



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

Oncocercose Ocular Canina

Ruben Miguel da Palma Marreiros

Orientação: Dr. Nuno Alexandre

Coorientação: Dr. Mário Mansinho

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Relatório de Estágio

Évora, 2013



UNIVERSIDADE DE ÉVORA

ESCOLA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINÁRIA

Oncocercose Ocular Canina

Ruben Miguel da Palma Marreiros

Orientação: Dr. Nuno Alexandre

Coorientação: Dr. Mário Mansinho

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Relatório de Estágio

Évora, 2013

A. Agradecimentos

Gostaria de manifestar os meus agradecimentos a todos os que, de alguma forma, contribuíram para que este sonho se concretizasse.

Ao meu orientador, Dr. Nuno Alexandre pela inigualável ajuda e total disponibilidade durante todo o meu percurso na Medicina Veterinária e pelo empenho manifestado no acompanhamento e na revisão deste relatório.

Ao Dr. Mário Mansinho, meu coorientador por me ter acolhido no Hospital Veterinário (INEMVET HV), por todos os ensinamentos, bom senso, calma e auxílio manifestado durante o estágio e durante a realização deste relatório.

À Dr.^a Sandra Carmo pelos enormes ensinamentos em cirurgia, pela dedicação e perfeccionismo, um exemplo.

À Dr.^a Patrícia Gomes pela sabedoria transmitida sobre a realização das técnicas laboratoriais de diagnóstico e ecografia, pelo enorme à vontade e alegria que possui e transmite.

À Dr.^a Jacinta, ao Dr. David, à Dr.^a Sofia pela paciência, dedicação e empenho.

A toda a equipa e auxiliares do INEMVET HV, Cláudia, Magali, Sara, Sónia e Laura pelo ambiente de profissionalismo e simpatia, fizeram-me sentir em casa.

Aos meus colegas estagiários, por toda a força, companheirismo e espírito de ajuda concedido.

Aos meus pais e irmão, que para além de acreditaram em mim deixaram o meu futuro nas minhas mãos.

Uma enorme gratidão à minha família de Évora, Carolina Paixão, Tiago Marcelino, Inês Cabral, Jaime Seidi, Inês Dores, Luís Gandra e restantes, pela amizade demonstrada, pelo apoio incondicional nas fases mais difíceis, pelos momentos únicos e experiências vividas...jamais esquecerei, sem estes Amigos, todo este percurso teria sido impossível!

A todos os animais que passaram na minha vida, especialmente o Rafi e a Jollie, que me demonstraram o quanto vale a pena dedicar-lhes uma vida!

B. Resumo

O estágio curricular em clínica de animais de companhia que originou este relatório teve lugar no INEMVET HV num período de 5 meses. A primeira parte deste relatório corresponde à casuística resultante das atividades desenvolvidas neste período, sendo que a segunda parte corresponde à revisão bibliográfica subordinada ao tema – oncocercose ocular canina (OOC).

Desde 1991 têm sido reportados cada vez mais casos de OOC na literatura mundial. No presente relatório procurarei descrever a morfologia, características moleculares, ciclo biológico, características dos vetores, distribuição geográfica e fatores de suscetibilidade ao parasita, bem como a sua patologia, sinais clínicos, critérios de diagnóstico, terapêutica, prognóstico, profilaxia e significância zoonótica. Além disso reportarei um caso de OOC num canídeo macho de 8 anos, na região do Algarve que apresentava organismos filiformes emergentes de nódulos da conjuntiva e esclera sendo o seu diagnóstico baseado nas estruturas morfológicas do parasita.

Palavras-chave: Canídeo; *Onchocerca lupi*; Ocular; Parasita; Zoonose

C. Abstract

Canine ocular onchocercosis

The curricular internship in an animal clinic company that originated this report took place in INEMVET HV, over a period of 5 months. The first part of this report introduces the resulting casuistic of the activities developed over the internship period, while the second part presents a bibliographic review on the subject of canine ocular onchocercosis (OOC).

Since 1991, the number of reported cases of OOC in worldwide literature has been increasing. In this report the morphology, molecular characteristics, biologic cycle, vector characteristics, geographic distribution and parasite susceptibility factors will be presented as well as their pathology, clinic signals and diagnosis, therapeutic prognosis, prophylaxis and zoonotic significance criteria. A case of OOC in an 8 year old male from the region of Algarve is also presented. The canid presented filiform organisms which emerged from the nodules of the conjunctiva and sclera. The diagnose was based on the morphologic structures of the parasite.

Keywords: Canid; *Onchocerca lupi*; Ocular; Parasite; Zoonosis

D. Índice geral

A. Agradecimentos.....	ii
B. Resumo.....	iii
C. Abstract.....	iii
D. Índice geral.....	iv
E. Índice de gráficos.....	vi
F. Índice de tabelas.....	vii
G. Índice de figuras.....	ix
H. Abreviaturas e Siglas.....	xii
I. Introdução.....	1
II. Casuística.....	2
1. Distribuição animal.....	2
2. Áreas clínicas.....	3
2.1. Medicina preventiva.....	4
2.1.1. Vacinação.....	5
2.1.2. Desparasitação.....	7
2.2. Patologia médica.....	9
2.2.1. Artrologia, ortopedia, traumatologia.....	10
2.2.2. Cardiologia.....	11
2.2.3. Dermatologia.....	12
2.2.4. Doenças infecciosas e parasitárias.....	14
2.2.5. Endocrinologia.....	16
2.2.6. Etologia.....	17
2.2.7. Gastroenterologia.....	17
2.2.8. Ginecologia e andrologia.....	19
2.2.9. Hematologia.....	20
2.2.10. Nefrologia e urologia.....	20
2.2.11. Neurologia.....	22
2.2.12. Odontostomatologia.....	23
2.2.13. Oftalmologia.....	25
2.2.14. Oncologia.....	26
2.2.15. Otorrinolaringologia.....	28
2.2.16. Pneumologia.....	29
2.2.17. Sistema muscular.....	31
2.2.18. Toxicologia.....	31
2.3. Patologia cirúrgica.....	32
2.3.1. Cirurgia de tecidos moles.....	34
2.3.2. Pequena cirurgia.....	36
2.3.3. Cirurgia ortopédica.....	37
3. Exames complementares de diagnóstico.....	38
3.1. Análises clínicas.....	39
3.2. Imagiologia.....	40
3.3. Kits imunocromatográficos.....	41
3.4. Outros meios/procedimentos complementares de diagnóstico.....	41
4. Outras áreas de intervenção médico-veterinária.....	42
5. Animais exóticos.....	43

III. Monografia - Oncocercose ocular canina.....	44
1. Oncocercose canina	44
1.1.Referência histórica.....	44
1.2.Taxonomia	46
1.3.Morfologia e fisiologia do parasita.....	47
1.4.Caracterização molecular.....	51
2. O endossimbionte <i>Wolbachia</i>	54
3. Ciclo biológico do parasita.....	55
3.1.Ciclo de vida	55
3.2.Características dos vetores.....	57
3.2.1. <i>Simulium</i> spp.	58
3.2.2. <i>Culicoides</i> spp.	60
3.3.Distribuição geográfica.....	62
4. Fatores de suscetibilidade à <i>Onchocerca</i> sp.....	63
4.1.Fatores extrínsecos ao hospedeiro vertebrado.....	64
4.2.Fatores intrínsecos ao hospedeiro vertebrado.....	65
5. Patologia e sinais clínicos.....	66
4.1. Importância da <i>Wolbachia</i> spp. na fisiopatologia.....	69
6. Diagnóstico.....	72
6.1.Identificação de adultos.....	73
6.2.Identificação de microfilárias.....	75
6.3.Serologia, imunohistoquímica, diagnóstico molecular.....	77
7. Terapêutica.....	78
7.1.Remoção cirúrgica dos parasitas.....	78
7.2.Terapêutica pós cirúrgica.....	80
7.3.Fármacos Anti- <i>wolbachia</i>	80
7.4.Plano de tratamento.....	82
8. Monitorização e Prognóstico.....	83
9. Profilaxia.....	83
10. Significância zoonótica.....	85
IV. Caso clínico.....	87
V. Discussão do caso clínico.....	95
VI. Conclusão.....	98
VII. Bibliografia.....	100

