário, 14 dias após a primeira aplicação da substância, para uma eliminação completa dos ácaros, com redução do prurido e outros sinais clínicos associados à doença. Esta necessidade de uma segunda aplicação do produto estava relacionada com a possibilidade de os animais se reinfestarem novamente, por viverem em zonas com elevada quantidade de trombiculídeos.

3.10. Implicações para a Saúde Pública

Esta parasitose é atualmente considerada como uma dermatose sinantrópica importante em Medicina Humana. O aumento do número de casos em humanos ocorreu principalmente devido à alteração do estilo de vida das populações, do aumento das deslocações intracomunitárias e da maior quantidade de tempo passado no exterior em atividades de lazer e desportivas, em regiões campestres e urbanas com grandes quantidades de trombiculídeos (Guarneri et al 2016).

Os trombiculídeos são vetores da doença de Tsutsugamushi, uma doença zoonótica causada por uma bactéria gram-negativa, da espécie *Orientia tsutsugamushi* (Rickettsiales: Rickettsiaceae). Esta apresenta uma mortalidade média de 10%, sendo este valor variável consoante a região do globo, podendo chegar a 30%. Os roedores são os hospedeiros naturais da bactéria, sendo esta posteriormente transmitida ao ser humano por trombiculídeos, particularmente do género *Leptotrombidium*. A identificação desta espécie de trombiculídeo como hospedeiro da bactéria foi realizada através de testes moleculares e serológicos das formas larvares (Choi et al. 2019). Dentro das populações de ácaros, a bactéria é transmitida de forma transovárica e transestadial, atuando os trombiculídeos como reservatórios da doença no ambiente (Santibáñez 2015).

Esta doença é endêmica numa região denominada triângulo de Tsutsugamushi, onde se encontram localizados os países da Coreia do Sul, China, Japão, Tailândia, Indonésia, Taiwan, Filipinas e o Norte da Austrália (Santibáñez 2015; Xu et al. 2017; Choi et al. 2018).

Os sinais clínicos da doença nos humanos ocorrem uma a duas semanas após a picada do trombiculídeo infetado, originando febre alta, dores de cabeça, tosse, dores musculares, vômitos, escaras e erupções cutâneas. Em casos mais graves, pode ocorrer insuficiência renal aguda, síndrome de stress respiratório, miocardite, meningite, peritonite, pneumonia severa e choque que podem levar à morte (Choi et al. 2019).

Existem vários estudos onde foi identificado material genético de outras bactérias, vírus e parasitas no interior de trombiculídeos. A presença de RNA viral de *Hantavírus* em trombiculídeos, associado à síndrome pulmonar ou associado à febre hemorrágica epidêmica com falência renal foi demonstrado através de testes moleculares (Santibáñez 2015).

A presença de *Anaplasma phagocytophilum* em ácaros do género *Neotrombicula* foi descrita em Espanha e Itália, sabendo-se que este ácaro consegue fazer com que esta bactéria persista no meio ambiente através da transmissão transovárica (Fernandez-soto et al. 2001; Mendoza-Roldan et al. 2019). Também foi descrita a presença de *Borrelia burgdorferi*, o agente da doença de Lyme, em trombiculídeos colhidos em aves na Alemanha (Kampen et al. 2004) e em pequenos mamíferos na República Checa (Santibáñez 2015). Mendoza-Roldan (2019), recolheu ácaros da espécie *N. autumnalis* de reptéis para a deteção de *Borrelia burgdorferi*, tendo verificado que nenhum ácaro recolhido apresentava esta bactéria. Assim, este estudo conclui que a transmissão transovárica de *B. burgdorferi* nestes ácaros é reduzida, demonstrando que os trombiculídeos apresentam um papel pouco relevante na transmissão desta bactéria.

Vários géneros de riquetsias foram descritos em trombiculídeos recolhidos de roedores que habitam nas regiões de Taiwan, Coreia e Eslováquia (Choi et al 2019). A deteção de *Bartonella tamiae* no género *Leptotrombidium* foi também descrita na Tailândia (Santibáñez 2015).

Já foi igualmente referida a presença de *Coxiella burnetti*, agente da febre-Q, em trombiculídeos recolhidos em África, por Daniel (1961) e Kepta (1965).

4. Objetivos do trabalho experimental

O trabalho experimental realizado nesta dissertação teve como objetivos:

- 1- Identificar as espécies de trombiculídeos que parasitam os cães e gatos em três regiões de Portugal Continental;
- 2- Avaliar o estilo de vida do animal e a eficácia do protocolo de desparasitação utilizado neste estudo;

- 3- Determinar a influência de diversos fatores, entre eles: idade, sexo, espécie, métodos de desparasitação e coabitantes na presença de trombiculídeos em cães e gatos;
- 4- Determinar as localizações mais frequentes das formas larvares em animais de companhia e sinais clínicos associados e comparar com o já descrito na literatura;
- 5- A utilização terapêutica de uma associação de selamectina e sarolaner, no caso do tratamento da parasitose em gatos e também da utilização de sarolaner no caso dos cães.

5. Material e métodos

5.1. Zonas geográficas de recolha dos ácaros

O concelho de Santarém situa-se na margem direita do rio Tejo, a sul do Maciço Calcário Estremenho de Porto de Mós. O clima da região caracteriza-se por ser uma zona de transição entre o clima continental e o clima marítimo, por apresentar ainda alguma penetração de ar proveniente do oceano Atlântico (Câmara Municipal de Santarém 2020). Os casos clínicos desta região foram recolhidos na Clínica Veterinária São Francisco de Assis, em Santarém (39.225639 N; -8.689295 O).

As amostras recolhidas no Algarve foram provenientes de Almancil e de São Brás de Alportel, sendo ambas as regiões caracterizadas por um clima marítimo, com fortes influências do oceano Atlântico e do mar Mediterrâneo, originando climas mais amenos e com menores variações climatológicas na região, em comparação com outros locais de Portugal Continental (Ipma 2020). As amostras, foram recolhidas na Clínica Veterinária Canham, Almancil (37.08667 N; - 8.029088 O).

A região de Sintra apresenta um clima temperado mediterrâneo, do tipo oceânico. As temperaturas da região são mais amenas nas regiões mais próximas ao mar, e as regiões mais próximas da serra de Sintra, apresentam temperaturas mais baixas com maiores amplitudes térmicas (ICNF 2020). Da região de Sintra foi recolhida uma amostra no centro Veterinário de Casal de Cambra, (38.801649 N; -9.229024 O).

5.2. Amostra em estudo

Os trombiculídeos foram amostrados no período entre 19 de julho de 2018 e 21 de fevereiro de 2020, tendo sido recolhidas formas larvares em 5 cães e 18 gatos.

Todos os tutores foram informados da realização do estudo e deram o seu consentimento escrito para a inclusão dos seus animais neste projeto de dissertação de mestrado (Anexo 1). Por cada animal, foi preenchida uma “ficha do paciente” criada pelo autor para registo e organização dos dados (Anexo 1), tendo sido entregue aos proprietários um panfleto explicativo (Anexo 2), onde foram assinaladas as datas das reavaliações posteriores. Nos animais foi realizada uma anamnese cuidada, tendo sido criada uma ficha de cliente (Anexo 1), onde foram registados os dados do mesmo: estilo de vida, coabitação com outros

animais, peso e sexo, com a indicação de ser inteiro ou esterilizado. O tipo de consulta em que os casos foram encontrados, a realização de desparasitação externa, a substância utilizada e a frequência de utilização também foram anotados pelo médico veterinário responsável.

5.2.1. Critérios de inclusão no estudo

Para serem incluídos no estudo, os animais tinham de apresentar uma idade superior a 8 semanas, não tendo sido excluídos animais devido ao seu sexo, raça ou estilo de vida. Os gatos necessitavam de apresentar um peso superior a 1,250 kg e os cães um peso mínimo de 1,300 kg para se poder administrar os antiparasitários referidos nesta dissertação.

5.2.2 Critérios de exclusão no estudo

Os animais que entre as administrações do antiparasitário alterassem o seu estilo de vida e/ou os donos não se dirigissem aos CAMVs, envolvidos no projeto, não seriam incluídos nos resultados.

5.3. Sinais clínicos e localização das lesões

As zonas corporais do animal onde foram encontradas as formas parasitárias foram descritas pelo Médico Veterinário, através de registo fotográfico e escrito na ficha de cliente (Anexo 1). Estas mesmas zonas foram posteriormente assinaladas num esquema representativo do corpo do animal, para facilitar a análise dos resultados.

Os sinais clínicos foram registados na mesma ficha de cliente, tendo sido sinalizada a presença de quaisquer lesões primárias ou secundárias existentes, tais como pústulas, pápulas, eritema, alopecias, escoriações, crostas, vesículas, nódulos ou qualquer outro sinal clínico associado à parasitose, bem como o prurido associado (Anexo 3).

Nos casos em que foram encontradas formas parasitárias nas reavaliações, o seu foi número determinado e registado para posteriormente interpretação. Os sinais clínicos presentes e as localizações das lesões, também foram mencionados na ficha de cliente.

5.4. Colheita e conservação das amostras

As formas larvares obtidas dos animais incluídos no projeto, foram identificadas através de observação macroscópica. Os exemplares foram recolhidos com o auxílio de uma pinça bico de pato, juntamente com alguns pelos, para o interior de tubos *ependorf* de 1,5 ml. Os ácaros foram conservados em álcool a 70% até à sua preparação entre lâmina e lamela.

5.5. Preparação de amostras

As amostras foram preparadas no Laboratório de Parasitologia e Doenças Parasitárias da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa. Após receção das mesmas no laboratório, os ácaros foram retirados dos tubos *ependorf*, com o auxílio de uma pinça e

colocados numa placa de Petri com álcool a 70%, sendo posteriormente observados ao microscópio estereoscópico (Olympus SZ51).

Com o auxílio de duas agulhas (25G) as formas parasitárias foram separadas de pelos e crostas, sendo posteriormente transferidas para uma lâmina de vidro com uma gota de meio de Hoyer (Ramilo, 2016), que atua com esclarecedor das formas larvares do parasita, sendo colocada uma lamela sobre os parasitas. As lâminas foram identificadas com o nome do animal, a data da recolha e o local do país onde os ácaros foram recolhidos e, em seguida, foram colocadas na estufa a 37,5 °C durante 3 dias.

5.6. Observação microscópica

As preparações foram observadas com um microscópio ótico (Olympus BX50) com ampliações totais de 40x, 100x, 200x e 400x de acordo com a estrutura morfológica a visualizar. A forma do escudo, a presença ou ausência de olhos e a forma dos mesmos, o número de segmentos presentes em cada par de patas, o número de dentes do palpo, assim como a organização das cerdas dorsais e ventrais do idiossoma foram inicialmente analisados e documentados.

Em seguida foram realizadas as medições horizontais do escudo do parasita, incluindo o cálculo da distância entre as cerdas anterolaterais do escudo (AW), a distância entre as cerdas posterolaterais (PW) e a medição da distância entre as sensilhas (SB) (Figura 16).

As medições verticais do escudo do trombiculídeo efetuadas foram as seguintes: distância entre a sensilha e o extremo anterior do escudo (ASB), distância entre a sensilha e o extremo posterior do escudo (PSB) e distância entre a cerda posterolateral e a margem posterior do escudo (P-PL).

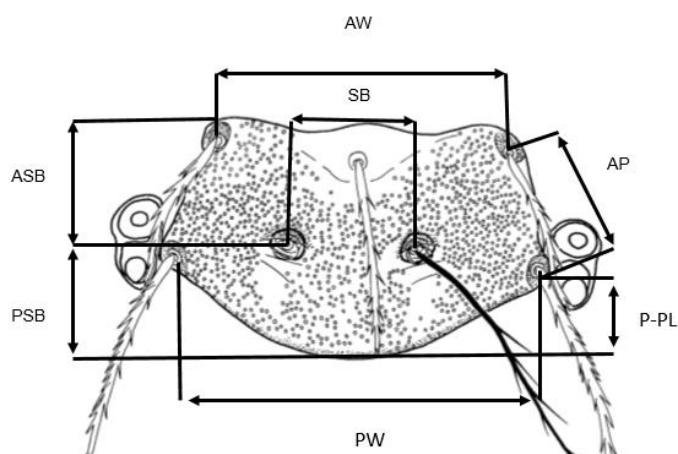


Figura 16- Representação esquemática das medições do escudo dos trombiculídeos- AW- Distância entre as cerdas anterolaterais, PW - Distância entre as cerdas posterolaterais, ASB- Altura entre a base da sensilha e a cerda anterolateral, PSB - Distância entre a base e o extremo posterior do escudo, SB- Distância entre as sensilhas, AP- Distância entre a cerda anteolateral e posterolateral, P-PL- Distância entre a cerda posterolateral e a margem posterior do escudo - Adaptado de Stelkonikov 2012.

A medição das cerdas e sensilhas do escudo é também essencial para a identificação da espécie do parasita. Nesse sentido, realizaram-se as seguintes medições: comprimento da cerda anteromedial (AM), da cerda anterolateral (AL), da cerda posterolateral (PL) e da sensilha (S) (Figura 17).

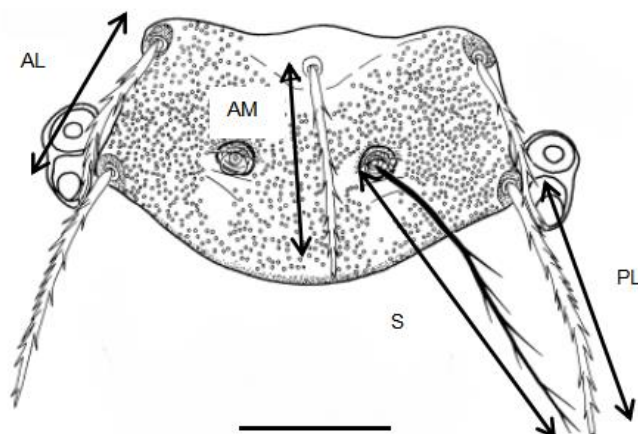


Figura 17-- Representação das medições das cerdas e sensilhas do escudo- AL- Cerda anterolateral, AM- cerda anteromediana, PL- Cerda Posterolateral, S- Sensilha- Adaptado de Stelkonikov, 2012- Escala: 30 μ m

Foram também medidos os comprimentos das patas cranial (pa), intermédia (pm) e caudal (pp) de um dos lados. Estes três comprimentos foram posteriormente somados (lp) (Figura 18).

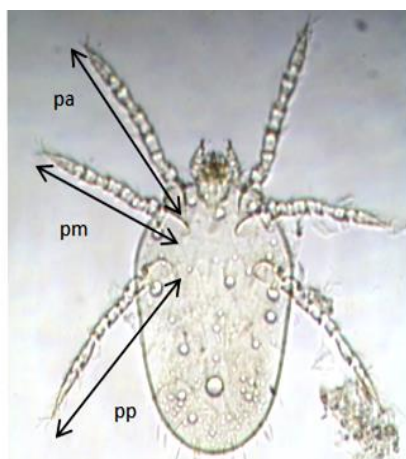


Figura 18- Representação das patas dos trombiculídeos- Observado com a objectiva de 40 X

Todas as estruturas morfológicas foram fotografadas com o auxílio da câmara Olympus DP10.

Finalmente, as amostras foram seladas com meio de Montagem DPX (Sigma-Aldrich, Merck) e colocadas na estufa durante 3 dias a 37,5 °C.

5.7. Terapêutica farmacológica

O tratamento em canídeos consistiu na administração por via oral de um comprimido mastigável de sarolaner (Simparica™, Zoetis), cuja dose por animal está compreendida entre 2 e 4 mg/kg de peso corporal (Anexo 4).

Os animais foram reavaliados 30 dias após a administração do medicamento. Por questões éticas, não foi realizado um grupo de controlo entre canídeos.

No caso dos gatos foi realizada a administração de uma unção punctiforme (tópica) contendo selamectina e sarolaner, cuja especialidade farmacêutica é denominada de Stronghold® Plus (Zoetis®), em que a dose mínima do produto por gato tratado foi de 6mg/kg de selamectina e 1mg/kg de sarolaner (Anexo 5).

A estes animais foram realizadas duas reavaliações quinzenais, tendo sido registado a presença de trombiculídeos, quinzenalmente após a primeira aplicação do tratamento. À semelhança do estudo em cães, este estudo foi realizado sem a comparação com um grupo controlo, por questões éticas.