E. Índice de gráficos

Gráfico 1 - Distribuição da população de animais assistidos FR (%).....	3
Gráfico 2 - Principais áreas clínicas da Medicina Veterinária assistidas FR (%).....	3
Gráfico 3 - Frequência relativa das diferentes áreas da medicina preventiva assistidas para cada espécie.....	5
Gráfico 4 - Frequência relativa das diferentes áreas da patologia médica.....	10
Gráfico 5 - Frequência relativa das diferentes áreas da patologia cirúrgica.....	34
Gráfico 6 - Frequência relativa dos exames complementares de diagnóstico.....	39

F. Índice de tabelas

Tabela 1 - Principais áreas clínicas de Medicina Veterinária assistidas (FR e FA)..	3
Tabela 2 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de medicina preventiva..	5
Tabela 3 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de artrologia, ortopedia e traumatologia.....	10
Tabela 4 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de cardiologia.....	11
Tabela 5 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de dermatologia.....	13
Tabela 6 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de doenças infecciosas e parasitárias.....	15
Tabela 7 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de endocrinologia.....	16
Tabela 8 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de etologia.....	17
Tabela 9 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de gastroenterologia.....	18
Tabela 10 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de ginecologia e andrologia.....	19
Tabela 11 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de hematologia.....	20
Tabela 12 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de nefrologia e urologia.....	21
Tabela 13 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de neurologia	22
Tabela 14 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de odontoestomatologia.....	23
Tabela 15 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de oftalmologia.....	25
Tabela 16 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de oncologia.....	27
Tabela 17 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de otorrinolaringologia.	28
Tabela 18 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de pneumologia.....	30
Tabela 19 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de sistema muscular....	31
Tabela 20 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de toxicologia.....	31
Tabela 21 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de cirurgia de tecidos moles.....	35
Tabela 22 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de pequena cirurgia.....	36
Tabela 23 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de cirurgia ortopédica...	37
Tabela 24 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade análise clínicas.....	39
Tabela 25 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de imagiologia.....	40
Tabela 26 - FA e FR dos tipos de testes imunocromatográficos realizados.....	41

Tabela 27 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade outros meios de diagnóstico.....	42
Tabela 28 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade outras áreas de intervenção.....	42
Tabela 29 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade animais exóticos.....	43
Tabela 30 - Principais diferenças morfológicas entre <i>O. lienalis</i> e <i>O. lupi</i>	51
Tabela 31 - Manifestações oftalmológicas em 62 cães com OOC crónica.....	67
Tabela 32 - Helmintíases oculares relatadas em cães.....	68
Tabela 33 - Padrão de hospedeiros de <i>Onchocerca</i> spp. que infetam animais selvagens e domésticos na Europa e América do Norte.....	75
Tabela 34 - Dados morfométricos, presença de bainha e da forma do fim da cauda de microfilárias de <i>O. lupi</i>	77
Tabela 35 - Plano de tratamento para a OOC.....	82
Tabela 36 - Parâmetros de hemograma do “Noddy”, realizado no INEMVET HV..	89
Tabela 37 - Parâmetros bioquímicos do “Noddy”, realizado no INEMVET HV.....	90

G. Índice de Figuras

Figura 1 - (A) Radiografia da zona pélvica em projecção ventro-dorsal evidenciando displasia da anca bilateral em canídeo; (B) Fratura exposta do rádio esquerdo num felídeo.....	11
Figura 2 - Radiografia torácica em projecção latero-lateral evidenciando cardiomegália generalizada num canídeo, com edema pulmonar e colapso da traqueia.....	12
Figura 3 - (A) Abscesso na orelha direita de um felídeo; (B) Sinais dermatológicos (eritema intenso) de leishmaniose no plano nasal de um canídeo.....	13
Figura 4 - Mapa contendo a compilação de dados de diversos autores sobre a distribuição de leishmaniose canina e felina em Portugal até 2009.....	14
Figura 5 - (A) Canídeo com várias áreas de alopecia devido a <i>Demodex canis</i> ; (B) Esfregaço de sangue periférico com intensa neutrófila, eosinofilia e macro plaquetas (característico de doença transmitida por carraças).....	15
Figura 6 - Radiografia torácica em projecção latero-lateral de um canídeo com dilatação e torção gástrica.....	18
Figura 7 - (A) Piómetra em felídeo; (B) Piómetra em canídeo, ovário direito com quistos.....	19
Figura 8 - (A) Radiografia de canídeo com cálculos na bexiga; (B) Ecografia de canídeo com cálculos na bexiga.....	21
Figura 9 - (A) Cão com hidrocefalia; (B) Canídeo com síndrome vestibular periférico.....	23
Figura 10 - (A) Canídeo com língua edemaciada (lagarta do pinheiro); (B) Canídeo com periodontite, tártaro, mandíbula fraturada.....	24
Figura 11 - Felídeo com traumatismo ocular e consequente uveíte.....	26
Figura 12 - (A) Testículo direito com massa, fibroblastos; (B) Lâmina de PAAF de histiocitoma cutâneo em canídeo 400x diff-quick; (C) Mastocitoma prepucial em canídeo; (D) Tumor das células escamosas em felídeo.	27
Figura 13 - Lâmina de citologia auricular, contendo malassezias. Col. Diff-Quick 100x.....	29
Figura 14 - (A) Pneumotórax posterior a mordida com fratura de costela (B) Tubo de traqueostomia em canídeo, posterior a cirurgia laríngea. (C) Radiografia	

torácica em projecção latero-lateral evidenciando um padrão pulmonar brônquico e alveolar, num felídeo.....	30
Figura 15 - (A) Mastectomia de felídeo; (B) Tumor de baço, esplenectomia de canídeo. (C) Enterectomia em canídeo; (D) Exérese de nódulo cutâneo em canídeo, coxa esquerda; (E) Amputação do pénis devido a mastocitoma prepucial; (F) OVH terapêutica em canídeos.....	36
Figura 16 - (A) Algaliação de felídeo; (B) Sutura de laceração MPE num canídeo. (C) e (D) Sutura de ferida de mordedura na coxa esquerda de um canídeo.....	37
Figura 17 - (A) Radiografia ventro-dorsal onde se evidencia necrose assética da cabeça do fémur direito, animal seguiu para cirurgia; (B) Cirurgia rotula, canídeo..	38
Figura 18 - Laboratório INEMVET HV.....	39
Figura 19 - (A) Ecografia abdominal, com apresentação de um tumor no baço de um canídeo. (B) Radiografia latero-lateral torácico e abdominal de um canídeo.....	40
Figura 20 - <i>Kits</i> imunocromatográficos para diagnóstico de leishmaniose (negativos).....	41
Figura 21 - Realização de eletroacupuntura em canídeo.....	42
Figura 22 - Rato com abscesso no olho.....	43
Figura 23 - Árvore taxonómica do género <i>Onchocerca</i>	47
Figura 24 - Seção transversal de um macho, ilustrando os testículos arredondados cheios de espermátocitos.....	48
Figura 25 - Fêmea de <i>O. lupi</i> imatura extraída de um bloco de parafina.....	50
Figura 26 - Relações filogenéticas de alguns nemátodes.....	53
Figura 27 - Ciclo de vida de <i>Onchocerca</i> spp.....	57
Figura 28 - Estágios de desenvolvimento dos <i>Simuliidae</i> spp.....	59
Figura 29 - (A) <i>Culicíide midges</i> : 1,2-adultos; 2-ovos; 3-larva; 4-pupa; (B) <i>Culicíide midges</i> alimentando-se.....	61
Figura 30 - Mapa demonstrativo da distribuição de <i>Acanthocheilonema reconditum</i> , <i>Cercopithifilaria</i> spp., <i>Onchocerca lupi</i> e <i>Thelazia callipaeda</i> na Europa.....	62
Figura 31 - Resposta induzida pela <i>Wolbachia</i> spp. nas células.....	71
Figura 32 - Morfologia cuticular de fêmeas de <i>O. lupi</i>	74
Figura 33 - Microfilárias de <i>O. lupi</i> ; (A) Microfilária não fixada nem corada; (B)	