5.8. Análise estatística

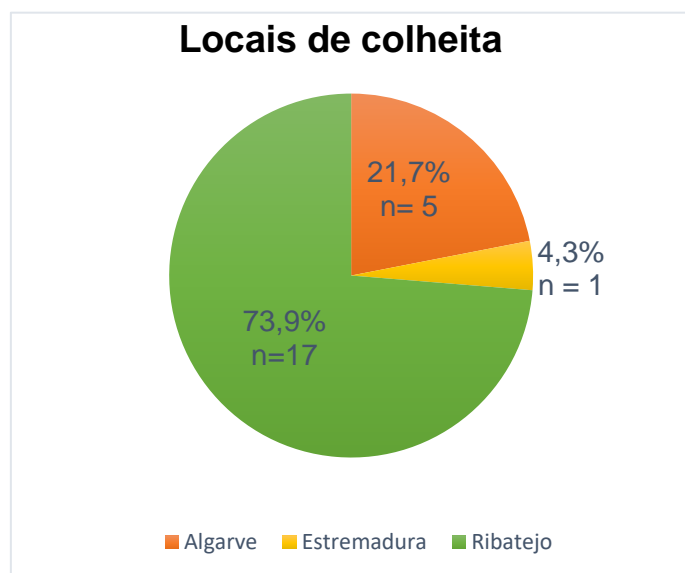
Os dados foram armazenados e analisados no software Microsoft Excel 2014® e a sua análise estatística foi realizada recorrendo à plataforma de cálculo IBM® SPSS® Statistics. Para avaliação das diferentes localizações das lesões e estilo de vida do animal foram utilizadas tabelas de frequências, gráficos circulares e de barras com os resultados obtidos.

6. Resultados

6.1. Caracterização dos locais de colheita

Durante o período de 19 de julho de 2018 a 21 de fevereiro de 2020, foram observados 23 casos de infestações por trombiculídeos, em três regiões geográficas do país distintas. A distribuição dos casos por locais de colheita está representada no Gráfico 1.

Gráfico 1--Proporção de casos por local de colheita



A localização aproximada dos locais onde os animais se infetaram por trombiculídeos na região do Ribatejo estão referidas na Figura 19. No ponto A foram recolhidas amostras de três animais, no ponto B tiveram origem quatro casos e nos pontos C e E foram recolhidas amostras em dois animais em cada um deles, sendo que, nas restantes localizações, foi recolhido apenas um caso (D, F-J).

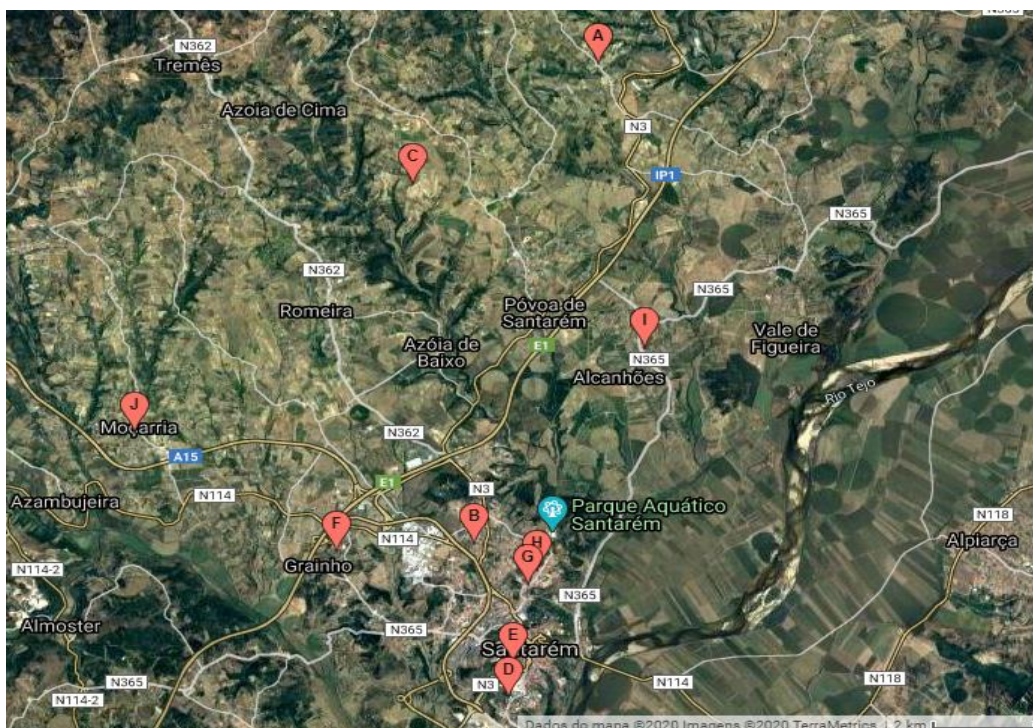


Figura 19-Localização das amostras recolhidas no distrito de Santarém.

A localização aproximada dos locais onde os animais se infetaram por trombiculídeos na região algarvia estão referidas na Figura 20. No ponto A e B foram encontrados trombiculídeos em um animal e no ponto C foram encontrados estes mesmos parasitas em

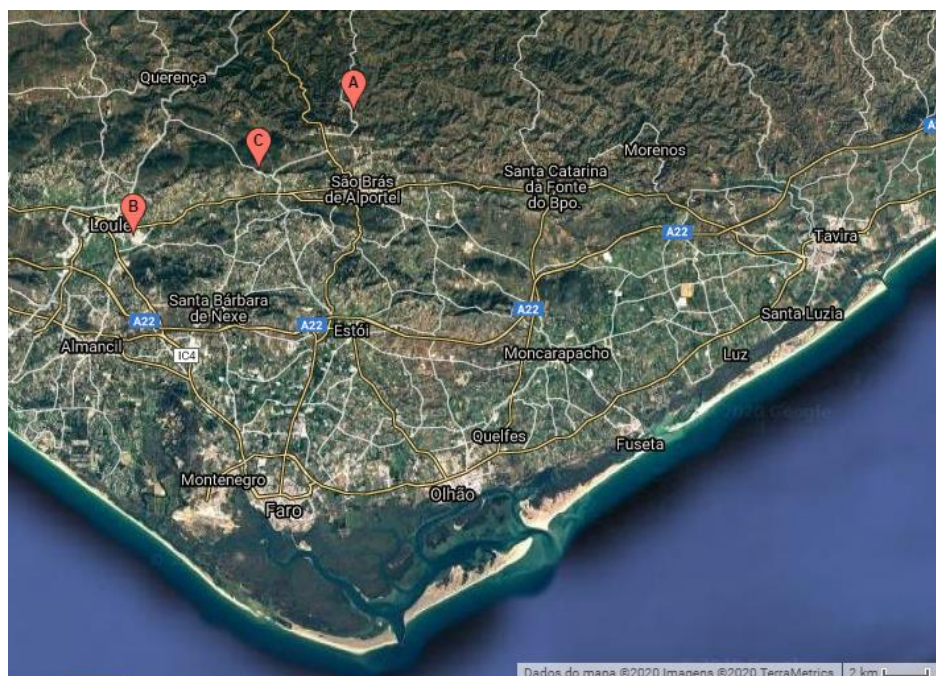


Figura 20- -Localização das amostras recolhidas no distrito de Faro três animais.

21)

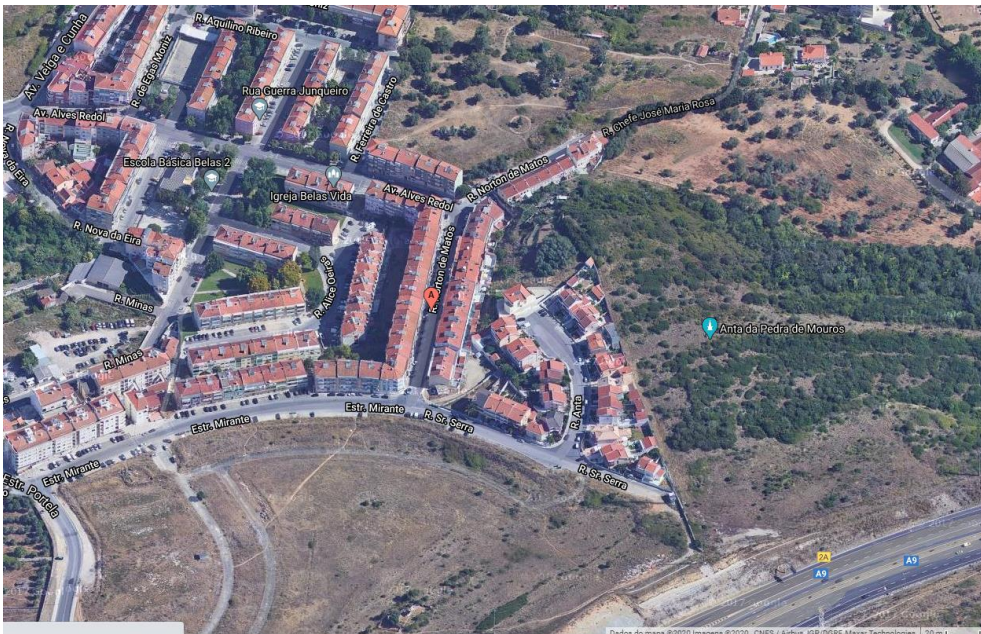


Figura 21-Localização da amostra recolhida no distrito de Sintra.

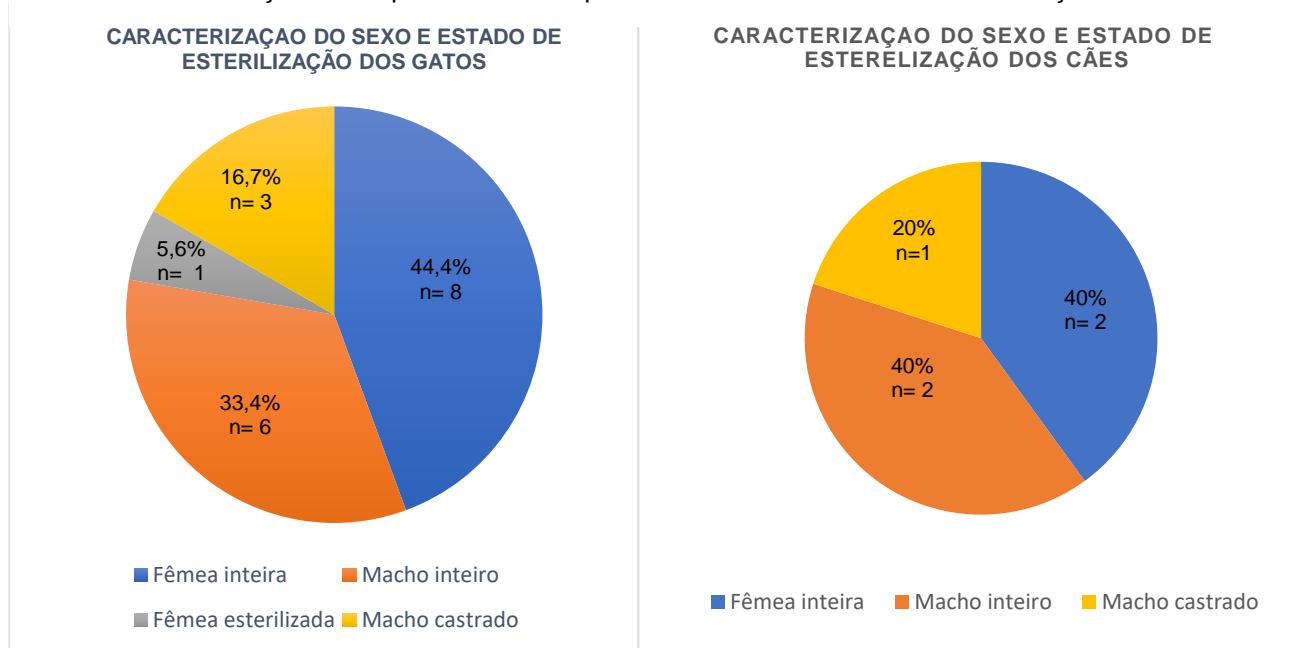
6.2. Caracterização da amostra

6.2.1. Quanto às espécies e sexos

cães.

sexo masculino. A caracterização do estado de esterilização e do sexo dos animais está representada no Gráfico 2.

Gráfico 3- Caracterização das espécies animais quanto ao sexo e ao estado de esterilização.



6.2.2. Quanto às idades

A mediana de idades nos gatos foi de 1,25 ($2,72 \pm 3,79$) anos e nos cães foi de 8,0 ($6,70 \pm 3,96$) anos.

O gato mais jovem incluído no estudo tinha 4 meses de idade e o mais velho apresentava uma idade de 10 anos. A mediana das idades das fêmeas inteiras foi de 1 ano ($1,25 \pm 0,8$) e a fêmea esterilizada incluída no estudo apresentava 10 anos de idade. Os machos inteiros apresentaram uma mediana de idades de 6 meses ($1,15 \pm 1,6$ anos) e os machos castrados apresentaram uma mediana de 6 anos ($5,88 \pm 3,47$).

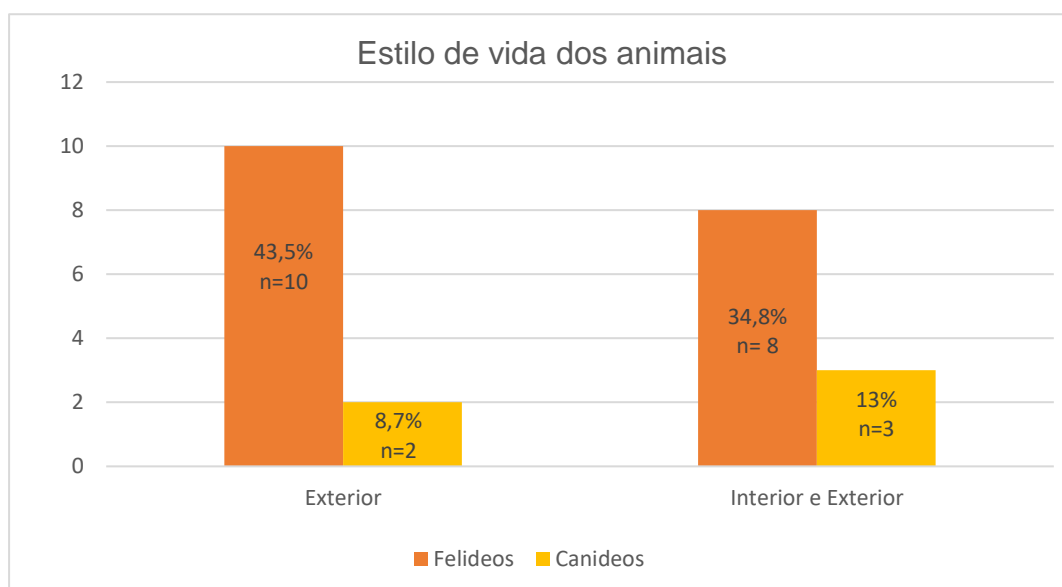
No caso dos cães, o animal mais velho tinha 10,5 anos e o animal mais jovem tinha 2 anos de idade. A mediana das idades das fêmeas inteiras foi de 5,50 anos ($5,50 \pm 3,54$), não tendo sido recolhidas amostras em fêmeas esterilizadas. A mediana das idades dos machos inteiros foi de 6,25 anos ($6,25 \pm 6,01$), sendo que o único macho castrado presente no estudo tinha 10 anos de idade.

6.2.3. Quanto ao estilo de vida

O estilo de vida dos animais incluídos no estudo está representado no Gráfico 3, tendo-se verificado que apenas foram encontrados trombiculídeos em animais que tinham acesso ao exterior.

Entre todos os animais que apresentaram trombiculídeos, verificou-se que 82,6% (19/23), viviam com outros animais e que apenas 17,4% (4/23) vivam sem coabitantes.

Gráfico 5-Estilos de vida dos animais afetados



6.2.4. Quanto à terapêutica antiparasitária

Os hábitos de desparasitação externa aplicados pelos tutores, nos seus animais, também foram aferidos através de um inquérito aquando da consulta, tendo sido verificado que 52,2% (12/23) não aplicavam qualquer tipo de desparasitante externo ao seu animal. Neste grupo incluíam-se 11 (61,1%) tutores de felídeos e um (20%) tutor de um canídeo. Os restantes 47,8% dos tutores (11/23) aplicavam desparasitantes de forma regular. Deste grupo faziam parte sete (38,9%) tutores de felídeos e quatro (80%) tutores de canídeos.

As moléculas utilizadas, assim como o número de tutores que as aplicavam como desparasitante externo, estão caracterizados na tabela 2.

Tabela 2-- Desparasitantes aplicados pelos tutores.

Substância ativa	Frequência	Percentagem
	absoluta	(%)
Imidaclopramida/Moxidectina	1	4,3
Fipronil/ Permetrina	1	4,3
Fipronil/ Metopreno	3	13
Imidaclopramida/ Flumetrina	3	13
Piriproxifeno/Dinotefurano	3	13

6.2.5. Quanto ao motivo da consulta

Os trombiculídeos foram principalmente encontrados durante a realização de preparações cirúrgicas, tendo 43,4% dos casos sido encontrados em cirurgias simples (Orquiectomias e ovário-histerectomias).