Microfilária corada com hematoxilina.....	76
Figura 34 - Alinhamento de sequências do gene de rRNA 5S ribossomal.....	78
Figura 35 - Remoção cirúrgica de massas perioculares.....	79
Figura 36 - Remoção de organismos filiformes da conjuntiva superior do olho esquerdo.....	88
Figura 37 - Teste de detecção de antígeno de <i>Dirofilaria immitis</i> - negativo.	90
Figura 38 - Fragmentos da estrutura filiforme retirada de nódulos do olho esquerdo.....	91
Figura 39 - (A) Seção longitudinal da cutícula ilustrando rugas cuticulares exteriores (seta inferior) e estrias cuticular interiores (setas superiores) (400x); (B) Região central do parasita ilustrando microfílarias no útero (400x).....	91
Figura 40 - Nódulos visíveis na conjuntiva superior e inferior do olho esquerdo.....	92
Figura 41 - Já não existem nódulos nem sinais clínicos visíveis, alta clínica.....	94

H. Abreviaturas e Siglas

µm - Micrómetro	INEMVET HV - Hospital Veterinário
ADN - Ácido desoxirribonucleico	INEMVET
ALT - Alanina transaminase	IRA - Insuficiência renal aguda
ARN - Ácido ribonucleico	L1 - Primeiro estado larvar
BID - Duas vezes ao dia	L2 - Segundo estado larvar
Bpm – Batimentos por minuto	L3 - Terceiro estado larvar
CO2 - Dióxido de carbono	L4 - Quarto estado larvar
COI - Subunidade I do gene citocromo oxidase	mf – Microfilárias
DP - doença periodontal	mg - Miligrama
ELISA - Ensaio de Imunoabsorção Ligado a Enzima	mm - Milímetro
EU - União Europeia	ND – Não disponível
EUA – Estados Unidos da América	ND5 - Subunidade 5 do gene NAD desidrogenase
FA - Frequência absoluta	NF-kB - Fator potenciador das cadeias kappa das células B ativadas
FeLV - Vírus da leucemia felina	OOC – Oncocercose ocular canina
Fiv – Vírus da imunodeficiência felina	Ov39 - Antígeno de Onchocerca volvulos
FLUTD - Doença do Trato Urinário Inferior dos Felinos	OVH – Ovariohisterectomia
FR - Frequência relativa	PAAF - Punção aspirativa por agulha fina
FtsZ - Gene da proteína do ciclo celular dos endossimbiontes Wolbachia de Onchocerca sp. canina	PCR - Reação em cadeia da polimerase
GGT - Gama-glutamyltransferase	PIF - peritonite infecciosa felina
H&E - Hematoxilina-Eosina	RM - Ressonância magnética
HCC - Histiocitoma cutâneo canino	RPM - Respirações por minuto
hr44 - Antígeno do hospedeiro que faz reação cruzada com o Ov39	SC - Subcutâneo
IFN-γ - Interferon gamma	SID - Uma vez ao dia
Ig - Imunoglobulina	SIRA - Sistema de Identificação e Recuperação Animal
IL - Interleucina	TAC - Tomografia Computorizada
IM – Intramuscular	Th1 - Linfócitos T – helper do tipo 1
	TRC – Tempo de repleção capilar

TRPC - Tempo de retração prega
cutânea

WSP - Gene da proteína de superfície
dos endossimbiontes Wolbachia de
Onchocerca sp. canina

I. Introdução

Com o presente relatório, pretendo descrever o meu estágio curricular de domínio fundamental do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora na área de clínica de animais de companhia. Este estágio teve a coordenação do Dr. Nuno Alexandre e a coorientação científica do Dr. Mário Mansinho. O estágio decorreu ao longo de cinco meses no Hospital Veterinário INEMVET (INEMVET HV), de 26 de novembro de 2012 a 26 de abril de 2013.

O INEMVET HV é uma estrutura hospitalar que oferece uma ampla gama de serviços médico-veterinários. O hospital possui dois consultórios (um de felinos, outro de canídeos), duas salas de internamentos (uma delas dedicada a doenças infetocontagiosas), uma sala de radiografia, uma sala de traumatologia, um laboratório, uma sala de cirurgia e uma sala de banhos e tosquiadas.

O estágio curricular foi efetuado num horário rotativo diário, que abrangeu períodos diurnos, noturnos, fins de semana e feriados, de modo a possibilitar o acompanhamento de todo o tipo de situações clínicas. No decorrer do estágio tive a oportunidade de participar em consultas, em cirurgias e no acompanhamento dos animais internados. Nas consultas das várias especialidades, houve o acompanhamento do clínico veterinário na realização da anamnese, do exame físico e dos exames complementares. No internamento, foi-me possível acompanhar, monitorizar e administrar a medicação a cada animal. Já no bloco cirúrgico, acompanhei os pacientes antes, durante e após as cirurgias, realizando os exames pré-anestésicos, a monitorização da anestesia, o auxílio durante a cirurgia e o acompanhamento pós-cirúrgico.

O presente relatório encontra-se dividido em três partes. A primeira parte consiste na descrição das atividades efetuadas durante o estágio curricular que me permitiram consolidar e aplicar os conhecimentos adquiridos ao longo do meu percurso académico, compreender a sua importância no contexto real de trabalho, assim como aprender novos conhecimentos. A segunda parte consiste numa monografia sobre oncocercose ocular canina (OOC), onde se procurou efetuar uma revisão bibliográfica do tema permitindo uma melhor compreensão da sua importância em Medicina Veterinária. Por fim a terceira parte, consiste na descrição do caso clínico que esteve na base da escolha do tema da monografia.

II. Casuística

Durante estes meses de estágio, houve a oportunidade de colocar em prática muitos dos conhecimentos adquiridos ao longo dos cinco anos de curso. Estes conhecimentos adquiridos, quer teóricos quer práticos, necessitam de uma prática constante e durante a realização deste estágio foi permitido isso mesmo, num ambiente hospitalar. A maioria das especialidades da medicina veterinária foi abordada e foi possível a interação com os proprietários, área muito importante nesta profissão e naturalmente pouco desenvolvida durante o curso.

Nesta primeira parte do relatório, procurou-se agrupar os casos e procedimentos clínicos assistidos nas diferentes áreas. Estes serão agrupados nas áreas de medicina preventiva, patologia médica, patologia cirúrgica, exames complementares de diagnóstico, outras áreas da medicina veterinária e animais exóticos.

Os dados obtidos serão apresentados evidenciando o número de casos assistidos, frequência absoluta (FA), bem como as suas frequências relativas (FR) calculadas a partir de $FR = (FA \text{ de cada afeção} / FA \text{ total}) \times 100$.

Dentro de cada área haverá em alguns casos uma breve descrição das afeções assistidas, sendo escolhidas quer as afeções mais frequentes quer as que suscitaram interesse por serem pouco comuns.

1. Distribuição animal

A população total de animais assistidos no INEMVET HV, foi de 814 animais. Esta população é constituída por canídeos, felídeos e um grupo de animais exóticos. Pelo número reduzido de animais exóticos acompanhados (apenas oito) estes foram agrupados separadamente. Como se pode ver no gráfico 1, os canídeos foram o grupo de animais com maior frequência relativa (73,22%) seguindo-se os felídeos com $FR=25,80\%$.