Durante a realização de exames físicos em consultas de vacinação ou de medicina geral foram encontrados trombiculídeos em oito (34,7%) animais.

Em consultas de dermatologia foram observadas as formas larvares em quatro (17,4%) animais, tendo sido o prurido a principal queixa por parte dos tutores e não a visualização das formas larvares.

A caracterização dos tipos de consultas, onde foram identificadas as formas larvares destes ácaros, estão representadas na Tabela 3.

Tabela 3-Tipo de consulta onde foram observadas as formas larvares.

Tipo de Consulta	Frequência	Percentagem (%)
	absoluta	
Orquiectomia	3	13
Ovário-histerectomia	7	30,4
Consultas de Rotina	4	17,4

Vacinação	3	13
Ecografia	1	4,3
Dermatologia	4	17,4
Tosquia e <i>Grooming</i>	1	4,3

6.2.6. Quanto aos sinais clínicos

Os sinais clínicos dos 23 animais presentes neste estudo foram registrados, estando esses dados apresentados na Tabela 4. Um dos animais (4,3%) possuía trombiculídeos no interior do pavilhão auricular, tendo este animal apresentado uma rotura de tímpano que lhe provocou alterações na marcha e na postura.

Os sinais clínicos observados em cães e gatos estão apresentados nas Tabelas 5 e 6, respetivamente.

Tabela 4-Sinais clínicos observados em cães e gatos.

Sinal Clínico	Frequência		Percentagem (%)	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Pústula	2	21	8,7	91,3
Eritema	15	8	65,2	34,8
Alopécia	5	18	21,7	78,3
Escoriação	3	20	13	87
Crosta	12	11	52,2	47,8

Tabela 5-Sinais clínicos observados em cães.

Sinal Clínico	Frequência		Percentagem (%)	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Pústula	2	3	40	60
Eritema	2	3	40	60
Alopécia	1	4	20	20
Escoriação	1	4	20	80
Crosta	4	1	80	20

Tabela 6-Sinais clínicos observados em gatos.

Sinal Clínico	Frequência		Percentagem (%)	
	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Pústula	0	18	0	100
Eritema	13	5	72,2	27,8

Alopécia	4	14	22,2	77,8
Escoriação	2	16	11,1	88,9
Crosta	8	10	44,4	55,6

6.2.7. Quanto ao nível de prurido

O grau de prurido dos animais em estudo foi registado segundo a escala de Hill (Hill et al. 2007), que organiza o grau de prurido numa escala de 0 a 10 segundo o desconforto referido pelos tutores (Anexo 3) . A diferença entre os valores desta escala foi previamente explicada aos tutores. O valor médio do prurido descrito foi de $4,5 \pm 2,4$, tendo sido verificado uma moda de 3 e uma mediana de 4. O menor valor de prurido registado foi 1, tendo sido o máximo de 9, descrito por um tutor.

O valor médio verificado nos gatos foi de $4,5 \pm 2,4$, apresentando esta espécie uma mediana de 4 e uma moda de 3.

No caso dos cães o valor médio foi de $5,7 \pm 1,2$, apresentando esta espécie uma mediana do grau de prurido de 6 e uma moda de 7.

6.2.8. Quanto à localização das lesões

As localizações onde foram observadas as formas larvares de trombiculídeos nos animais foram anotadas pelos Médicos Veterinários responsáveis, tendo sido observados trombiculídeos nos pavilhões auriculares, face, zonas interdigitais, membros, abdómen, nomeadamente em redor das glândulas mamárias e na zona da cicatriz umbilical e na cauda (Figura 22).



Figura 22- Lesões provocadas por trombiculídeos. A-Lesão no pavilhão auricular externo; B- Lesão interdigital; C- Trombiculídeos na cicatriz umbilical; D- Lesões generalizadas no abdômen; E- Lesão num membro anterior de um cão; F- Lesão localizada no abdômen de um cão; G- Trombiculídeos na vulva de uma gata; H- Trombiculídeos no escroto de um gato

A frequência absoluta e respectivas percentagens das localizações dos ácaros trombiculídeos em cães e gatos foram registadas na Tabela 7.

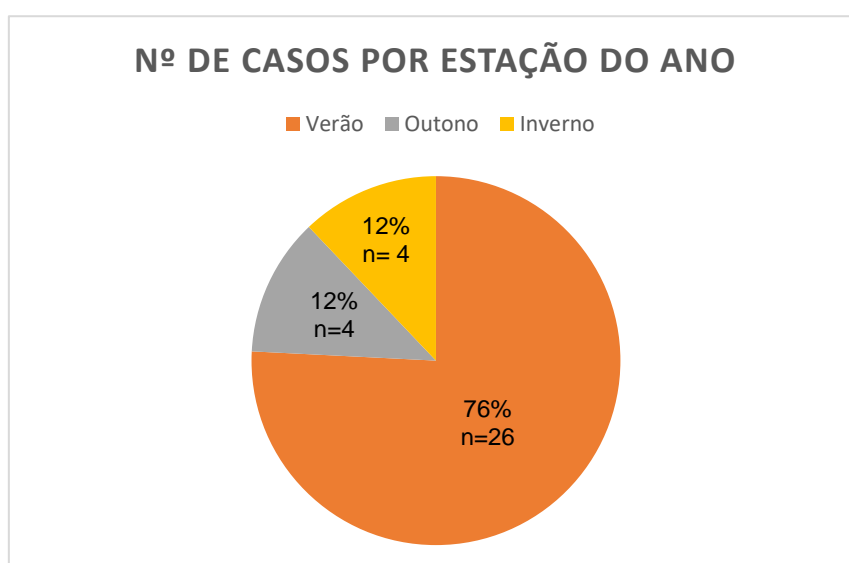
Tabela 7- Localização das lesões observadas.

Localização	Geral		Cão		Gato	
	Frequência	Percentagem	Frequência	Percentagem	Frequência	Percentagem
Pavilhão auricular	11	47,8	0	0	11	61,1
Face	4	17,4	1	20	3	16,7
Zona interdigital	15	65,2	4	80	11	61,1
Membros anteriores	12	52,2	3	60	9	50
Membros posteriores	9	39,1	2	40	7	38,9
Cicatriz umbilical	7	30,4	3	60	4	22,2
Glândulas mamárias	7	30,4	1	20	6	33,3
Cauda	5	21,7	1	20	4	22,2

6.2.9. Quanto à época do ano em que se observa o maior número de infestações

A estação do ano onde foi registado o maior número de casos foi o verão, tendo sido encontrados trombiculídeos em 3 animais no ano de 2018 e 23 em 2019. Quatro casos, foram registados no outono de 2019. No inverno foi encontrado 1 caso em 2019 e 3 casos em 2020, não tendo sido observados casos na primavera (Gráfico 4).

Gráfico 7- Casos de trombiculose detetados por estação do ano.

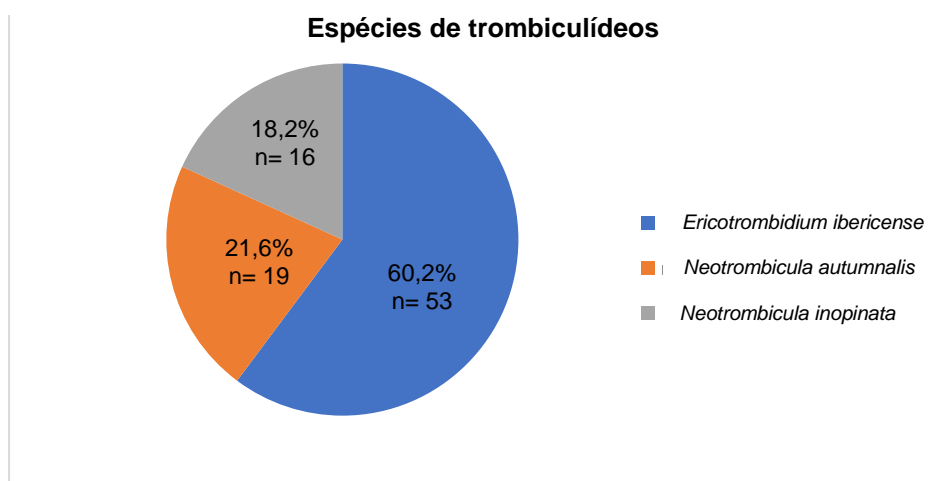


6.3. Caracterização dos trombiculídeos

Foram analisados 88 exemplares de ácaros trombiculídeos, representando uma amostra dos ácaros enviados por parte dos clínicos, tendo sido identificadas 3 espécies distintas a parasitarem animais de companhia em Portugal Continental. Cinquenta e três dos ácaros pertenciam à espécie *E. ibericense*, o que corresponde a 60,2% do total de amostras. Dos restantes exemplares (n=35, 39,8%), verificou-se que estes pertenciam ao género *Neotrombicula*. Destes, 19 (21,6%) pertenciam à espécie *N. autumnalis* e 16 (18,2 %) pertenciam à espécie *N. inopinata* (Gráfico 5).

Não foi possível identificar um ácaro devido à destruição do mesmo no momento da recolha.

Gráfico 9-Proporção das espécies de trombiculídeos analisados.



6.3.1. Caracterização da espécie *Ericotrombidium ibericense*

Cinquenta e três dos ácaros analisados possuíam um escudo retangular (Figura 23), com sensilhas flageliformes ramificadas na sua extremidade posterior; as garras do palpo eram tridentadas e os olhos eram duplos. As cerdas dorsais estavam organizadas segundo a formula 2H-8-(6-8)-(4-6)-(4-6)-2-2, apresentando um total de 28 a 30 cerdas

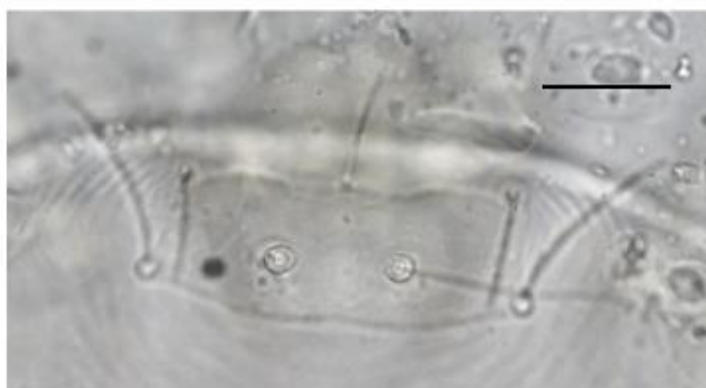


Figura 23-Escudo do ácaro *Ericotrombidium ibericense*. Escala 25µm (Foto original).

As medições realizadas no escudo, sensilhas e patas dos 53 exemplares estão referidas na Tabela 8.

Tabela 8- Medições realizadas na espécie *Ericotrombidium ibericense* (valores em μm).

	Média	Desvio	Máximo	Mínimo
	padrão			
AW	63,5	2,4	67,5	60
PW	72,8	2,5	80	67,5
SB	23,3	1,8	25	20
ASB	18,3	2,8	22,5	15
PSB	10,1	2,4	15	7,4
SD	28,5	4,5	35	22,5
P-PL	5,2	1,2	10	2,5
AP	21,7	3,3	30	17,5
AM	26,2	4,8	37,5	20
AL	25,2	5,3	37,5	12,5
PL	39	4,3	45	30
H	32,2	7,4	40	12
S	45,7	7	52,5	25
Pa	273,4	14	300	245
Pm	244,4	11,9	265	225
Pp	282,5	15,9	305	250
Ip	800,8	33,9	850	725

Todas estas características morfológicas e medições permitiram identificar estes 53 exemplares como sendo da espécie *E. ibericense*.

A forma larvar desta espécie foi encontrada durante os meses de julho, agosto e setembro, em 12 animais observados nos CAMVs envolvidos no projeto.

Nos animais parasitados por esta espécie, foi observada a presença de eritema em 75% (9/12) crostas em 50% (6/12), pústulas e escoriações em 16,6% (2/12) e alopecia num gato (8,3%).

As formas larvares foram observadas nas regiões interdigitais em 75% dos casos (9/12) e no abdômen em 58,3% (7/12). Destes últimos, cinco animais apareceram com formas larvares na região da cicatriz umbilical e nas regiões mamilares e em dois deles as lesões apenas ocorreram na zona da cicatriz umbilical.

Esta espécie surgiu em 33,3% dos casos a nível nos pavilhões auriculares (4/12).

Um caso (8,3%) foi visualizado na vulva de uma gata e outro foi observado na face de um cão.

O prurido encontrado nos animais afetados apresentou um valor médio de $4,4 \pm 1,6$, apresentando um valor máximo de 7 e um valor mínimo de 3.

6.3.2. Caracterização da espécie *Neotrombicula autumnalis*

Desta espécie foram observados 19 exemplares, tendo-se verificado em todos a presença dum escudo semicircular, com sensilhas flageliformes sem ramificação na sua extremidade posterior e olhos duplos. O gnatossoma apresentava quelíceras com garras do palpo tridentadas e tarsos com 7 cerdas (Figura 24).

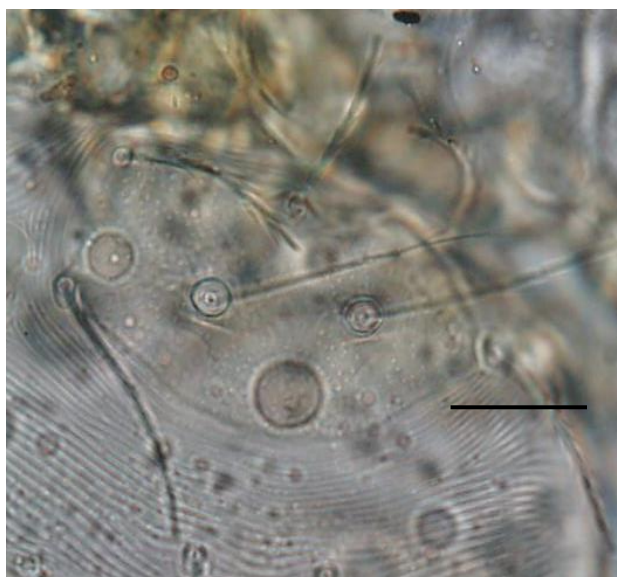


Figura 24-Escudo da espécie *Neotrombicula autumnalis* - Escala: 30µm.

Nos exemplares analisados, as cerdas dorsais estavam organizadas segundo a fórmula 2H-6-(6-8)-(4-6)-(4-6)-2-2, apresentando um total de 30 a 32 cerdas.

As medições realizadas no escudo, sensilhas e patas dos 19 exemplares analisados estão representados na Tabela 9.

Tabela 9- Medições realizadas na espécie *Neotrombicula autumnalis* (valores em µm).

	Média	Desvio padrão	Máximo	Mínimo
AW	69,2	3,4	75	62,5
PW	88,7	7,1	97,7	70
SB	32,2	1,8	35	30
ASB	27,4	3,6	35	25
PSB	30,4	5	37,5	15

SD	58	7,8	72,5	40
P-PL	22,8	5,3	30	10
AP	28,2	5,5	35	20
AM	36,2	7,2	57,5	25
AL	42	5	45	25
PL	59,5	3,3	62,5	47,5
H	50,7	11,1	62,5	30
S	67,8	9,5	80	50
Pa	272,9	6,9	282,5	260
Pm	244,4	9,8	260	230
Pp	284,7	6,1	300	280
Ip	802,1	15,9	825	775

Esta espécie foi encontrada a parasitar 7 animais durante a realização desta dissertação de mestrado, tendo os espécimes sido recolhidos nos meses de agosto e outubro.

Foi detetado eritema em 57,1% dos animais (4/7), lesões crostosas foram observadas em 28,6% dos casos (2/7) e um animal (14,3%) apresentava alopecia. Não foram verificadas a presença de escoriações e pústulas associados a esta espécie de ácaro.

Não foram observadas lesões dermatológicas em 42,9% dos animais afetados por esta espécie de trombiculídeos.

As formas larvares desta espécie foram observadas nas regiões interdigitais de 85,7% dos casos (6/7) e nos pavilhões auriculares e cauda de 57,1% dos animais (4/7).

O prurido encontrado nos animais afetados por esta espécie de ácaros apresentou um valor médio de $3,4 \pm 2,7$, apresentando um valor máximo de 8 e um valor mínimo de 1.