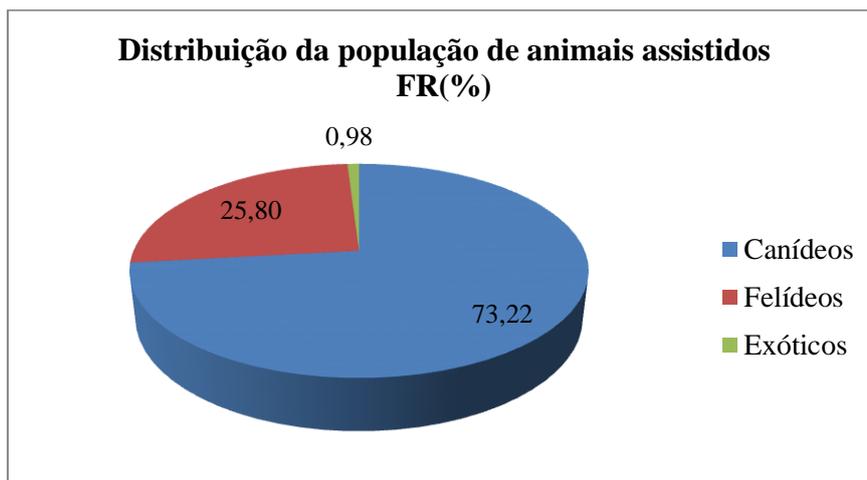


Gráfico 1 - Distribuição da população de animais assistidos FR (%).

2. Áreas clínicas

Como referido anteriormente, as áreas clínicas estão divididas de forma a facilitar a compreensão dos dados em três áreas, medicina preventiva, patologia médica e patologia cirúrgica. Dentro destas áreas, a área com maior número de animais assistidos foi a patologia médica (FA=444) (tabela 1; gráfico 2), o que pode ser explicado por ser a área que abrange mais serviços dentro do hospital.

Tabela 1 - Principais áreas clínicas de Medicina Veterinária assistidas (FR e FA).

Área	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Medicina preventiva	195	55	250	31,02
Patologia médica	338	106	444	55,09
Patologia cirúrgica	63	49	112	13,90
Total	596	210	806	100,00

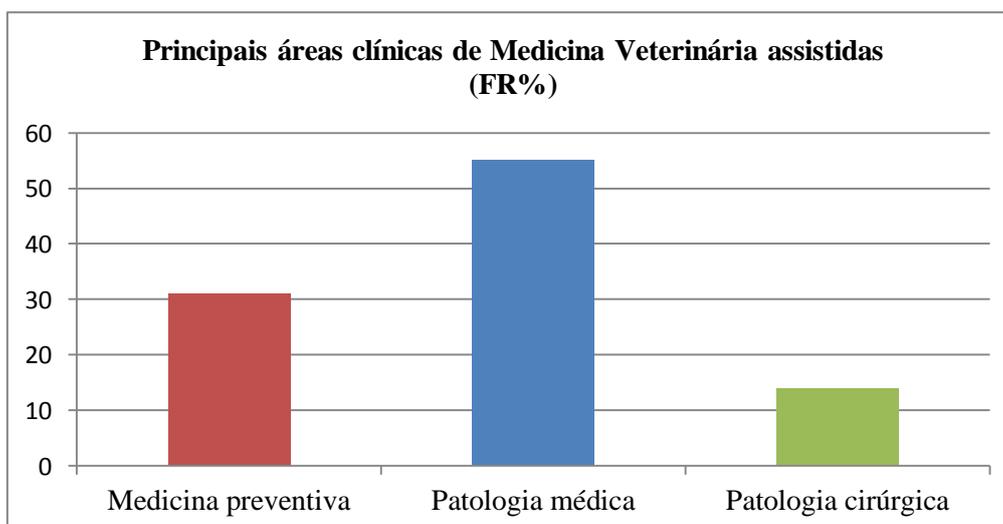


Gráfico 2 - Principais áreas clínicas de Medicina Veterinária assistidas FR (%).

2.1. Medicina Preventiva

Hoje em dia os animais são vistos cada vez mais como um elemento importante no lar. São um membro da família e como parte integrante do agregado familiar os seus proprietários exigem que tenham uma vida saudável e longa, o que associado ao acesso facilitado à informação, torna-os cada vez mais esclarecidos da importância da medicina preventiva.

A medicina preventiva engloba a promoção do bem-estar e da saúde dos animais. Do ponto de vista médico tem uma forte componente de sensibilização e educação dos proprietários, promovendo a sua satisfação e fidelização, aumentando o cumprimento das recomendações médicas. Do ponto de vista empresarial, promove o aumento da frequência e da regularidade das visitas à clínica por parte do cliente, sendo uma componente importante na viabilidade financeira da clínica.

O objetivo da medicina preventiva será a gestão dos fatores de risco tendo em conta a condição do animal. Esta gestão evitará o aparecimento de doenças ou, quando inevitável, promove a sua deteção precoce. Esta gestão assenta em programas de profilaxia, que podem ir desde o plano de profilaxia vacinal, ao plano de profilaxia da dirofilariose, entre outros.

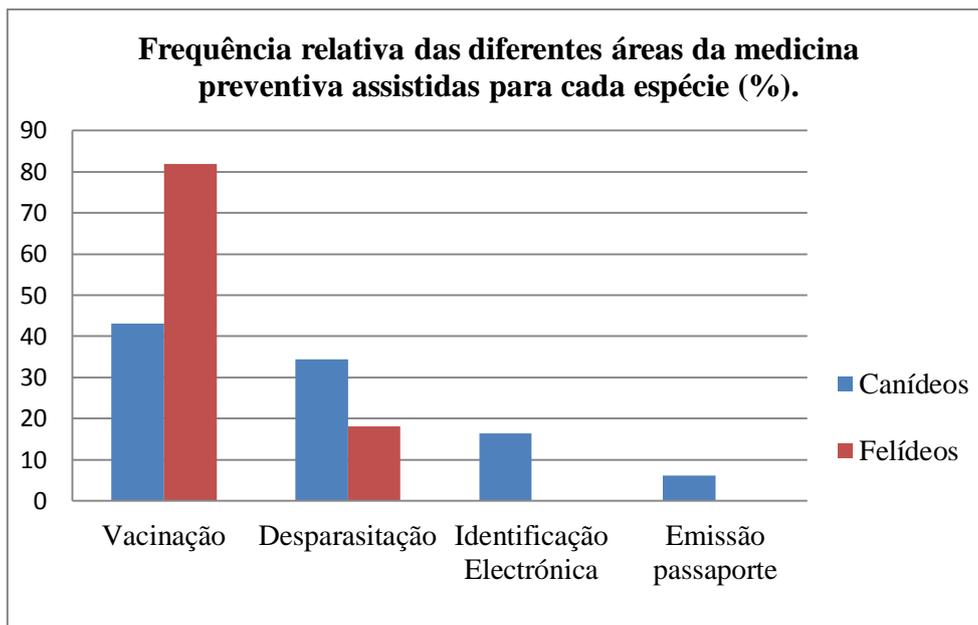
No INEMVET HV, estas ações são sobretudo relacionadas com as vacinações e as desparasitações dos animais. Por outro lado desde 1 de julho de 2008, de acordo com o artigo 6º do Decreto-Lei nº 313/2003 de 17 de dezembro, a identificação eletrónica tornou-se obrigatória em canídeos o que tem vindo a aumentar a frequência desta ação. Já o passaporte de saúde animal é um documento que comprova o estado de saúde do animal de estimação e que o permite circular na União Europeia (UE). Este documento azul, de formato comunitário, é emitido pelos veterinários e é obrigatório para os animais que viajam na União Europeia.

Sempre que se fazia uma identificação eletrónica todos os dados referentes quer ao proprietário quer ao animal eram inseridos na base de dados do SIRA (Sistema de Identificação e Recuperação Animal).

No meu estágio a área da medicina preventiva teve uma FR de 31,02% (tabela 1). Tendo em conta a tabela 2 poderemos verificar que a área com maior atividade é a vacinação com FR=51,6%, seguindo-se as desparasitações com FR=30,8%. Pode-se ainda verificar que este facto é válido quer para canídeos quer para felídeos (gráfico 3).