6.3.3. Caracterização da espécie *Neotrombicula inopinata*

O menor número de trombiculídeos recolhidos pertenciam à espécie *Neotrombicula inopinata* (N=16) e em todos os ácaros analisados foi possível observar-se um escudo em crescendo, com sensilhas flageliformes com ramificação na sua extremidade posterior, olhos duplos, gnatossoma com garras do palpo tridentadas e tarsos com 7 cerdas (Figura 25).



Figura 25- Escudo da espécie *Neotrombicula inopinata*- Escala 30µm

As cerdas dorsais dos espécimes analisados estavam organizadas segundo a fórmula 2H-8- (8 – 9) -(7 – 8) -6-4-2, apresentando um total 37 a 39 cerdas.

As medições realizadas no escudo, sensilhas e patas dos 16 exemplares desta espécie analisados estão representadas na Tabela 10.

Tabela 10- Medições realizadas na espécie *Neotrombicula inopinata* (valores em µm)

	Média	Desvio padrão	Máximo	Mínimo
AW	72,5	3	77,5	65
PW	88,8	6,4	97,5	77,5
SB	33	2,2	37,5	30
ASB	26,9	5,4	35	20
PSB	33,2	2,7	37,5	28,5
SD	60,5	8,2	70	48,5
P-PL	29,8	2,3	32,5	25
AP	29,5	6,5	45	25
AM	56,1	4,5	60	42,5
AL	43,5	3,3	50	40
PL	59,5	6,1	65	45
H	37,8	12,1	60	25

S	78,3	3,3	85	75
Pa	240,5	64,1	287,5	135
Pm	221,5	63,9	265	115
Pp	252	76,6	305	127,5
Ip	714	204,1	847,5	377,5

Esta espécie foi observada em quatro animais, tendo as amostras sido recolhidas durante os meses de dezembro, janeiro e fevereiro.

Nos animais afetados por esta espécie foi visível a presença de eritema em 50% (2/4) dos animais, crostas em 100% dos casos, lesões de alopecia foram encontradas em 3 animais (75%) e escoriações num animal (25%), não tendo sido observadas pústulas.

As formas larvares desta espécie foram localizadas na face e pavilhões auriculares em 75% dos animais (3/4) e em um animal (25%) o parasita foi detetado na cauda e na região abdominal. Nos casos observados, não foram detetados exemplares desta espécie a nível dos membros ou das zonas interdigitais.

Em dois gatos foi possível observar-se as formas larvares no interior do conduto auditivo, próximos ao tímpano dos animais, tendo um deles apresentado uma rotura de tímpano associada a estes ácaros.

O prurido encontrado nos animais afetados por esta espécie de ácaros apresentou um valor médio de $6,8 \pm 2,6$, apresentando um valor máximo de prurido de 9 e mínimo de 4.

6.4. Sucesso terapêutico dos antiparasitários utilizados no projeto

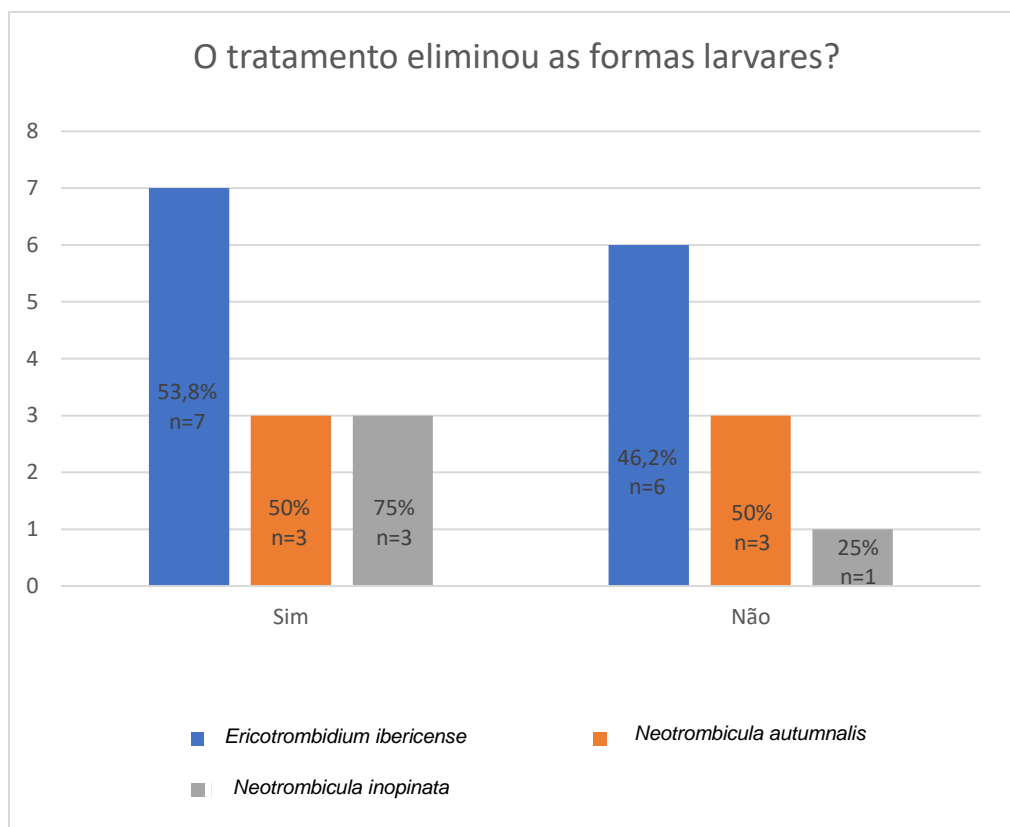
A utilização de selamectina associada a sarolaner conduziu à eliminação completa de formas larvares de trombiculídeos em 55,6% (n=10) dos gatos, 3 parasitados com a espécie *E. ibericense*, 2 com a espécie *N. autumnalis* e 3 com a espécie *N. Inopinata*, não tendo sido encontrada uma eliminação completa do ácaro com uma única aplicação em oito gatos.

A redução do número de formas larvares em felídeos ocorreu em 77,8% dos gatos, não tendo sido verificada uma alteração significativa no número de parasitas em quatro gatos, o que corresponde a 22,2% dos felídeos.

A administração do comprimido mastigável de sarolaner provocou a eliminação total das formas larvares de trombiculídeos nos cinco cães incluídos neste projeto, 4 deles parasitados com ácaros da espécie *E. ibericense* e um com a espécie *N. autumnalis*.

O sucesso terapêutico, consoante a espécie de trombiculídeo, está representada no Gráfico 6.

Gráfico 11- Eficácia das substâncias ativas consoante a espécie de trombiculídeo.



6.4.1. Caracterização dos sinais clínicos e localização das lesões na reavaliação

Quando foram realizadas as reavaliações dos animais, verificou-se que oito gatos ainda apresentavam trombiculídeos após uma administração do medicamento. Os sinais clínicos mais frequentemente apresentados foram o eritema e as crostas, tendo sido observado também um animal com alopecias (Tabela 11).

As localizações onde foram encontradas as formas larvares estão representadas na tabela 12, tendo-se verificado que as regiões mais afetadas foram as zonas interdigitais e os membros.

Tabela 11-Sinais clínicos observados durante as reavaliações.

Sinais clínicos	Frequência	Porcentagem (%)
Eritema	7	38,9
Alopécia	1	5,6
Crostas	5	27,8

Tabela 12- Localização das lesões durante as reavaliações.

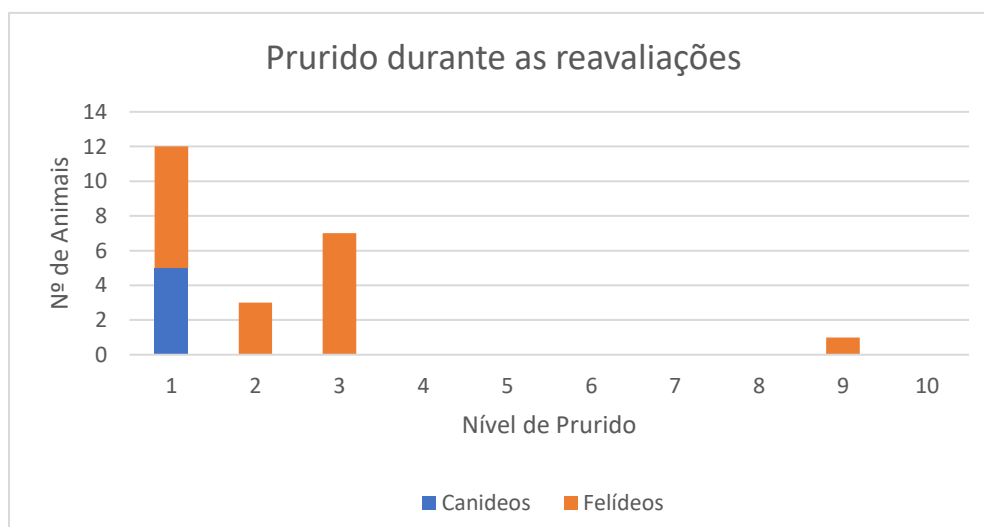
Localização da Lesão	Frequência	Porcentagem (%)
Pavilhão auricular	3	16,7
Zona interdigital	8	44,4
Membros anteriores	8	44,4
Membros posteriores	1	5,6
Cicatriz umbilical	4	22,2
Glândulas mamárias	2	11,1
Cauda	3	16,7

6.4.2. Caracterização do nível de prurido durante as reavaliações

Durante as reavaliações, o nível médio de prurido dos animais foi de 2, tendo sido encontrado um desvio padrão de 1,7. A média dos valores de prurido nos gatos foi de $2,3 \pm 1,8$; a moda foi 1 e a mediana encontrada nos gatos foi de 2.

Todos os canídeos apresentaram um nível de prurido de 1 durante as reavaliações. Os níveis de prurido descritos durante as reavaliações estão indicados no Gráfico 7

Gráfico 13-Nível de prurido dos animais nas reavaliações.



7. Discussão

7.1. Caracterização da amostra

Os trombiculídeos são parasitas de elevada importância em Medicina Humana e Veterinária, uma vez que estes podem ser transmissores de diversos agentes patogênicos (Fernández-Soto et al. 2001).

Após a revisão bibliográfica realizada pelo estudante, não foi encontrada nenhuma referência relativa à proporção de ácaros trombiculídeos nem às espécies, que afetam os

cães e gatos do nosso país. Assim, este é o primeiro levantamento feito relativamente à variedade de espécies de ácaros trombiculídeos que afetam os animais de companhia em Portugal Continental, juntamente com a descrição dos sinais clínicos mais frequentemente associados a cada espécie e a localização das lesões em cães e gatos.

Durante a realização desta dissertação de mestrado foi possível verificar que o número de casos de trombiculose em Portugal Continental, durante o período de recolhas, ocorreram predominantemente em gatos, tendo existido cerca de 6,5 vezes mais casos nesta espécie do que em cães.

Segundo Hill et al (2006), num inquérito realizado no Reino unido, os casos de trombiculose ocorreram em 1,4% dos cães e 0,6% dos gatos com lesões dermatológicas, um valor contrário ao observado neste estudo, em que o número de casos em gatos foi muito superior ao dos cães.

A variação dos dados em comparação com o estudo de Hill et al. (2006) pode ser justificada pela maior facilidade do exame dermatológico realizado em cães em comparação com os gatos e da presença de trombiculídeos nesta espécie nem sempre provocar sinais clínicos, o que faz com que sejam detetados apenas após um exame mais minucioso do animal aquando da consulta.

Neste estudo verificou-se que os cães e gatos mais frequentemente afetados por esta doença parasitária, são aqueles com acesso a ambientes exteriores, total ou parcialmente. Em animais que habitam exclusivamente no interior de habitações não foram diagnosticados casos de infeções por trombiculídeos, uma vez que estes animais não entram em contacto com as formas larvares e porque estes ácaros não se deslocam mais que alguns metros dos locais donde eclodiram. Outra justificação possível para este resultado é o pequeno número de relatos de casos transmitidos entre animais, demonstrando que esta via de infeção é pouco frequente (Santibáñez 2015, Guarneri et al. 2016; Guarneri et al. 2017).

O ato médico veterinário onde foram identificados um maior número de casos de infeções por estes artrópodes foi durante a preparação dos animais para a realização de cirurgias. Este valor pode ser justificado pelo facto dos animais se apresentarem sedados, o que permitiu uma maior manipulação dos mesmos e um exame externo mais detalhado. A realização da tricotomia, também permitiu um aumento da facilidade de observação das formas larvares, devido à sua coloração laranja característica e observação das lesões dermatológicas que apresentam nas proximidades do local de intervenção.

A recolha dos exemplares de ácaros trombiculídeos durante os procedimentos cirúrgicos foi facilitada, uma vez que a sua realização sob anestesia evitou o potencial desconforto ligeiro que o ato poderia provocar ao animal, dificultando o processo. A razão deste desconforto está relacionada com os locais preferenciais para a fixação das espécies

de trombiculídeos incluindo os espaços interdigitais ou a bolsa marginal cutânea (*Henry's Pocket*).

Durante as consultas de dermatologia, também foram identificados vários casos, devido ao cuidado na realização de um exame externo, tendo sido meticuloso e pormenorizado, e devido aos tutores indicarem que os seus animais apresentavam um nível de prurido muito significativo, tendo sido procurada uma causa para o mesmo.

Ao inquirir os tutores sobre os métodos de desparasitação externa empregue nos seus animais, foi possível verificar que mais de 50% dos mesmos não aplicavam nenhum medicamento antiparasitário contra ectoparasitas. Estes valores foram significativamente superiores em felídeos, onde 61,1% dos tutores não aplicava qualquer método por comparação com os 20% dos tutores de canídeos.

Um inquérito sobre métodos de desparasitação a tutores de cães e gatos em Portugal Continental, foi realizado por Matos et al. (2015), tendo sido concluído que 92,2% dos tutores de canídeos, aplicavam um método de desparasitação externa de forma regular, mas, por outro lado, os tutores de felídeos apenas aplicavam medicamentos desparasitantes externos em 52,7% dos mesmos, sendo que destes apenas 17,2% os aplicavam de forma regular. Apesar do estudo de Matos et al. (2015) apresentar diferenças nos resultados obtidos em comparação com este estudo, as conclusões retiradas de ambos são semelhantes, tendo se verificado um menor número de tutores a aplicar medidas profiláticas em felídeos que em canídeos.

O maior número de casos encontrados em felídeos, neste estudo, pode ter ocorrido por esta falta de utilização de desparasitantes externos nos seus animais de companhia, tornando-os mais expostos a parasitismo externo que os canídeos, que na sua maioria estavam protegidos.

7.2. Caracterização dos trombiculídeos recolhidos

Os trombiculídeos recolhidos nos três CAMVs foram analisados, tendo-se verificado que existem, pelo menos, três espécies de trombiculídeos a parasitarem cães e gatos em Portugal: *E. ibericense*, *N. autumnalis* e *N. inopinata*. No nosso país também já se encontram reportados casos de infeções por *S. cynotis* em cães (Seixas et al. 2006). A forma larvar desta espécie não foi observada em nenhum animal devido ao método de colheita destes exemplares ser realizado através de biopsia ou raspagem profunda, procedimento que não foi realizado em nenhum animal com suspeitas de infeção por trombiculídeos durante o período de recolhas.

A espécie com maior número de exemplares analisados correspondeu a *E. ibericense* (60,2%). O género *Neotrombicula* surgiu em 39,8% das amostras, das quais 21,6% pertenciam à espécie *N. autumnalis* e 18,2% pertenciam à espécie *N. inopinata*. Em todos os

casos foram observadas sempre infeções por apenas uma espécie de trombiculídeos, não tendo sido observadas infeções mistas.

Nos espécimes recolhidos em pequenos animais em Portugal, a espécie *N. autumnalis* não foi a que apresenta o maior número de casos. Segundo Mullen and OConnor (2019) e Giannouloupoulos et al. (2012), esta é a espécie mais frequente a parasitar humanos, cães, gatos e outros animais domésticos e selvagens na Europa. Esta variação dos resultados encontrados, em comparação com a bibliografia consultada, pode ser justificada pelo facto da maioria dos clínicos identificarem todos os trombiculídeos como pertencentes à espécie *N. autumnalis*, por defeito, por falta de informação ou pelo processo de identificação ser meticuloso e muitas vezes de difícil execução (Ramilo et al 2019; Mullen and OConnor 2019; Stekolnikov et al 2014b).

Atualmente, os movimentos de animais entre territórios, assim como as alterações climáticas, podem contribuir para a difusão das espécies de trombiculídeos para novos biótipos (Tudor et al, 2015). Esta mobilidade pode fazer variar a ocorrência das várias espécies de trombiculídeos num mesmo habitat. A realização de mais estudos em Portugal e na Europa é fundamental para uma melhor caracterização das espécies de trombiculídeos presentes nas espécies animais afetadas por esta parasitose.