Tabela 2 – FA e FR dos casos assistidos na especialidade de medicina preventiva.

Procedimento	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Vacinação	84	45	129	51,6
Desparasitação	67	10	77	30,8
Identificação eletrónica	32	0	32	12,8
Emissão passaporte/certificado de saúde	12	0	12	4,8
Total	195	55	250	100

**Gráfico 3** – Frequência relativa das diferentes áreas da medicina preventiva assistidas para cada espécie.

2.1.1. Vacinação

O objetivo da vacinação é desenvolver e manter a imunidade individual e herdada contra agentes infecciosos (Kahn *et al.*, 2010). Nos pequenos animais estão disponíveis vacinas para um enorme número de agentes. Antes de qualquer vacinação torna-se essencial a realização de um exame de estado geral completo e a recolha da história pregressa junto do proprietário. Só será vacinado o animal que não apresentar qualquer tipo de afeição e esteja de perfeita saúde. Por outro lado no contacto com o dono, ficaremos a saber como tem estado o animal, se fez recentemente algum tipo de medicação e em casos de primovacinação verificar há quanto tempo este está no novo habitat. No INEMVET HV nesta última situação, é aconselhado que os animais sejam só vacinados passados sete dias de permanência no novo habitat, ou do fim da medicação (imunossuppressores ou antibióticos). A vacinação de cadelas e gatas

gestantes era desaconselhada, sobretudo através de vacinas vivas modificadas. Isto deve-se em parte à escassez de dados sobre a segurança e eficácia das vacinas durante a gestação e na expectativa de que, podem causar dano ou morte fetal. Deste modo a vacinação deve ser evitada durante a gestação a não ser que o risco de exposição a infeções seja muito elevado (Welborn *et al.*, 2011).

No caso dos canídeos, no INEMVET HV opta-se pelo seguinte protocolo vacinal:

- ✓ Canídeos com idade inferior a oito semanas, era administrada a vacina bivalente contra vírus da esgana e parvovirose. Neste caso, faz-se um intervalo de 15 dias até à próxima vacinação.
- ✓ Canídeos com idade superior a oito semanas, era administrada uma vacina polivalente contra o vírus da esgana, o adenovírus tipo 1, o adenovírus tipo 2, o vírus da parainfluenza, o parvovírus canino, leptospira e o coronavírus canino.
- ✓ Passadas 4 semanas, reforço vacinal da vacina efetuada anteriormente.
- ✓ Por volta dos 5 meses era aplicada a vacinação antirrábica e a identificação eletrónica;
- ✓ Vacinação anual antirrábica e, vacinação contra o vírus de parainfluenza canino e leptospira intercalado de 2 em 2 anos com a vacina polivalente contra o vírus da esgana, o adenovírus tipo 1, o adenovírus tipo 2, o vírus da parainfluenza, o parvovírus canino, a leptospira e o coronavírus canino.

A vacinação contra a rinotraqueíte infecciosa canina não é administrada de forma rotineira INEMVET HV. No entanto todos os clínicos aconselhavam a sua administração sempre que os animais estivessem sujeitos a uma situação de risco, normalmente nos períodos de férias dos proprietários, onde os animais são deixados em canis, hotéis para animais e escolas de treino. Nestes casos, a vacina é administrada com quatro semanas de antecedência, de forma a poder completar o reforço três a quatro semanas depois e, antes da possível exposição a situação de risco.

No caso dos felídeos era efetuado o seguinte protocolo:

- ✓ Primovacinação das oito às dez semanas contra o herpesvírus da rinotraqueíte felina, o calicivírus, a *Chlamydomphila felis* e o vírus da panleucopénia felina;
- ✓ Reforço vacinal passadas 4 semanas da primovacinação;
- ✓ Reforço da vacina anualmente;

- ✓ Sempre que o animal apresentasse um risco elevado, quer por ser um animal de rua, que por poder ter contacto com outros animais, é sugerido a execução de um teste para rastreio do vírus da leucemia felina (FeLV) e se este se revelar negativo, é aconselhado a administração da vacina contra o FeLV anualmente.

2.1.2. Desparasitação

Relativamente à profilaxia de parasitas, no INEMVET HV, aconselhava-se os proprietários a seguirem três planos profiláticos referentes a parasitas internos, parasitas externos e profilaxia da dirofilariose e leishmaniose.

▪ Protocolo para parasitas internos

Relativamente às desparasitações internas no INEMVET HV, seguia-se o seguinte protocolo:

- ✓ Desparasitação mensal até aos seis meses, com milbemicina oxima + praziquantel (Milbemax[®]);
- ✓ Desparasitação de quatro em quatro meses se animal de rua, ou de seis em seis meses se animal de interior, com praziquantel + embonato de pirantel (Drontal[®]) ou emodepside + praziquantel (Profender[®]).

Sempre que o caso justificasse, quer por ser um animal que tenha sido recolhido, quer pelo animal apresentar uma carga parasitária fora do normal, o animal era desparasitado no momento da consulta e era recomendado ao proprietário para verificar as fezes, se justificasse poder-se-ia optar por uma nova desparasitação passados 15 dias.

▪ Protocolo de parasitas externos

Relativamente às desparasitações externas no INEMVET HV, seguia-se o seguinte protocolo:

- ✓ Desparasitação de quatro em quatro semanas, em cachorros com mais de duas semanas de idade, com permetrina (Pulvex[®]).
- ✓ Desparasitação de quatro em quatro semanas, em cães com mais de sete semanas de idade e 1,5kg de peso, com imidaclopride + permetrina (Advantix[®]).

e/ou

Aplicação de coleira repelente de deltametrina (Scalibor[®]), de quatro em quatro meses.

▪ Profilaxia de dirofilariose e leishmaniose

Como o INEMVET HV localiza-se numa área com enorme incidência de leishmaniose e dirofilariose, todos os proprietários de canídeos eram aconselhados a iniciarem a prevenção de dirofilariose e leishmaniose.

✓ Prevenção de dirofilariose

A dirofilariose é uma doença fatal e o seu tratamento além de ser dispendioso acarreta uma série de riscos para o animal. Desta forma a prevenção desempenha um papel importante no controlo desta doença. Os canídeos com mais de seis meses de idade devem apresentar resultados negativos nos testes de detecção de antígenos e de microfilárias antes de serem sujeitos ao tratamento preventivo; animais com menos de seis meses podem iniciar a profilaxia de imediato, no entanto devem ser sujeitos aos testes de diagnóstico ao fim de seis meses a um ano. No INEMVET HV, recomendavam-se os seguintes protocolos:

- Desparasitação mensal com ivermectina (Heartguard[®]) ou milbemicina oxima (Interceptor[®]), por via oral;
- ou
- Desparasitação anual com moxidectina (Guardian[®]), por via subcutânea.

✓ Prevenção de leishmaniose

O tratamento de animais com leishmaniose é considerado uma questão difícil, visto ser muito prolongado, de custo elevado e apenas parcialmente eficaz. Na maioria das ocasiões não se consegue uma eliminação total do parasita, mas apenas remissão da sintomatologia, deste modo e por existirem muitos animais infetados sem controlo ou tratamento, torna-se fundamental investir na prevenção da doença. Os cães devem realizar um teste serológico de diagnóstico rápido para deteção da leishmaniose antes de iniciarem a prevenção. No INEMVET HV, os proprietários podiam optar por duas formas distintas de prevenção, que possibilitam apenas a redução do risco de desenvolvimento de uma infeção ativa e doença clínica:

- Vacinação anual com Canileish[®], a partir dos seis meses de idade.
- Administração oral de domperidona (Leisguard[®]), uma vez ao dia durante quatro semanas, de quatro em quatro meses (junho, outubro e fevereiro).