As diferentes espécies de ácaros foram encontradas em alturas do ano específicas, uma vez que o *E. ibericense* apenas foi identificada a parasitar cães e gatos durante os meses de verão, o que está de acordo com os exemplares analisados por Stekolnikov (2015), numa amostra recolhida num felídeo que habitava na região de Paço de Arcos, Lisboa.

A espécie *N. autumnalis* foi encontrada a parasitar animais de companhia no final do verão e início do outono, o que corresponde ao período onde mais frequentemente se encontra esta espécie em áreas mediterrâneas, apesar de as formas larvares poderem ser encontradas noutras alturas do ano devido ao clima temperado existente em Portugal Continental (Leone et al. 2013).

Os exemplares da espécie *N. inopinata* foram encontrados nos meses de inverno. Esta espécie foi referida por Ramilo et al. (2019) a parasitar um gato no outono na região de Lisboa, apresentando-se, como possibilidade, esta espécie preferir períodos mais frios do ano.

Não foram encontrados casos de infeção por trombiculídeos durante a primavera, não se podendo inferir que os mesmos não tenham ocorrido noutras regiões.

A sazonalidade encontrada é justificada pela maioria das espécies de trombiculídeos apresentarem apenas um ciclo de vida por ano, que acontece frequentemente numa estação do ano específica, variando consoante a espécie de trombiculídeo. Esta particularidade do ciclo de vida dos trombiculídeos dá robustez aos dados analisados nesta dissertação, podendo ocorrer casos em animais e humanos por trombiculídeos em várias estações do ano

em Portugal Continental, apesar destes serem provocados por espécies de trombiculídeos diferentes (Santibáñez 2015).

Em projetos futuros, devem ser estudadas as temperaturas ótimas de desenvolvimento, ciclos de vida e habitats preferenciais destes ácaros, sendo considerado também fundamental a realização de estudos geográficos mais alargados, por forma a se compreender a prevalência das diferentes espécies de trombiculídeos em Portugal Continental.

Os animais parasitados apresentaram, como sinais clínicos mais frequentes, eritema e a presença de crostas nas proximidades dos locais onde se apresentavam os ácaros. Lesões de alopecia, escoriações e pústulas também foram encontradas com alguma frequência.

Nos gatos, o sinal clínico mais frequente foi eritema nas proximidades das lesões. Por outro lado, os canídeos apresentaram mais frequentemente crostas, sendo estas também as lesões dermatológicas mais frequentemente reportadas na bibliografia consultada (Leone et al. 2013; Ramilo et al. 2019; Tudor et al. 2015).

Os animais parasitados pela espécie *E. ibericense* apresentaram, como sinais clínicos mais frequentes, eritema e crostas nas proximidades das lesões. Stekolnikov et al. (2016) não reportaram os sinais clínicos mais frequentes nesta espécie de ácaros, considerando-se necessária a realização de mais estudos sobre este tipo de trombiculídeo.

Os animais afetados pela espécie *N. autumnalis* apresentaram também, como sinais clínicos mais frequentes, eritema e crostas, não tendo sido associada a esta espécie de ácaro a presença de pústulas e escoriações. Os casos analisados neste trabalho, em que os ácaros desta espécie estavam presentes, foram os únicos onde alguns animais não apresentaram sinais clínicos associados.

Nos setenta e dois gatos observados no seu estudo com formas larvares de *N. autumnalis*, Leone et al. (2013) verificaram que apenas 26,8% dos mesmos apresentavam algum tipo de lesão cutânea. Neste trabalho foi possível verificar-se que 57,2% dos gatos parasitados com *N. autumnalis* apresentavam lesões cutâneas, um valor duas vezes superior ao estudo italiano, que pode ter ocorrido pela realização dum exame físico mais detalhado, uma vez que grande parte dos casos foram diagnosticados com os animais sedados.

A espécie *N. inopinata* apresentou como sinal clínico mais frequentemente a presença de crostas, observadas em 100% dos animais, e alopecias que foram observadas em 75% dos animais. Apenas 50% dos animais apresentaram eritema associado.

Os gatos analisados nesta dissertação parasitados com *N. inopinata* apresentaram sempre algum tipo de lesões dermatológicas. Ramilo et al. (2019), verificaram a presença

crostas e lesões pruriginosas nos dois gatos observados, tal como ocorreu com frequência nos gatos incluídos neste estudo.

Os valores de prurido apresentaram uma grande amplitude, sendo os dos felídeos, na sua maioria, mais baixos que os dos canídeos. A maioria dos felídeos apresentou valores inferiores a 5 (1/10), apesar de, nesta espécie, terem sido encontrados os animais com valores mais elevados de prurido, tendo dois gatos apresentado um valor de 9 (1/10), em comparação com os canídeos que apresentaram valores entre 4 e 7 (1/10).

Os valores de prurido dos hospedeiros variaram consoante a espécie de trombiculídeo encontrado. A espécie *N. inopinata* provocou níveis de prurido mais elevados, sendo a média de 6,8. Estes valores foram significativamente superiores aos encontrados nos hospedeiros afetados pelas espécies *E. ibericense* e *N. autumnalis*, onde foram reportados valores médios de 4,4 e 3,4, respetivamente.

A disparidade de valores de prurido encontrados entre as diferentes espécies de ácaros pode ser justificada pela presença de um maior número de exemplares em animais com níveis mais elevados de prurido. Estes números mais elevados de indivíduos a parasitar o mesmo hospedeiro pode estar associado a infestações repetidas, sendo estes dados concordantes com o trabalho de Shatrov et al. (2009), que analisaram laboratorialmente infestações repetidas por trombiculídeos em comparação com animais com primo-infecções, sendo que os animais do primeiro grupo apresentavam sinais clínicos mais significativos.

As variações nestes valores também se devem à variável reação antigénica do hospedeiro, às secreções salivares dos trombiculídeos, à localização das lesões e ao tamanho do estilostoma (Santibáñez, 2015). Hasse et al (1978) verificaram reações mais exuberantes em espécies com o estilostoma mais longo, como ocorre no género *Leptotrombidium*, devendo ser analisados, em estudos futuros, esta relação entre o tamanho do estilostoma e o prurido associado às espécies mais frequentemente encontradas em Portugal Continental.

A localização mais frequente das formas larvares destes artrópodes nos animais analisados foram as regiões interdigitais (65,2%), tendo ocorrido em 80% dos canídeos e 61,1% dos felídeos, predominantemente nos membros anteriores.

No pavilhão auricular, apenas foram encontrados trombiculídeos em gatos, tendo-se verificado que esta localização ocorreu em 61,1% dos mesmos, a mesma percentagem que os espaços interdigitais. Através da análise dos resultados foi possível aferir-se que a região abdominal (30,4%) e a cauda (21,7%), também são localizações frequentes do aparecimento do parasita. Em casos mais esporádicos foi possível verificar-se trombiculídeos na face (17,4%) e nos órgãos sexuais externos (8,6%).

A bibliografia consultada indica que, em cães e gatos, os locais mais frequentemente afetados pela parasitose são: o pavilhão auricular externo, particularmente nas bolsas marginais cutâneas ou bolsa de Henry, sendo também afetados, com frequência, o pescoço, pálpebras, lábios, região abdominal, região inguinal, região interocular, membros e regiões interdigitais (Ramilo et al. 2019; Leone et al. 2013).

As larvas da espécie *E. ibericense* foram mais frequentemente observadas nas regiões interdigitais (75%) e na região do abdômen, onde se verificou a presença de ácaros em 58,3% dos animais afetados. Os pavilhões auriculares foram a terceira zona mais comum de aparecimento desta espécie de artrópodes, tendo ocorrido em 33,3% dos casos. A localização preferencial desta espécie nas regiões interdigitais está em concordância com o registo realizado por Stekolnikov et al. (2016) na única descrição do parasita em animais domésticos, onde o gato apresentava as formas larvares nas nestas mesmas zonas e em redor das unhas.

As formas larvares de *N. autumnalis*, também foram observadas com maior frequência nas regiões interdigitais dos animais infetados pela parasitose, tendo esta localização ocorrido em 85,7% dos animais. Os pavilhões auriculares, por sua vez, apenas foram afetados em 57,1% dos casos.

Os valores encontrados nesta espécie apresentam algumas variações comparativamente com o estudo realizado por Leone et al. (2013) em setenta e dois gatos, onde se verificou que a zona com maior predominância desta espécie foram os pavilhões auriculares (80%), um valor significativamente superior ao encontrado neste trabalho. Os espaços interdigitais, no mesmo estudo, apenas apresentaram lesões em 15,2% dos gatos, um valor muito inferior aos 61,1% das amostras de gatos deste estudo, tendo a região abdominal também apresentado uma percentagem 6 vezes superior comparativamente com os resultados obtidos no estudo italiano.

Leone et al. (2013) concluíram que estes artrópodes têm nos pavilhões auriculares, mais especificamente na bolsa marginal cutânea ou bolsa de Henry, um local preferencial de alimentação, apresentando como justificação a espessura de pele muito fina, sendo facilmente perfurada pelas quelíceras do ácaro e por ser um local que permite proteção das larvas de agressões externas.

Uma justificação para o aparecimento desta espécie nas regiões interdigitais pode estar relacionada com o facto de serem zonas de pele fina, tal como a bolsa marginal cutânea, e também por serem uma zona de contacto com o solo, sendo mais facilmente afetadas pela parasitose que os pavilhões auriculares. O número de animais afetados por *N. autumnalis* neste estudo foi superior ao registado por Leone et al. (2013) e esta situação pode ser justificada pela difícil análise das zonas interdigitais dos felinos e pelo facto de muitos dos casos observados nesta dissertação terem sido diagnosticados em animais

sedados/anestesiados para a realização de cirurgias posteriores, sendo possível a realização de um exame externo mais detalhado.

Os ácaros da espécie *N. inopinata*, por sua vez, foram principalmente observados na face e nos pavilhões auriculares dos animais (75%), tendo sido observado num animal uma lesão na face e lesões na cauda de outro gato. Esta foi a única espécie onde não se observou as formas larvares nos espaços interdigitais, sendo esta uma discrepância relativamente aos resultados das duas espécies anteriores. Faergemann et al. (2001) indicou que esta espécie aparecia preferencialmente nas zonas de contacto com o solo, as pernas, patas, cabeça, pavilhões auriculares e ventre, sendo que as formas larvares se alimentam no primeiro lugar de contacto com o hospedeiro. Num estudo de Apesteguia et al (2019) em cães de caça verificou-se que a face, pavilhões auriculares, abdómen, períneo e espaços interdigitais são os locais mais afetados. Assim, a não ocorrência de formas larvares de trombiculídeos nos espaços interdigitais apresentou uma discrepância com a bibliografia consultada. Este facto pode ser justificado pelo reduzido número de casos observados com esta espécie de ácaro.

Os animais parasitados neste estudo viviam predominante no exterior ou tinham acesso ao mesmo, habitando numa grande variedade de regiões, uma vez que estes animais provieram tanto de zonas urbanas como de zonas rurais. Estes dados estão de acordo com a informação redigida por Caputo et al. (2018), que referiram que a família Trombiculidae apresenta uma grande capacidade de adaptação a diferentes temperaturas, vegetações, variações de pH e características do solo, tendo estes ácaros já sido descritos em áreas urbanas, ambientes rurais e florestas.

Os sinais clínicos provocados por trombiculídeos são muito semelhantes aos sinais clínicos das doenças pruriginosas dos cães e gatos e, por isso, é fundamental a realização de um exame clínico e físico rigoroso nestes animais e ter em conta que este ácaro é muitas vezes uma parasitose excluída dos diagnósticos diferenciais destas lesões em animais de companhia. O diagnóstico incorreto pode ser justificado por falta de informação dos clínicos e pela variação individual dos sinais clínicos, visto que em casos com poucos ácaros os hospedeiros podem apresentar um prurido significativamente superior a animais muito parasitados (Small et al, 2003, Leone et al, 2013).

7.3. Sucesso terapêutico da associação com selamectina e sarolaner na eliminação de trombiculídeos em cães e gatos

A utilização de sarolaner em cães demonstrou-se eficaz no tratamento desta parasitose, uma vez que apresentou uma eficácia terapêutica de 100% nos cinco animais tratados, durante um período de 30 dias.

Segundo a bibliografia consultada, não existem estudos de avaliação do sucesso da molécula no controlo de trombiculídeos em cães, sendo este um estudo preliminar, com

resultados promissores. A administração do sarolaner é de fácil utilização e eliminou as formas larvares de trombiculídeos nos cães tratados, tendo prevenido a ocorrência de reinfestações, muito frequentes nesta família de ácaros.

A utilização da mesma molécula associada à selamectina, apresentou um sucesso terapêutico de 55,6%, nos gatos envolvidos no estudo, tendo ocorrido uma diminuição do número de ácaros em 77,8% dos gatos tratados.

Num estudo realizado por Leone e Albanese (2004) em oito gatos, onde foi testada a utilização de uma unção punctiforme com selamectina contra infestações naturais de *N. autumnalis*, verificou-se uma eficácia terapêutica de 100% contra esta espécie de ácaro, não tendo ocorrido reinfestações. A variação dos dados obtidos em comparação com o estudo de Leone e Albanese, apesar da concentração da substância ativa ter sido a mesma, pode ter ocorrido pelos felídeos terem acesso a zonas com elevado número de trombiculídeos e poderem reinfestar-se com maior frequência que os gatos do estudo italiano (Leone 2013, ESCAAP 2018).

A unção punctiforme administrada permite a absorção cutânea das substâncias ativas com uma biodisponibilidade de 57,9% e 40,5%, para o sarolaner e a selamectina, respetivamente. Por outro lado, o comprimido mastigável que foi administrado aos cães permite obter uma biodisponibilidade na ordem dos 85% para o sarolaner, é por isso bastante superior à obtida pela administração da unção punctiforme, podendo este ser um fator justificativo das diferenças de eficácia encontradas entre as duas espécies (McTier et al, 2016).

A dificuldade de administração de comprimidos a felídeos torna as aplicações na forma de unção punctiforme uma vantagem, devido à fácil administração das mesmas (Becskei et al 2016b).

As substâncias ativas apresentaram sucessos terapêuticos médios a altas nas três espécies de trombiculídeos encontradas em felídeos, tendo ocorrido uma eliminação das formas larvares de *E. ibericense* e de *N. autumnalis* em 50% dos animais, e eliminação da espécie *N. inopinata* em 75% dos hospedeiros.

Durante as reavaliações dos animais foi possível verificar uma diminuição dos sinais clínicos iniciais, tendo os valores médios de prurido diminuído de $4,5 \pm 2,4$ para $2 \pm 1,7$, sendo que os sinais clínicos mais frequentemente encontrados foram o eritema e as crostas, tal como observado na primeira vez em que os animais foram observados. As zonas onde mais frequentemente se encontraram as formas larvares nos gatos afetados durante as reavaliações foram as zonas interdigitais, principalmente dos membros anteriores. Curiosamente, durante as reavaliações a segunda localização mais frequente foi a zona da cicatriz umbilical dos gatos, tendo os pavilhões auriculares sido a terceira localização mais

frequente. Verificou-se, assim, uma variação em comparação aos locais observados nas primeiras consultas, em que os animais eram igualmente afetados nos espaços interdigitais e nos pavilhões auriculares.

Os poucos estudos efetuados em animais domésticos no controlo e prevenção de trombiculídeos foi mais uma razão para a realização deste trabalho experimental, considerando-se essencial a realização de mais trabalhos com estas e outras substâncias ativas de forma a perceber quais os tratamentos mais eficazes para a eliminação e prevenção das reinfestações por esta família de ácaros.

7.4. Limitação ao estudo

Este estudo apresentou, como principal limitação, a dificuldade em se conseguir contactos com Médicos Veterinários em vários locais do país para a recolha de uma amostra mais abrangente em várias regiões. Esta dificuldade surgiu por muitos dos contactos realizados terem descrito que nunca tinham observado casos de trombiculose em animais de companhia nos seus CAMVs.

Outra limitação deste estudo, foi o pequeno número de casos recolhidos em cães, podendo os dados relativos à eficácia do tratamento neste hospedeiro estarem sobrevalorizados.

As substâncias ativas foram testadas nestes animais sem a utilização de grupos de controlo, os quais deveriam ser adicionados em estudos futuros para uma melhor caracterização do sucesso terapêutico destas moléculas em cães e gatos.

8. Conclusão e perspectivas futuras

A realização desta dissertação teve como intuito analisar as espécies de trombiculídeos a parasitarem cães e gatos em três regiões de Portugal Continental. Foi possível concluir que existem, pelo menos, quatro espécies diferentes de trombiculídeos a provocar esta parasitose em animais de companhia no nosso país. Poucos trabalhos sobre a família Trombiculidae estão descritos em Portugal, considerando-se este levantamento relevante para uma maior compreensão e divulgação da doença. Devido à sua ocorrência frequente, é de extrema importância a inclusão desta parasitose no diagnóstico diferencial das causas pruriginosas mais frequentes em cães e gatos.

As espécies *N. autumnalis* e *E. ibericense* foram encontradas a parasitarem cães e gatos, tendo sido feita a primeira descrição de *E. ibericense* em cães durante a realização desta dissertação, resultando na publicação de um artigo científico (Anexo 12). A espécie *N. inopinata* foi encontrada apenas em gatos, tendo esta espécie já sido reportada noutros países da Europa a parasitar canídeos.

Através da análise dos resultados foi possível verificar alguma sazonalidade nas espécies encontradas, uma vez que a espécie *N. inopinata* apenas foi visualizada durante os

meses mais frios do ano, ao contrário da espécie *E. ibericense*, que foi encontrada nos meses de verão. Devem ser realizados mais estudos no sentido de verificar a sazonalidade das espécies de trombiculídeos a parasitarem cães e gatos em Portugal Continental, de forma a obter uma melhor compreensão dos seus ciclos de vida e das particularidades de cada espécie.

Os gatos foram espécie mais afetada, apresentando 6,5 vezes mais casos que os cães. Os sinais clínicos da parasitose são variados, podendo provocar níveis de prurido muito elevados em alguns animais com poucos ácaros e não causar sinais clínicos noutros que apresentem uma maior quantidade de formas larvares.

A utilização de sarolaner foi 100% eficaz na eliminação de formas larvares de trombiculídeos em cães, não tendo este valor sido tão significativo em gatos, onde a eliminação completa das formas larvares ocorreu em apenas 55,6% dos animais tratados com selamectina e sarolaner. Devido aos seus atos exploratórios e de vida livre, os gatos parasitam-se mais frequentemente com esta forma larvar. Mais estudos devem ser realizados com diferentes substâncias terapêuticas e com a adição de grupos de controlo na pesquisa do melhor antiparasitário para o controlo deste ácaro em gatos.

Os dados obtidos nesta dissertação devem, no futuro, ser consolidados através da realização de estudos numa amostra mais significativa de animais para se verificar se diferentes espécies de trombiculídeos apresentam suscetibilidades diferentes às estas substâncias ativas estudadas.

A realização de um levantamento das espécies de trombiculídeos que parasitam espécies animais domésticas, silvestres e selvagens em Portugal deve também ser efetuado, por forma a existir uma mais correta caracterização desta família e de se criarem chaves taxonómicas das espécies existentes no nosso país. Nas regiões insulares ainda não estão reportadas estas formas parasitárias, sendo pertinente a realização de um estudo nos arquipélagos da Madeira e dos Açores para se averiguar a presença de trombiculídeos e verificar se alterações edafoclimáticas alteram as espécies de trombiculídeos encontradas e os sinais clínicos associados à doença.

O levantamento de casos registados no homem, assim como os sinais clínicos associados, e a determinação da via de transmissão, com implicação ou não dos animais de companhia, seria outro estudo relevante dando uma compreensão integrada desta parasitose.

Referências bibliográficas

- Apesteguía MA, Portell JBA, Kassab NH, Salinas MJG . 2019 . Severe Trombiculiasis in Hunting Dogs Infested With *Neotrombicula inopinata* (Acari: Trombiculidae). *Journal of Medical Entomology*.
- Anadón A, Martínez-Larrañaga MR, Martínez MA. 2009 . Use and abuse of pyrethrins and synthetic pyrethroids in veterinary medicine. *The Veterinary Journal*, 182(1), 7–20.
- Baynes RE. 2009. Chapter 44: Ectoparasitocides. In J.E. Riviere & M.G. Papich (Eds.), *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. (9th ed.). (pp. 1181-1201). Ames, Iowa, USA: John Wiley & Sons.
- Becskei C, Bock F, Lllambas J, Cherni JA, Fouriec JJ, Lane M, Mahabir PS, Six. RH. 2016 . Efficacy and safety of a novel oral isoxazoline, sarolaner (Simparica™), for the treatment of sarcoptic mange in dogs. *Veterinary Parasitology*, 222,56-61
- Becskei C, Cuppens O, Mahabir SP.2018. Efficacy and safety of sarolaner against generalized demodicosis in dogs in European countries: a non-inferiority study. *Veterinary Dermatology*, 29(3), 203–e72.
- Becskei, C, Reinemeyer C, King VL, Lin D, Myers MR, Vatta AF. 2017b. Efficacy of a new spot-on formulation of selamectin plus sarolaner in the treatment of *Otodectes cynotis* in cats. *Veterinary Parasitology*, 238, S27–S30.
- Brennan JM, Goff ML.1977. Keys to the Genera of Chiggers of the Western Hemisphere (Acarina: Trombiculidae), *The Journal of Parasitology*, Vol. 63, No. 3, pp. 221–238.
- Cadiergues MC, Navarro C, Castilla-Castaño E, Lecru LA, Pressanti C. 2018. Treatment of *Neotrombicula* species infestation in cats using a 10% (w/v) fipronil topical spot-on formulation: a pilot study. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 20(6), 587–590.
- Caputo V, Santi F, Cascio A, Trizzino M, Colomba C. 2018. Trombiculiasis: an underreported ectoparasitosis in Sicily. *Le Infezioni in Medicina*, n. 1, 77-80.
- Chailleux. N, Paradis M. 2002 . Efficacy of selamectin in the treatment of naturally acquired Cheyletiellosis in cats. *The Canadian Veterinary Journal* 43: 767- 770
- Choi, YJ, Lee IY, Song HJ, Kim J, Park HJ, Song D, Jang WJ. 2018. Geographical distribution of *Orientia tsutsugamushi* strains in chiggers from three provinces in the Republic of Korea. *Microbiology and Immunology*.
- Choi MB, Kim Y, Kim DY, Kwon O. 2019. Occurrence rates of wild rodent hosts and chigger mites and the infection rate of *Orientia tsutsugamushi* in the central region of South Korea from 2015 to 2018. *Entomological Research*, 49(8), 374–385
- CMS- Câmara Municipal de Santarém [acessed 05 Abr 2020] site: <https://www.cm-santarem.pt/o-municipio/caraterizacao-santarem>

- Dryden MW, Canfield MS, Bocon C, Phan L, Niedfeldt E, Kinnon A, Sun F. 2018. In-home assessment of either topical fluralaner or topical selamectin for flea control in naturally infested cats in West Central Florida, USA. *Parasites & Vectors*, 11:422
- Ensley S, Gupta R. 2018. Pyrethrins and pyrethroids *Veterinary Toxicology: Basic and Clinical Principles*, 3a ed, Cap.39, pp.515-520, Elsevier
- [ESCCAP] European Scientific Counsel Companion Animal Parasites. 2018b. Guideline 03 Sixth Edition – March 2018: Control of Ectoparasites in Dogs and Cats. 6ª edição [internet]. United Kingdom: ESCCAP; [acedido em 2020 Fev 03].
https://www.esccap.org/uploads/docs/v5sc2etz_0720_ESCCAP_Guideline_GL3_update_v8_1p.pdf
- Fauna Europaea .2013. Taxonomic hierarchy. Accessed on the 11th June, 2015, available in: http://www.faunaeur.org/full_results.php?id=130836
- Faergemann, J., Bergbrant, I.-M., Dohsé, M., Scott, A., & Westgate, G. 2001. Seborrhoeic dermatitis and *Pityrosporum*(*Malassezia*) folliculitis: characterization of inflammatory cells and mediators in the skin by immunohistochemistry. *British Journal of Dermatology*, 144(3), 549–556.
- Fernández-Soto P, Pérez-Sánchez R, Encinas-Grandes A. 2001. Molecular Detection of *Ehrlichia phagocytophila* Genogroup Organisms in Larvae of *Neotrombicula autumnalis*(Acari: Trombiculidae) Captured in Spain. *Journal of Parasitology*, 87(6), 1482–1483.
- Giannouloupoulos GD, Desilla LJS, Desilla ES, Papadopoulos I, Saridomichelakis MN. 2012. First Report of *Neotrombicula autumnalis* Infestation in a Cat and a Dog from Corfu (Greece) and in a Cat from Limassol (Cyprus). *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 12(12), 1065–1067.
- Goff ML, Loomis, RB, Welbourn WC, Wrenn WJ. 1982. A Glossary of Chigger Terminology (Acari: Trombiculidae)1. *Journal of Medical Entomology*, 19(3), 221–238.
- Guarneri C, Chokoeva AA, Wollina U, Lotti T, Tchernev G. 2016. Trombiculiasis: not only a matter of animals! *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 167(3-4), 70–73.
- Guarneri C, Lanteri G, Tchernev G, Bevelacqua V. 2017. Trombiculiasis: The uninvited trekker. *IDCases*, 9, 4–5.
- Haworth MD, Smart L. 2012. Use of intravenous lipid therapy in three cases of feline permethrin toxicosis. *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 22(6), 697–702.
- Hill PB, Lo A, Eden CA, Huntley S, Morey V, Ramsey S, Richardson C, Smith DJ, Sutton C, Taylor MD. 2006. Survey of the prevalence, diagnosis and treatment of

- dermatological conditions in small animals in general practice. Vet Rec 2006; 158:533– 539.
- Hill PB, Lau P, Rybníček J. 2007. Development of an owner-assessed scale to measure the severity of pruritus in dogs. Vet Dermatol. 2007;18:301-8.
- IPMA- Instituto Portugues do Mar e da Atmosfera. Caracterização do clima- accessed 03 Fevereiro 2020.
Site:<https://www.ipma.pt/pt/educativa/tempo.clima/index.jsp?page=clima.pt.xml>
- ICNF- Instituto de Conservação da Natureza e das Florestas .accessed 05 Abril 2020. site: <http://www2.icnf.pt/portal/ap/p-nat/pnsc/geo-ICNF2020>
- Kaluz SK, Hung NM, Capek M, Literak I.2016. Two new species and new records of chiggers (Acari: Leeuwenhoekiidae, Trombiculidae) from birds in Vietnam. Zootaxa 4061 (5): 483–503
- Kampen H, Schöler A, Metzen M, Oehme R, Hartelt K, Kimmig P, Maier WA. 2004. *Neotrombicula autumnalis* (Acari, Trombiculidae) as a vector for *Borrelia burgdorferi* ? Experimental and Applied Acarology, 33(1/2), 93–102.
- Kaufmann R, Bourdeau P, Waldman L, Amiel S, Zur G. 2015. Straelensiosis in two cats and ten dogs from Israel. Journal of Small Animal Practice, 56(12), 723–727.
- Lecru LA, Combarros D, Castilla-Castaño E, Navarro C, Cadiergues MC. 2019. Treatment of Harvest Mite Infestation in Dogs Using a Permethrin 54.5% and Fipronil 6.1% (Effitix®) Topical Spot-On Formulation, Veterinary Science(6) 100
- Leone F, Albanese F.2004. Efficacy of selamectin spot-on formulation against *Neotrombicula autumnalis* in eight cats. Veterinary Dermatology 15 (Suppl. 1), 41–69
- Leone F, Di Bella A, Vercelli A, Cornegliani L . 2013. Feline trombiculosis: a retrospective study in 72 cats. Veterinary Dermatology, 24(5), 535–e126.
- Linnett PJ. 2008. Permethrin toxicosis in cats. Australian Veterinary Journal, 86 (1-2): 32-25
- Mc McGarry JW, Hansen R, Greene S. 2012. Canine trombiculosis and seasonal canine illness. Veterinary Record, 171(16), 406.2–406.
- McTier TL, Chubb N, Curtis MP, Hedges L, Inskeep GA, Knauer CS, Menon S, Mills B, Pullins A, Zinser E, Woods DJ, Meeus P. 2016. Discovery of sarolaner: A novel, orally administered, broad-spectrum, isoxazoline ectoparasiticide for dogs. Veterinary Parasitology, 222, 3–11.
- Mendez D, Freeman A, Spratt D, Speare R. 2010. Pathology of cutaneous trombidiosis caused by larval trombiculid mites in a wild Lesueur's tree frog (*Litoria wilcoxii*). Australian Veterinary Journal, 88(8), 328–330.

- Mendoza-Roldan JA, Colella V, Lia RP, Nguyen VL, Barros-Battesti DM, Latta R, Dantas-Torres F, Otranto D .2019. *Borrelia burgdorferi* (sensu lato) in ectoparasites and reptiles in southern Italy. *Parasites & Vectors*(12), Article number: 35
- Meo N, Fadel M, Trevisan G. 2017. Pushing the edge of dermoscopy in new directions: entomodermoscopy of *Trombicula autumnalis* .*Acta Dermatovenerologica*, 26:45-46
- Mullen GR,OConnor BM. 2019. Mites (Acari). *Medical and Veterinary Entomology*, 533–602.
- Net JL, George C, Rousselle S, Theau V, Longeart L, Fain A. 2002. Straelensiosis in dogs: a newly described nodular dermatitis induced by *Straelensia cynotis*. *Veterinary Record*, 150(7), 205–209.
- Page, S.W. 2008. Antiparasitic drugs. J.E. Maddison, S.W. Page & D.B. Church, Small animal clinical pharmacology (2nd ed.). (pp.198-260). Philadelphia: Saunders-Elsevier.
- Parcell BJ, Sharpe G, Jones B, Alexander CL . 2013. Conjunctivitis induced by a red bodied mite *Neotrombicula autumnalis*. *Parasite*, 20, 25.
- Pires BMP- Avaliação de Piriproxifeno como ferramenta para estratégias de controlo vetorial de *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) na Ilha da Madeira: estudo piloto na região do Paúl do Mar DM- Universidade Nova de Lisboa Instituto de Higiene e Medicina Tropical
- Ramilo. D.W. 2016- Phenotypic and genetic characterization of *Culicoides* (DIPTERA: CERATOPOGONIDAE) in Portugal and comparison of the effect of pyrethroid insecticides in their control-Phd Thesis- Faculdade de Medicina Veterinária- Universidade de Lisboa
- Ramilo DW, Monteiro C, Carreira M, Perreira da Fonseca I, Cardoso L .2019. First report of *Neotrombicula inopinata* infestation in domestic cats from Portugal. *Veterinary Parasitology* 267,1-3
- Rubio AV, Simonetti JA. 2009. Ectoparasitism by *Eutrombicula alfreddugesi* Larvae (Acari: Trombiculidae) on *Liolaemus tenuis* Lizard in a Chilean Fragmented Temperate Forest. *Journal of Parasitology*, 95(1), 244–245.
- Santibáñez P. 2015. Trombiculid Mites and Trombiculiasis in La Rioja. PhD Thesis. Universidad de la Roja pp240
- Santibáñez P, Palomar AM, Portillo A, Santibáñez S, Oteo JA. 2015. The Role of Chiggers as Human Pathogens. *An Overview of Tropical Diseases*.
- Santibáñez P, Gallo E, Palomar AM, Portillo A, Carrillo JA, Oteo JA. 2020. Trombiculiasis in a Dog with Severe Neurologic Disorders, Spain. *Emerging Infectious Diseases* .Vol. 26, No. 4

- Schöler A , Maier WA, Kampen H. 2006. Multiple Environmental Factor Analysis in Habitats of the Harvest Mite *Neotrombicula autumnalis* (Acari: Trombiculidae) Suggests Extraordinarily High Euryoecious Biology. *Experimental & Applied Acarology* 38: 41-62
- Scoot P, Palomar AM, Portillo A, Santibáñez S, Oteo JA. 2015. The Role of Chiggers as Human Pathogens. An Overview of Tropical Diseases.
- Seixas F, Travassos PJ, Pinto ML, Correia J, Pires MA. 2006. Dermatitis in a dog induced by *Straelensia cynotis*: a case report and review of the literature. *Veterinary Dermatology*, 17(1), 81–84.
- Shatrov AB. 2009. Stylostome formation in trombiculid mites (Acariformes: Trombiculidae). *Experimental and Applied Acarology*, 49(4), 261–280.
- Shatrov AB, Kudryashova NI. 2008. Taxonomic Ranking of Major Trombiculid Subtaxa with Remarks on the Evolution of Host-Parasite Relationships (Acariformes: Parasitengona: Trombiculidae). *Annales Zoologici*, 58(2), 279–287.
- Six RH, Becskei C, Mazaleski MM, Fourie JJ, Mahabir SP, Myers MR, Sloomans N. 2016. Efficacy of sarolaner, a novel oral isoxazoline, against two common mite infestations in dogs: *Demodex* spp. and *Otodectes cynotis*. *Veterinary Parasitology*, 222, 62–66.
- Six R, Clemence R, Thomas C, Behan S, Boy M, Watson P, Jernigan A . 2000. Efficacy and safety of selamectin against *Sarcoptes scabiei* on dogs and *Otodectes cynotis* on dogs and cats presented as veterinary patients. *Veterinary Parasitology*, 91(3-4), 291–309.
- Smal D, Jasmin P, Mercier P. 2004. Treatment of *Neotrombicula autumnalis* dermatitis in dogs using two topical permethrin-pyriproxyfen combinations. *Journal of Small Animal Practice*, 45(2), 98–103.
- Stekolnikov AA. 2018. Taxonomy and distribution of African chiggers (Acariformes, Trombiculidae). *European Journal of Taxonomy* 395:1-233
- Stekolnikov AA, Mohammadi Bavani M, Rafinejad J, Saboori A. 2019. A new species of chigger mite (Acariformes: Trombiculidae: Leeuwenhoekiinae) collected from a scorpion in Iran. *International Journal of Acarology*, 1–6.
- Stekolnikov AA, Santibáñez P, Palomar AM, Oteo JA . 2014 .*Neotrombicula inopinata* (Acari: Trombiculidae) – a possible causative agent of trombiculiasis in Europe. *Parasites & Vectors* volume 7: 90
- Stekolnikov AA, Waap H, Gomes J, Antunes T. 2016. Chigger mites of the genus *Ericotrombidium* (Acariformes: Trombiculidae) attacking pets in Europe. *Veterinary Parasitology*, 221, 60–63