Por serem métodos dispendiosos e não possuírem uma eficácia absoluta muitos proprietários não optavam por estas formas de controlo. Desta forma, tanto no caso da dirofilariose, como no caso da leishmaniose, recomendava-se a aplicação única ou em associação com os métodos anteriormente referidos de repelentes de insetos como as coleiras de deltametrina (Scalibor[®]) tanto na prevenção da dirofilariose e leishmaniose de quatro em quatro meses. Existe ainda a possibilidade de aplicação de soluções *pour-on* de imidaclopride e permetrina (Advantix[®]) todos os meses no caso da leishmaniose e as as soluções para aplicação *pour-on* de imidoclopramida e moxidectina (Advocate[®]) no caso da dirofilariose.

2.2. Patologia médica

Em qualquer hospital veterinário a área da patologia médica abrange diversas áreas da medicina veterinária. Desta forma num estudo casuístico torna-se importante dividi-la nas suas áreas mais importantes de forma a facilitar a sua compreensão. Assim dividiu-se esta área em artrologia, ortopedia e traumatologia; cardiologia; dermatologia; doenças infecciosas e parasitárias; endocrinologia; etologia; gastroenterologia; ginecologia e andrologia; hematologia; nefrologia e urologia; neurologia; odontoestomatologia; oftalmologia; oncologia; otorrinolaringologia; pneumologia; sistema muscular e toxicologia. Com isto será facilitada a comparação de prevalências entre canídeos e felídeos em cada uma das áreas.

Pela análise do gráfico 4, tanto em canídeos como felídeos a área das doenças infecciosas e parasitárias é a área com maiores FR (26,63%; 27,36% respetivamente). Este facto pode ser explicado pela região onde está sediado o INEMVET HV, pois o algarve é uma zona endémica para muitas doenças parasitárias, por possuir as condições necessárias à existência de muitos vetores. A área da dermatologia representou também muitas das consultas assistidas tanto em canídeos como felídeos, com FR de 12,43%; 10,38% respetivamente.

Segundo o mesmo gráfico as áreas menos representativas da casuística no INEMVET HV, foi no caso dos canídeos a área da etologia com FR de 0,89% e as áreas da toxicologia, neurologia e cardiologia nos felídeos, onde não se verificou qualquer afeção.

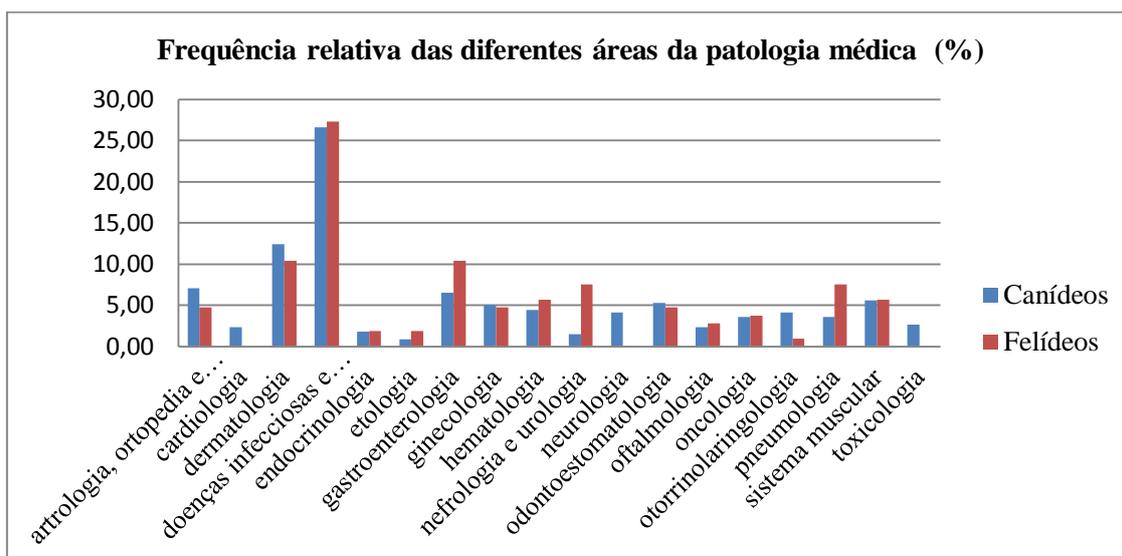


Gráfico 4 - Frequência relativa das diferentes áreas da patologia médica.

2.2.1. Artrologia, ortopedia, traumatologia

Nesta área a luxação coxofemoral e a displasia da anca (figura 1A) foram as afecções que apresentaram uma maior FR (20,69% e 17,24% respectivamente) (tabela 3), sendo que se enquadrarmos todas as fraturas (figura 1B) no mesmo grupo estas são a afecção mais frequente nesta área. Por ser uma área onde o tratamento é na maioria das vezes cirúrgico, verificou-se da parte dos proprietários muita reticência, por motivos monetários, em prosseguir o tratamento adequado. Nestas situações procurou-se acima de tudo estabilizar as lesões e atenuar a dor dos animais.

Tabela 3 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de artrologia, ortopedia e traumatologia.

Afeção clínica	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Avulsão da crista tibial	1	0	1	3,45
Displasia da anca	5	0	5	17,24
Displasia do cotovelo	1	0	1	3,45
Fratura de costela	2	0	2	6,90
Fratura do tarso	1	0	1	3,45
Fratura do fêmur	3	0	3	10,34
Fratura dos metacarpianos	1	0	1	3,45
Fratura do rádio	2	2	4	13,79
Luxação coxofemoral	3	3	6	20,69
Luxação medial da rótula	2	0	2	6,90
Rutura do ligamento cruzado cranial	2	0	2	6,90
Traumatismo craneocefálico	1	0	1	3,45
Total	24	5	29	100,00

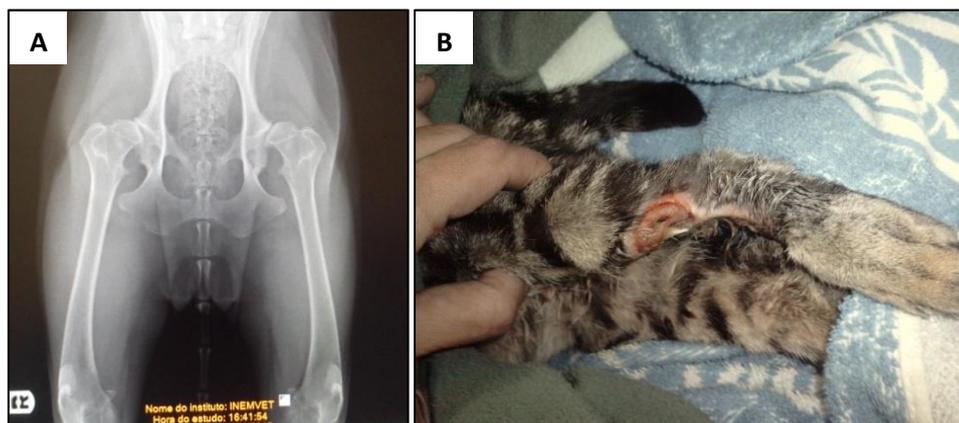


Figura 1: (A) Radiografia da zona pélvica em projecção ventro-dorsal evidenciando displasia da anca bilateral em canídeo; (B) Fratura exposta do rádio esquerdo num felídeo.

2.2.2. Cardiologia

A doença cardíaca em pequenos animais sempre existiu, mas a sua prevalência na clínica de animais de companhia tem aumentado ao longo dos anos. Isto pode ser explicado quer pela maior capacidade de diagnóstico dos médicos veterinários quer pela maior disponibilidade dos meios complementares de diagnóstico quer também, pelo aumento da esperança média de vida dos canídeos e felídeos. Um diagnóstico correto torna-se importante e deve sempre iniciar-se com uma correta anamnese, exame físico, auscultação, medição da pressão arterial, para além dos meios complementares de diagnóstico como a radiologia, eletrocardiografia e ecocardiografia. No INEMVET HV dispomos de todos estes meios excetuando a ecocardiografia .

Na figura 2 observa-se, através de radiografia torácica, a presença de uma dilatação cardíaca generalizada com edema pulmonar e colapso da traqueia, num canídeo.