- Scott, D. 2001. Dermatoses of Pet Rodents, Rabbits, and Ferrets. Muller & Kirk's Small Animal Dermatology.
- Sungvornyothin S, Kumlert R, Paris DH, Prasartvit A, Sonthayanon P, Apiwathnasorn C, Morand S, Stekolnikov AA, Sumruayphol S. 2018. Geometric morphometrics of the scutum for differentiation of trombiculid mites within the genus *Walchia* (Acariformes: Prostigmata: Trombiculidae), a probable vector of scrub typhus. Ticks and Tick-Borne Diseases.
- Taylor MA. 2001. Recent Developments in Ectoparasitocides. The Veterinary Journal, 161(3), 253–268.
- Tudor P, Fernoaga C, Tudor N. 2015. Trombiculosis in cats due to *neotrombicula autumnalis* (acari: trombiculidae) larvae: the first report in romania. The Journal of Animal & Plant Sciences, 25. 1496-1498
- Walker C. 2019. Treatment of *Demodex gato* mange in two sibling Bengal cats with a combination of selamectin and sarolaner. Companion Animal, 24(3), 127–131.
- Wharton GW, Jenkins DW, Brennan JM, Fuller HS., Kohls GM, Philip CB. 1951. The Terminology and Classification of Trombiculid Mites (Acarina: Trombiculidae). The Journal of Parasitology, 37(1), 13.

Anexo1- Inquérito realizado aos tutores e ficha de cliente



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

Identificação parasitológica de casos de Trombiculose, e estudo de eficácia terapêutica da
Selamectina e Sarolaner em cães e gatos

zoetis



Dados do Animal:

Espécie:	<input type="checkbox"/> Canina	<input type="checkbox"/> Felina	Peso: _____	Raça: _____
Nome:	_____		Idade:	_____
Sexo:	Macho <input type="checkbox"/>	Fêmea <input type="checkbox"/>	Macho <input type="checkbox"/>	Castrado <input type="checkbox"/>
	Fêmea Esterilizada <input type="checkbox"/>			
Estilo de vida:	Interior <input type="checkbox"/>	Interior/ Exterior <input type="checkbox"/>	Exterior <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Vive com outros Animais?	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não	<input type="checkbox"/>	
Se sim, quais?	_____			
Faz Desparasitação Externa?	Sim <input type="checkbox"/>	Não <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Se sim, qual/ quais?	_____			
Frequência :	_____			

Dados do Dono:

Nome:	_____
Morada:	_____
Código Postal:	_____
Telefone:	_____
Email :	_____
Nº Do Cartão de Cidadão:	_____

Termo de Consentimento

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

Investigador responsável: Pedro Miguel Martins Costa sob a orientação do Doutor David
Wilson Russo Ramilo e coorientação da Prof.ª Doutora Ana Mafalda Gonçalves Xavier
Félix Lourenço

Eu _____,

Tutor/ responsável por _____ após devidamente informado sobre
os procedimentos a realizar, declaro que concedo o meu total consentimento à sua
participação neste projeto de investigação e a utilização dos dados recolhidos (exceção
feita aos dados pessoais), incluindo registos fotográficos do meu animal, para fins de
publicação.

Local e Data: _____, _____ de _____ de _____

Assinatura: _____

Dados recolhidos pelo Veterinário:


Motivo da Consulta: _____

Data da Recolha: _____


Lesões: ☐ Pústulas ☐ Pápulas ☐ Eritema ☐ Alopecias ☐ Escoriações
☐ Crostas ☐ Vesículas ☐ Nódulos Outra: _____

Nível de Prurido de 1 a 10: _____

Localização das lesões: Descrição das Localizações:



Vista Dorsal



Vista Ventral

(Ex: membro anterior direito e no topo do focinho)

Reavaliação: O tratamento no Gato é realizado com Stronghold® Plus (Zoetis), com reavaliação 30 dias após a administração, ou com a frequência de 15 em 15 dias. No cão, o tratamento é realizado com Simparica™ (Zoetis), com reavaliação passadas 5 semanas. As amostras recolhidas devem ser divididas em 2 tubos, um com álcool a 70 % e outro com álcool a 96%.


Data da Reavaliação: _____


Apresentava trombiculídeos na Reavaliação? Sim ☐ Não ☐

Lesões: ☐ Pústulas ☐ Pápulas ☐ Eritema ☐ Alopecias ☐ Escoriações
☐ Crostas ☐ Vesículas ☐ Nódulos Outra: _____

Nível de Prurido de 1 a 10: _____

Localização das lesões: Descrição das Localizações





Anexo2- Panfleto explicativo





A Trombiculose é uma doença que pode ser transmissível ao ser Humano. Por isso é necessário um tratamento eficaz de longa duração



Calendário de Tratamento :

UM PROJETO DE:

*Pedro Miguel Martins Costa
 Doutor David Wilson Ramilo
 Professora Doutora Ana Mafalda Lourenço*

TROMBICULOSE

E Agora?



Como Tratar?

Em primeiro lugar deve-se dirigir ao seu médico veterinário, para que este o/a aconselhe do melhor plano de tratamento. O ácaro é visível a olho nu e apresenta uma cor laranja característica.

O tratamento no Gato é realizado com Stronghold Plus, com visitas de 30 em 30 dias ou de 15 em 15 dias ao seu Médico Veterinário para reavaliação.

No Cão o tratamento é realizado com Simparica, com visita ao Médico Veterinário 30 dias depois para reavaliação.



Como é que o meu animal se pode parasitar?

O parasita encontra-se na vegetação (arbustos e zonas sombrias), sendo mais frequente nos meses mais quentes do ano.





Sinais Clínicos

Comichão
 Perda de Pelo
 Vermelhidão
 Crostas
 Alergia

O que é?

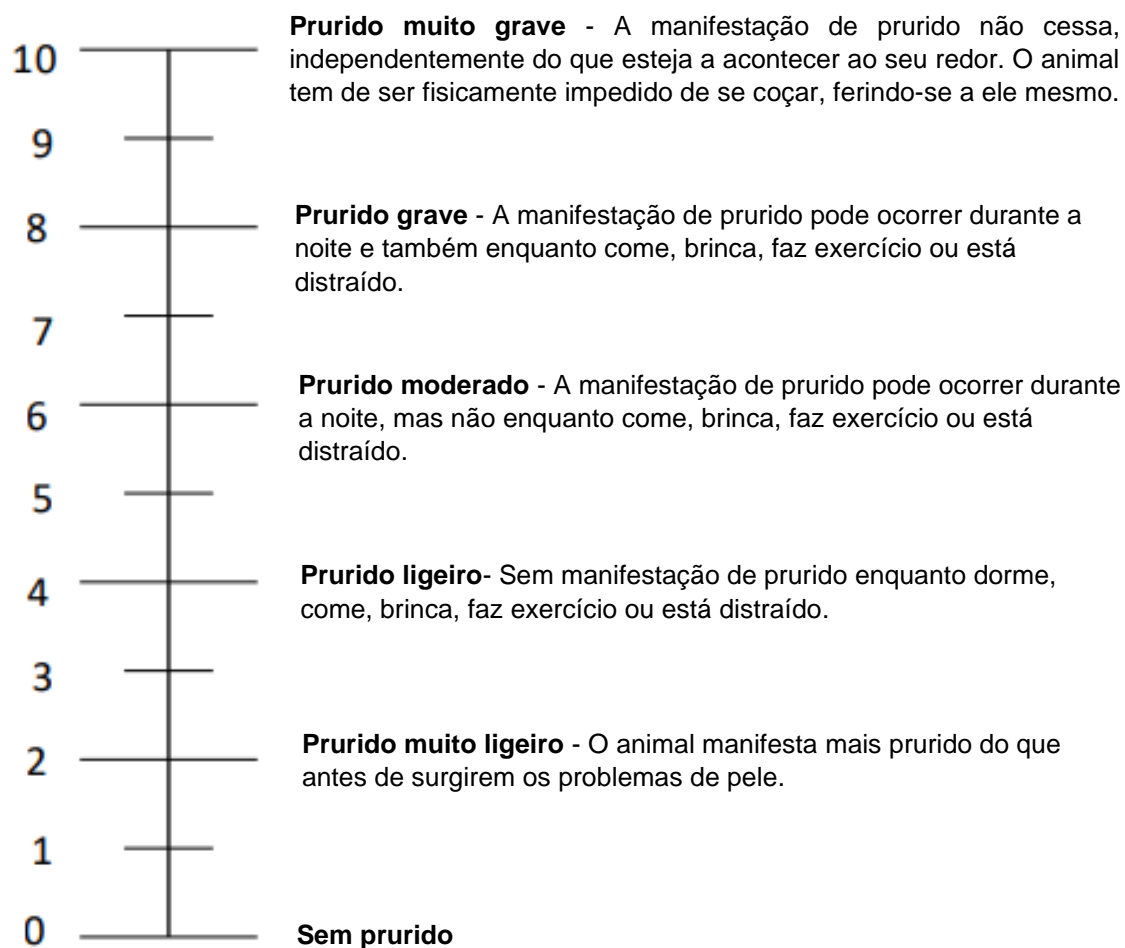
São ácaros da família Trombiculidae, que tem a curiosidade de apenas parasitarem na sua fase larvar.





Anexo 3- Escala de Prurido

Escala de prurido explicada aos tutores pelo médico veterinário responsável



Anexo 4 -Doses de sarolaner utilizada em canídeos

Peso do cão (kg)	Dose de sarolaner (mg)
1,3-2,5	5
2,5-5	10
5-10	20
10-20	40
20-40	80
40-60	120

Legenda :
kg- kilograma
mg- miligrama

Anexo 5 -Doses de selamectina e sarolaner administrada em felinos

Peso do gato (kg)	Selamectina (mg)	Sarolaner (mg)	Volume da Pipeta (ml)
1,250kg-2,500	15	2,5	0,25
2,500-5	30	5	0,5
5-10	60	10	1

Legenda :
kg- kilograma
mg- miligrama
ml- mililitro

Anexo 6 - Informação recolhida nos inquéritos aos tutores

Animal	Local de colheita	Espécie	Idade (Anos)	Sexo	Peso (kg)	Estilo de Vida	Vive Com outros Animais?	Faz desparasitação externa?	Qual?
1	Santarém	<i>Felis catus domesticus</i>	0,5	Fêmea ¹	3	Interior/Exterior	não	sim	Advocate®
2	Santarém	<i>Felis catus domesticus</i>	4	Macho ¹	6	Exterior	sim	não	
3	Santarém	<i>Canis lupus familiaris</i>	8	Fêmea ¹	10	Interior/Exterior	não	não	
4	Santarém	<i>Felis catus domesticus</i>	1	Fêmea ¹	3,2	Exterior	sim	sim	Frontline® Combo
5	Santarém	<i>Felis catus domesticus</i>	1	Fêmea ¹	2,7	Exterior	sim	sim	Frontline® Combo
6	Santarém	<i>Felis catus domesticus</i>	2,5	Fêmea ¹	2,9	Exterior	sim	sim	Frontline® Combo
7	Santarém	<i>Canis lupus familiaris</i>	10,5	Macho ¹	8,2	Interior/Exterior	não	sim	Seresto®
8	Santarém	<i>Felis catus domesticus</i>	2	Fêmea ¹	3,4	Interior/Exterior	sim	sim	Seresto®
9	Santarém	<i>Felis catus domesticus</i>	0,4	Macho ¹	1,25	Exterior	sim	não	
10	Santarém	<i>Felis catus domesticus</i>	0,4	Fêmea ¹	1,3	Exterior	sim	não	
11	Santarém	<i>Felis catus domesticus</i>	0,4	Fêmea ¹	1,3	Exterior	sim	não	

12	Santarém	<i>Canis lupus familiaris</i>	3	Fêmea ¹	21,2	Exterior	sim	sim	Vectra 3D
13	Santarém	<i>Canis lupus familiaris</i>	2	Macho ¹	25,5	Exterior	sim	sim	Vectra 3D
14	Santarém	<i>Felis catus domesticus</i>	0,5	Macho ¹	4	Exterior	sim	não	
15	Santarém	<i>Felis catus domesticus</i>	0,5	Macho ¹	3	Exterior	sim	não	
16	Santarém	<i>Felis catus domesticus</i>	2	Fêmea ¹	3,3	Exterior	sim	sim	Seresto®
17	Santarém	<i>Felis catus domesticus</i>	0,25	Macho ¹	2,25	Interior/Exterior	sim	não	
18	Almancil	<i>Canis lupus familiaris</i>	10	Macho ²	9,6	Interior/Exterior	sim	sim	Effitix ®
19	Almancil	<i>Felis catus domesticus</i>	10	Fêmea ²	4,8	Interior/Exterior	sim	não	
20	Almancil	<i>Felis catus domesticus</i>	6	Macho ²	6,15	Interior/Exterior	sim	não	
21	São Brás de Alportel	<i>Felis catus domesticus</i>	10	Macho ²	4,55	Interior/Exterior	sim	não	
22	Almancil	<i>Felis catus domesticus</i>	6	Macho ²	4,6	Interior/Exterior	sim	não	
23	Sintra	<i>Felis catus domesticus</i>	1,5	Macho ²	5,3	Interior/Exterior	não	sim	vectra felix/ Bravecto®

Legenda:

¹-Animais inteiros

²- Animais castrados/ esterilizados

Anexo 7 - Motivo da consulta e sinais clínicos observados

Motivo da consulta	Pústula	Pápula	Eritema	Alopécia	Escoriação	Crosta	Vesícula	Nodulo	Outra	nível de prurido (1-10)
ovh			✓		✓	✓				7
check-up				✓		✓				4
ecografia				✓		✓				5
ovh										3
ovh			✓			✓				3
ovh			✓			✓				5
tosquia										6
ovh			✓							4
check-up			✓							3
check-up			✓							3
check-up			✓							3
ovh	✓					✓				4
castração	✓		✓		✓	✓				7
castração										2
castração										2
ovh										2
prurido/ sinais neurológicos						✓			rotura de tímpano	9
prurido			✓			✓				7
vacinação			✓							2

vacinação			✓								1
prurido			✓	✓		✓					8
vacinação		✓	✓		✓						5
otite e feridas na face			✓	✓	✓	✓					9

Legenda:

Ovh- Ovário-histerectomia

Nível de prurido 1- caracteriza um prurido descrito por parte do tutor como nulo ou quase inexistente.

Nível de prurido 10- caracteriza um prurido muito intenso que causa um nível de desconforto elevado ao animal.