Nesta área a afeção que apresentou maior FR foi a insuficiência cardíaca congestiva com (50%) dos casos (tabela 4).

Tabela 4 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de cardiologia.

Afeção clínica	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Insuficiência cardíaca congestiva	4	0	4	50
Cardiomiopatia dilatada	1	0	1	12,5
Derrame pericárdico	1	0	1	12,5
Pericardite	2	0	2	25
Total	8	0	8	100



Figura 2 – Radiografia torácica em projecção latero-lateral evidenciando cardiomegália generalizada num canídeo, com edema pulmonar e colapso da traqueia.

2.2.3. Dermatologia

A pele é o maior órgão do organismo, sendo a barreira anatómica e fisiológica entre o organismo e o meio externo. Desempenha um papel importante na proteção do organismo contra todo o tipo de agressões, quer físicas, químicas e microbiológicas. Por possuir uma extensão tão vasta e ser a primeira barreira de defesa contra as agressões externas, o seu estado pode refletir o estado de saúde do próprio animal. No INEMVET HV praticam-se várias técnicas no diagnóstico de afeções dermatológicas: o teste da fita-cola, o tricograma, a raspagem superficial e a raspagem profunda, a lâmpada de *Wood*, o cultivo fúngico, a biópsia cutânea, e as respetivas análises histopatológicas.

Nesta área as afeções com maior FR foram as manifestações cutâneas de leishmaniose e a dermatite alérgica à picada de pulga (26,42% e 16,98% respetivamente) (tabela 5).

Tabela 5 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de dermatologia.

Afeção clínica	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Abcesso cutâneo	4	2	6	11,32
Dermatite acral por lambedura	3	1	4	7,55
Dermatite miliar	0	1	1	1,89
Dermatite alérgica à picada de pulga	7	2	9	16,98
Dermatofitose	2	0	2	3,77
Fístulas perianais	1	0	1	1,89
Fleimão	0	1	1	1,89
Laceração cutânea traumática	1	0	1	1,89
Lipoma	1	0	1	1,89
Manifestações cutâneas de leishmaniose	14	0	14	26,42
Nódulo cutâneo	0	1	1	1,89
Reação de hipersensibilidade do tipo I	3	1	4	7,55
Seborreia seca	6	2	8	15,09
Total	42	11	53	100,00

**Figura 3:** (A) Abcesso na orelha direita de um felídeo; (B) Sinais dermatológicos (eritema intenso) de leishmaniose no plano nasal de um canídeo.

Na figura 3A podemos observar um caso de abcesso subcutâneo em felídeo provocado por traumatismo infligido durante uma luta.

As manifestações cutâneas de leishmaniose são variáveis e ocorrem em 90% dos casos em combinação com sinais sistêmicos (Dunn, 2001). Podem ocorrer áreas de eritema, alopecia, descamação e ulcerações não pruriginosas nos membros, plano nasal (figura 3B), região periocular e pavilhões auriculares (Dunn, 2001).

A leishmaniose é uma zoonose endémica em Portugal. Os cães são considerados o principal hospedeiro reservatório deste parasita (Maia *et al.*, 2008). Segundo Pereira da Fonseca *et al.* (2008) e o seu inquérito realizado a médicos veterinários de clínicas de animais de companhia, a leishmaniose canina está presente em todos os distritos de Portugal continental e na Madeira. No entanto, foram identificados três focos endémicos principais: o Alto Douro, a Área metropolitana de Lisboa e o Algarve

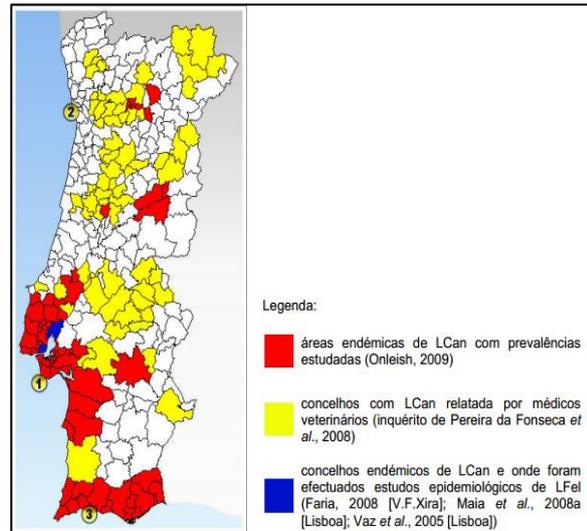


Figura 4: Mapa contendo a compilação de dados de diversos autores sobre a distribuição de leishmaniose canina e felina em Portugal até 2009 (Adaptado de Rosa, 2009).

(figura 4). Em algumas áreas da região do Alto Douro, a seroprevalência canina alcançou os 81,1% e no Algarve, foi observada uma seroprevalência média de 7,0% (Pereira, 2008).

2.2.4. Doenças infecciosas e parasitárias

As infeções parasitárias e infecciosas constituem um dos maiores, se não o maior grupo de afeções presentes em animais no Algarve. No INEMVET HV era recorrente a realização do esfregaço de sangue periférico, bem como o exame de gota fresca, procedidos ou não por testes de diagnóstico rápido ou serologia. Com estes testes era possível um diagnóstico rápido e eficaz das afeções mais frequentes, como as doenças transmitidas por carrças (FR=28,57%), leishmaniose (FR=21,01%) e dirofilariose (FR=11,76%) no caso dos canídeos (tabela 6). Por outro lado, no caso dos felídeos, a coriza, a imunodeficiência felina (FIV) e a leucose felina (FeLV) foram as doenças mais frequentes com FR de 7,56%, 6,72% e 5,04% respetivamente (tabela 6).

Na figura 5A pode observar-se várias zonas de alopecia devidas a sarna demodéica num canídeo.

Tabela 6 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de doenças infecciosas e parasitárias.

Área	Afeção clínica	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Doenças Infecciosas	Botulismo	1	0	1	0,84
	Coriza	0	9	9	7,56
	Leucose felina (FeLV)	0	6	6	5,04
	Imunodeficiência felina (FIV)	0	8	8	6,72
	Panleucopénia	0	1	1	0,84
	Parvovirose	5	0	5	4,20
	Peritonite infecciosa felina (PIF)	0	2	2	1,68
	Tosse de canil	5	0	5	4,20
	Anaplasmose	2	0	2	1,68
	Dirofilariose	14	0	13	11,76
	Haemobartonelose	0	2	2	1,68
	Leishmaniose	25	0	25	21,01
	Oncocercose	2	0	2	1,68
	Sarna demodécica	2	0	2	1,68
	Trombiculose	0	1	1	0,84
Doenças transmitidas por carraças	34	0	34	28,57	
Total		90	29	119	100,00

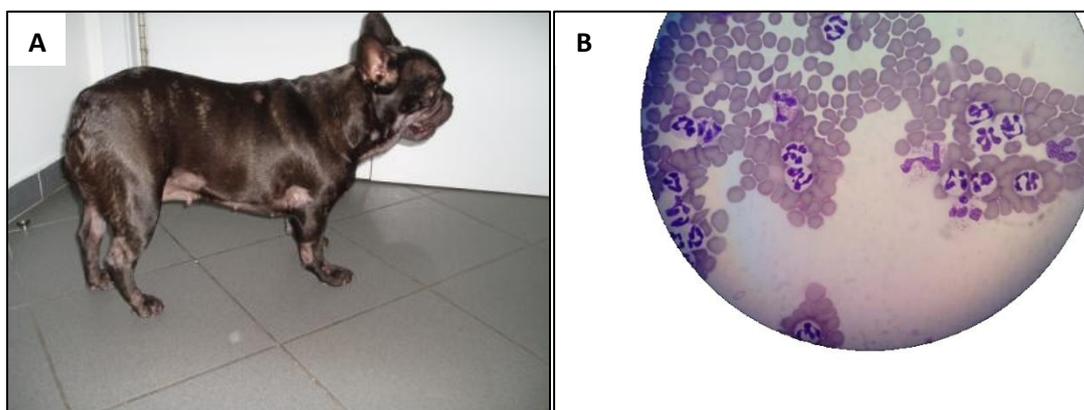


Figura 5: (A) Canídeo com várias áreas de alopecia devido a *Demodex canis*. (B) Esfregaço de sangue periférico com intensa neutrófila, eosinofilia e macroplaquetas (característico de doença transmitida por carraças).