Anexo 8- Localização das lesões

Animal	Face	Pavilhão auricular	Membro anterior drt	Membro anterior esq	Membro posterior drt	Membro posterior esq	Zona interdigital	Região inguinal	Região ventral	Mamilos	Umbigo	Dorso	Cauda
1									✓	✓	✓		
2	✓												
3	✓												
4		✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	✓		
5		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		
6		✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓			
7			✓	✓	✓	✓	✓				✓		
8		✓	✓	✓	✓	✓	✓				✓		

Anexo 9 - Sinais clínicos observados nas reavaliações

Animal	Apresentav a parasitas?	Redução do número	Pústulas	Pápulas	Eritema	Alopécias	Escoriações	Crostas	Vesículas	Nódulos	Nível de prurido (1-10)
1		✓									1
2		✓									1
3		✓									1
4	✓	✓			✓			✓			2
5	✓	✓			✓			✓			3
6	✓	✓						✓			3
7		✓									1
8	✓	✓			✓						3
9	✓	✓									3
10	✓	✓			✓						3
11					✓						3
12		✓									1
13		✓									1
14		✓									1
15		✓									1

16		✓											2
17		✓											1
18													1
19	✓												1
20	✓					✓							1
21	✓					✓				✓			8,5
22	✓	✓								✓			1,5
23		✓											3

Anexo 10- Localização das formas larvares na reavaliação

Animal	Face	Pavilhão Auricular	Membro anterior drt	Membro anterior esq	Membro posterior drt	Membro posterior esq	Zona interdigital	Região inguinal	Região ventral	Mamilos	Umbigo	Dorso	Cauda
1													
2													
3													
4			✓				✓		✓		✓		
5			✓	✓			✓	✓			✓		
6			✓				✓				✓		

Anexo 11- Medições realizadas nos ácaros trombiculídeos observados (valores em µm).

Amostra	AW	PW	SB	ASB	PSB	SD	P- PL	AP	AM	AI	PL	S	H	pa	pm	pp	lp	DS	VS	NDV
1	65	70	25	22,5	10	32,5	2,5	20	32,5	22,5	30	47,5	0	275	245	250	770	28	31	59
2	65	70	20	15	12,5	27,5	5	20	20	22,5	40	40	35	270	235	285	790	32	29	61
3	65	72,5	20	17,5	10	27,5	5	20	20	25	37,5	37,5	35	275	225	280	780	30	30	60
4	62,5	75	25	15	7,5	22,5	5	22,5		22,5		47,5	40	270	235	290	795	25	26	51
5	62,5	72,5	25	15	7,5	22,5	5	17,5	22,5	22,5	35	37,5	32,5	245	225	255	725	28	22	50
6	77,5	97,5	32,5	35	35	70	30	45	55	50	62,5	80	60	287,5	255	305	847,5	35	25	60
7	75	95	30	35	37,5	65	30	25	55	45	60	75	40	270	250	300	820	35	26	61
8	70	87,5	31,5	25	32,5	57,5	32,5	25	57,5	42,5	62,5	75	25	275	260	287,5	822,5	30	24	54
9	72,5	92,5	35	30	35	70	30	30	60	45	65	80	45	280	265	300	845	32	26	58
10	67,5	72,5	22,5	20	15	35	5	22,5	32,5	25	40	47,5	32,5	270	235	285	790	33	28	61
11	62,5	72,5	22,5	15	7,5	22,5	2,5	17,5	30	22,5	37,5	25	37,5	275	245	285	805	31	26	57
12	67,5	72,5	22,5	20	15	35	5	22,5	32,5	25	40	47,5	32,5	270	235	285	790	33	28	61
13	65	70	20	15	12,5	27,5	5	20	20	22,5	40	40	35	270	235	285	790	32	29	61
14	62,5	72,5	22,5	15	7,5	22,5	2,5	17,5	30	22,5	37,5	25	37,5	275	245	285	805	31	26	57
15	67,5	72,5	22,5	20	15	35	5	22,5	32,5	25	40	47,5	32,5	270	235	285	790	33	28	61
16	65	70	20	15	12,5	27,5	5	20	20	22,5	40	40	35	270	235	285	790	32	29	61
17	65	72,5	20	17,5	10	27,5	5	20	20	25	37,5	37,5	35	275	225	280	780	30	30	60
18	67,5	80	22,5	17,5	12,5	30	10	20	25	25	37,5	45		245				26	22	48

19	62,5	72,5	22,5	22,5	12,5	35	5	22,5	25		45		30					26 a 28	25	51 a 53
20	62,5	75	25	15	7,5	22,5	5	22,5		22,5		47,5	40	270	235	290	795	25	26	51
21	62,5	72,5	25	15	7,5	22,5	5	17,5	22,5	22,5	35	37,5	32,5	245	225	255	725	28	22	50
22	65	75	25	17,5	7,5	25	5	17,5	22,5	22,5	37,5	52,5	12	265	255	300	820	30	29	59
23	62,5	75	25	15	7,5	22,5	5	22,5		22,5		47,5	40	270	235	290	795	25	26	51
24	60	75	25	17,5	10	27,5	7,5	22,5	30	25	42,5	50	37,5	280	260	280	820	30	29	59
25	65	70	20	15	12,5	27,5	5	20	20	22,5	40	40	35	270	235	285	790	32	29	61
26	60	75	25	17,5	10	27,5	7,5	22,5	30	25	42,5	50	37,5	280	260	280	820	30	29	59
27	62,5	75	25	17,5	10	27,5	5	22,5	25		40	52,5	32,5	285	265	295	845	26	26	52
28	65	70	20	15	12,5	27,5	5	20	20	22,5	40	40	35	270	235	285	790	32	29	61
29	65	75	25	17,5	7,5	25	5	17,5	22,5	22,5	37,5	52,5	12	265	255	300	820	30	29	59
	62,5	72,5	22,5	22,5	12,5	35	5	22,5	25		45		30					26 a 28	25	51 a 53
30	65	75	25	20	10	30	7,5	22,5	22,5	25	40		30	290	245	300	835	28	26	54
31	62,5	72,5	25	15	7,5	22,5	5	17,5	22,5	22,5	35	37,5	32,5	245	225	255	725	28	22	50
32	62,5	75	25	15	7,5	22,5	5	22,5		22,5		47,5	40	270	235	290	795	25	26	51
33	60	75	25	17,5	7,5	27,5	5	22,5	30	25	42,5	50	37,5	280	260	280	820	30	28	58
34	60	67,5	22,5	22,5	10	32,5	5	25	30		30	45	40	270	255	255	780	25	26	51
35	62,5	72,5	25	15	7,5	22,5	5	17,5	22,5	22,5	35	37,5	32,5	245	225	255	725	28	22	50

36	60	67,5	22,5	22,5	10	32,5	5	25	30		30	45	40	270	255	255	780	25	26	51
37	60	75	22,5	17,5	7,5	25	5	20	25	22,5	40	50		285	255	280	820	26	26	52
38	65	75	25	20	10	30	7,5	22,5	22,5	25	40		30	290	245	300	835	28	26	54
39	62,5	75	25	17,5	10	27,5	5	22,5	25		40	52,5	32,5	285	265	295	845	26	26	52
40	60	67,5	22,5	22,5	10	32,5	5	25	30		30	45	40	270	255	255	780	25	26	51
41	65	75	25	17,5	7,5	25	5	17,5	22,5	22,5	37,5	52,5	12	265	255	300	820	30	29	59
42	62,5	72,5	25	15	7,5	22,5	5	17,5	22,5	22,5	35	37,5	32,5	245	225	255	725	28	22	50
43	65	75	25	20	10	30	7,5	22,5	22,5	25	40		30	290	245	300	835	28	26	54
44	62,5	72,5	22,5	22,5	12,5	35	5	30	32,5	37,5	45	52,5	30	285	255	290	830	24	25	
45	65	67,5	22,5	20	12,5	32,5	5	22,5	37,5	12,5	37,5	50	30		245	285		24	28	52
46	60	75	22,5	17,5	7,5	25	5	20	25	22,5	40	50		285	255	280	820	26	26	52
47	60	67,5	22,5	22,5	10	32,5	5	25	30		30	45	40	270	255	255	780	25	26	51
48	65	75	25	17,5	7,5	25	5	17,5	22,5	22,5	37,5	52,5	12	265	255	300	820	30	29	59
49	67,5	72,5	25	20	12,5	32,5	5	22,5		35	45	52,5		300	245	305	850	24	25	49
50	62,5	72,5	20	22,5	10	35	5	30	32,5	37,5	45	52,5	25	285	255	290	830	24	25	
51	60	75	22,5	17,5	7,5	25	5	20	25	22,5	40	50		285	255	280	820	26	26	52
52	65	72,5	22,5					25			40		30	270	240	280	790	26		
53	67,5	72,5	25	20	12,5	32,5	5	22,5		35	45	52,5		300	245	305	850	24	25	49
54	62,5	72,5	22,5	22,5	12,5	35	5	30	32,5	37,5	45	52,5	30	285	255	290	830	24	25	
55	62,5	72,5	22,5	22,5	12,5	35	5	30	32,5	37,5	45	52,5	30	285	255	290	830	24	25	
56	67,5	72,5	25	20	12,5	32,5	5	22,5		35	45	52,5		300	245	305	850	24	25	49

57	70	90	35	25	32,5	57,5	30	20	40	42,5	60	65	50	265	230	280	775	28		
58	70	90	35	25	32,5	57,5	30	20	40	42,5	60	65	50	265	230	280	775	28	20	48
59	67,5	82,5	30	27,5	27,5	55	25	27,5	37,5	40	60	65	52,5					28	21	49
60	65	90	30	25	30	55	25	20	35	40	60	70	55	265	260	280	805	27	20	47
61	67,5	82,5	30	27,5	27,5	55	25	27,5	37,5	40	60	65	52,5	260	240	285	785	28	21	49
62	70	90	35	25	32,5	57,5	30	20	40	42,5	60	65	50	265	230	280	775	28	20	48
63	65	90	30	25	30	60	25	20	35	40	60	70	55	265	260	280	805	27	20	47
64	65	85	30	25	30	55	30	30	42,5	40	62,5	75	50					28	22	50
65	70	87,5	32,5	25	32,5	57,5	32,5	25	57,5	42,5	62,5	75	25	275	260	287,5	822,5	30	24	54
66	70	87,5	32,5	25	32,5	57,5	32,5	25	57,5	42,5	62,5	75	25	275	260	287,5	822,5	30	24	54
67	72,5	92,5	35	30	35	70	30	30	60	45	65	80	45	280	265	300	845	32	26	58
68	75	85	35	27,5	32,5	60	30	30	57,5	45	60	80	35	275	250	300	825	30	25	55
69	62,5	70	30	25	15	40	10	27,5	42,5	25	47,5	62,5	30	282,5	250	280	812,5	30	35	65
70	72,5	92,5	32,5	27,5	30	57,5	20	30	35	45	62,5	77,5	62,5	275	250	290	815	31	37	68
71	72,5	90	32,5	25	30	55	20	32,5	35	45	60	75	60	275	250	290	815	30	36	66
72	65	75	30	25	25	50	15	30	37,5	35	55	72,5	60	280	245	280	805	30	35	
73	67,5	97,5	32,5	35	37,5	72,5	22,5	35	25	45	60	50	35	280	235	280	795	31	37	68
74	72,5	92,5	32,5	27,5	30	57,5	20	30	35	45	62,5	77,5	62,5	275	250	290	815	31	37	68
75	67,5	97,5	32,5	35	37,5	72,5	22,5	35	25	45	60	50	35	280	235	280	795	31	37	68
76	72,5	90	32,5	25	30	55	20	32,5	35	45	60	75	60	275	250	290	815	30		
77	72,5	92,5	32,5	27,5	30	57,5	20	30	35	45	62,5	77,5	62,5	275	250	290	815	31	37	68

78	67,5	97,5	32,5	35	37,5	72,5	22,5	35	25	45	60	50	35	280	235	280	795	30	35	65
79	72,5	90	32,5	25	30	55	20	32,5	35	45	60	75	60	275	250	290	815	30	36	66
80	72,5	92,5	32,5	27,5	30	57,5	20	30	35	45	62,5	77,5	62,5	275	250	290	815	31	37	68
81	75	80	35	20	30	50	27,5	27,5	57,5	40	50	80	30	137,5	117,5	130	385	30	25	55
82	75	82,5	35	20	30	50	25	25	60	40	55	82,5	30	135	115	127,5	377,5	30	24	54
83	72,5	77,5	32,5	20	28,5	48,5	25	25	55	40	50	80	27,5	140	120	132,5	392,5	31	24	55
84	27,5	80	37,5	20	32,5	52,5	30	30	57,5	40	45	85	32,5	140	125	130	395	29	26	55
85	75	97,5	32,5	35	35	70	30	45	55	50	62,5	80	60	287,5	255	305	847,5	35	25	60
86	75	95	30	30	37,5	67,5	30	30	50	45	60	75	40	270	250	300	820	35	26	61
87	70	90	31,5	25	32,5	57,5	32,5	25	57,5	42,5	62,5	75	25	275	260	287,5	822,5	30	24	54
88	72,5	92,5	35	30	35	70	30	30	60	45	65	80	45	280	265	300	845	32	26	58

Legenda:

AM-Cerda anteromedial

AL- Cerda anterolateral

PI- Cerda posterolateral

S- Sensilha

H- Tamanho da cerda umeral

AW- Distância entre as cerdas anterolaterais

PW- Distância entre as cerdas posterolaterais

SB- Distância entre as sensilhas

ASB- Distância entre a sensilha e o extremo anterior do escudo

PSB- Distância entre a sensilha e o extremo posterior do escudo

P-PL- Distância entre a cerda posterolateral e a margem posterior do escudo

H- Tamanho da cerda humoral

Pa-Tamanho da pata anterior

Pm-Tamanho da pata intermédia

Pp- Tamanho da pata posterior

Ip- Somatório das medidas das 3 patas do mesmo lado

DS- Número total de cerdas dorsais

VS- Número total de cerdas ventrais

NDV- Somatório das cerdas dorsais e ventrais

Anexo 12- First report of *Ericotrombidium ibericense* in domestic dogs

Acta Parasitologica
<https://doi.org/10.1007/s11686-020-00247-6>

CASE REPORT



First report of *Ericotrombidium ibericense* in domestic dogs

David W. Ramilo¹ · Pedro Costa² · Alexandr A. Stekolnikov³ · João Martinho Cláudio⁴ · Ana Mafalda Lourenço¹ · Isabel Pereira da Fonseca¹ · Luis Cardoso⁵

Received: 15 May 2020 / Accepted: 22 June 2020
© Witold Stefański Institute of Parasitology, Polish Academy of Sciences 2020

Abstract

Purpose Larval stages of trombiculid mites infest a wide variety of wild and domestic animals. The most common clinical signs related with the presence of these parasites are alopecia, crusts, erythema, excoriation, erosion, papules, pustules and vesicles. Most of trombiculid infestations may not be perceived by the clinician due to their small size. Although *Ericotrombidium ibericense* has been recorded on cats, it has not been found on dogs.

Methods In August 2019, three domestic dogs presenting pruritic dermatological lesions in the ventral area of the body and interdigital spaces were presented at a veterinary clinic in Santarém, central Portugal. Trombiculid mites were extracted from the skin and preserved in 70% ethanol. Specimens were prepared in slides with Hoyer's medium and observed with optical microscopy.

Results After morphological examination of the specimens, mites were identified as *E. ibericense* (Acariformes: Trombiculidae).

Conclusions Most of the trombiculids recorded in European clinical practice are generally identified as *Neotrombicula autumnalis* by default, since, in most cases, mites are not examined morphologically. This is the first record of *E. ibericense* in domestic dogs. More studies are needed to evaluate the distribution of these mites in Portugal. Veterinary clinicians must be aware of this parasitosis, as trombiculids can cause exuberant clinical signs, but are often misdiagnosed.

Keywords Dog · Chigger mites · *Ericotrombidium ibericense* · Trombiculidae

Introduction

Trombiculid larvae, also known as “chigger mites”, parasitize a wide variety of terrestrial animals, including mammals, birds, reptiles, amphibians, and rarely invertebrates [1–3]. In addition, *Neotrombicula autumnalis* is a potential vector of different *Rickettsia* and *Borrelia* spp. of major zoonotic concern [4].

A wide variety of dermatological signs can be observed in domestic animals presenting with trombiculids, including alopecia, crusts, erythema, excoriation, erosions, papules, pustules and vesicles [5, 6] in ear margins, face, interdigital spaces and ventral abdomen [6, 7]. Nevertheless, the level of pruritus is variable and some animals may harbour a high number of specimens without any associated skin lesion or clinical sign [7], while others exhibit severe clinical signs even with a small number of infesting trombiculids [8].

Female trombiculids lay their eggs on the soil, mainly during late summer and autumn, although these arthropods can occur in other seasons [9]. Larvae hatch in

David W. Ramilo and Pedro Costa: Joint first authors.

✉ Isabel Pereira da Fonseca
ifonseca@fmv.ulisboa.pt

¹ Faculdade de Medicina Veterinária, CIISA - Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Universidade de Lisboa, Avenida da Universidade Técnica, 1300-477 Lisboa, Portugal

² Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

³ Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, Universitetskaya Embankment, 1, Saint Petersburg 199034, Russia

⁴ São Francisco de Assis Veterinary Clinic, Praceta Capitão Varela Santos 14, 2000-016 Santarém, Portugal

⁵ Department of Veterinary Sciences, and Animal and Veterinary Research Centre (CECAV), University of Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal

Published online: 15 July 2020

Springer