As doenças transmitidas por carraças podem afectar os cães e os gatos. Estas afeções são causadas por bactérias e protozoários do sangue, nomeadamente a *Babesia* sp., a *Ehrlichia* sp., a *Borrelia* sp. e o *Anaplasma* sp. Neste relatório foram agrupadas num único grupo “doenças transmitidas por carraças”, pois no INEMVET HV quer por uma questão monetária, quer por uma questão de tentar iniciar o tratamento com a

maior celeridade possível, não se chegava na maioria das vezes à identificação do agente etiológico.

Os seus sinais clínicos incluem febre, depressão, anorexia, perda de peso, mucosas pálidas, secreção oculonasal, linfadenopatia e hepatoesplenomegalia (Greene & Harvey, 1990; Harrus *et al.*, 1997). Através de meios complementares de diagnóstico como o hemograma, bioquímicas séricas e esfregaço sanguíneo (com resultados imediatos) conseguimos confirmar o diagnóstico e avaliar a severidade da doença. Um esfregaço compatível de doenças transmitidas por carraças é composto por trombocitopenia associada ao aumento do número de macroplaquetas (figura 5B) (Greene & Harvey, 1990; Harrus *et al.*, 1997); anemia, regenerativa ou não regenerativa e contagens leucocitárias diversas. A leucocitose, a monocitose e a presença de mórulas são consideradas muito características numa fase aguda de erliquiose monocítica aguda (Greene & Harvey, 1990; Harrus *et al.*, 1997).

2.2.5. Endocrinologia

A endocrinologia trata-se de uma especialidade médica que estuda as doenças hormonais, com sede em diversos tipos de glândulas endócrinas, tais como a hipófise, a tireoide, as glândulas adrenais, o pâncreas endócrino, os ovários e os testículos. Nas endocrinopatias pode ocorrer excesso de secreção hormonal, como o exemplo do hiperadrenocorticismismo ou deficiência hormonal como nos casos de diabetes mellitus. No entanto o número de casos nesta área pode estar subestimado, muito por culpa dos custos elevados na realização de testes para diagnóstico definitivo.

Nesta área a afeção mais frequente foi a diabetes mellitus (FR=50%) seguindo-se o hiperadrenocorticismismo (FR=37,5%) (tabela 7).

Tabela 7 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de endocrinologia.

Afeção clínica	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Hipoadrenocorticismismo	1	0	1	12,5
Hiperadrenocorticismismo	3	0	3	37,5
Diabetes <i>mellitus</i>	2	2	4	50
Total	6	2	8	100

2.2.6. Etologia

A etologia é a ciência que estuda o comportamento animal. A etologia clínica é a etologia aplicada à clínica de animais de estimação, em especial aos cães e gatos. Direciona-se aos proprietários que pensam que o seu animal está a agir de uma forma pouco habitual, demonstrando comportamentos inadequados. A agressividade, a ansiedade de separação e a coprofagia são alguns exemplos.

Nesta área as afeções assistidas foram a agressividade por dominância (FR=60%) que foi exclusiva dos canídeos e o *stress* por ansiedade de separação (FR=40%) que foi exclusiva dos felídeos (tabela 8).

Tabela 8- FA e FR dos casos assistidos na especialidade de etologia.

Afeção clínica	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Agressividade por dominância	3	0	3	60
Ansiedade de separação	0	2	2	40
Total	3	2	5	100

2.2.7. Gastroenterologia

Os estudos em gastroenterologia veterinária aumentaram significativamente nos últimos anos, privilegiando também a hepatologia. Os problemas gastrointestinais são uma das afeções mais frequentes nos animais de companhia. Isto ocorre essencialmente devido a erros alimentares e por falta de profilaxia médica para doenças virais e parasitárias. Entre os sintomas mais comuns temos os vômitos, a diarreia e alguns casos de obstipação. No INEMVET HV os meios complementares de diagnóstico mais utilizados na avaliação de patologias gastrointestinais são para além da avaliação física, a radiografia e a ecografia.

As gastroenterites manifestam-se através da presença de vômitos e diarreia, devido à inflamação de mais de uma parte ou de todo o trato gastrintestinal (Homem *et al.*, 1999). Esta afeção pode ser desencadeada por vários fatores entre eles, os fatores virais, parasitários, bacterianos, alimentares ou por intoxicações.

No INEMVET HV, as gastroenterites por indiscrição alimentar foram as afeções mais frequentes, tanto em canídeos como em felídeos, com uma FR de (42,42%). A nível hepático verificou-se uma predominância das colangiohepatites linfocíticas-plasmocitárias (tabela 9).

Na figura 6 podemos observar uma radiografia torácica latero-lateral de um canídeo com dilatação e vólvulo gástrico, onde se verifica a dilatação do estômago e a deslocação dorsal do piloro.

Tabela 9 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de gastroenterologia.

Sistema	Afeção clínica	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Gástrico	Gastroenterite de origem alimentar	9	5	14	42,42
	Gastroenterite devido a fármacos	4	0	4	12,12
	Dilatação/Torção Gástrica	2	0	2	6,06
	Peritonite séptica	1	1	2	6,06
	Colite aguda	1	0	1	3,03
	Pancreatite crónica	0	1	1	3,03
	CE intestinal	3	1	4	12,12
Hepático	Colangiohepatite LP	1	2	3	9,09
	Insuficiência hepática aguda	0	1	1	3,03
	Hepatite viral	1	0	1	3,03
	Total		22	11	33

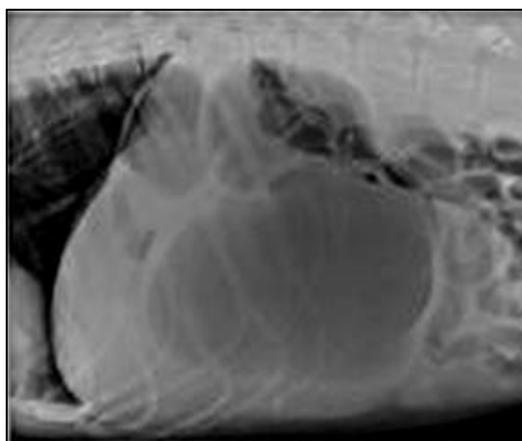


Figura 6 – Radiografia torácica em projecção latero-lateral de um canídeo com dilatação e torção gástrica.

2.2.8. Ginecologia e andrologia

Nos últimos anos, devido ao aumento da expectativa de vida de cães e gatos, registou-se um aumento no número de doenças relacionadas com o aparelho reprodutor masculino e feminino, que anteriormente não eram tão frequentes.

Deste modo as áreas da ginecologia e andrologia desempenham um papel importante quer no tratamento como na prevenção de doenças associadas ao sistema reprodutor feminino e masculino, respetivamente.

Relativamente à área da ginecologia e andrologia, observa-se através da tabela 10, que as afeções com maior FR, são as piómetras (figura 7 AeB) e os quistos ováricos (FR=22,73%) e que na maioria dos casos ocorriam em simultâneo. De referir que no caso dos machos a hiperplasia benigna da próstata é a afeção mais frequente com (FR=18,18%) (tabela 10).

Tabela 10 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de ginecologia e andrologia.

Afeção clínica	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Criptorquidismo	3	0	3	13,64
Hiperplasia benigna da próstata	4	0	4	18,18
Piómetra	3	2	5	22,73
Piómetra do coto	1	0	1	4,55
Quistos ováricos	2	3	5	22,73
Quistos prostáticos	3	0	3	13,64
Vaginite	1	0	1	4,55
Total	17	5	22	100,00

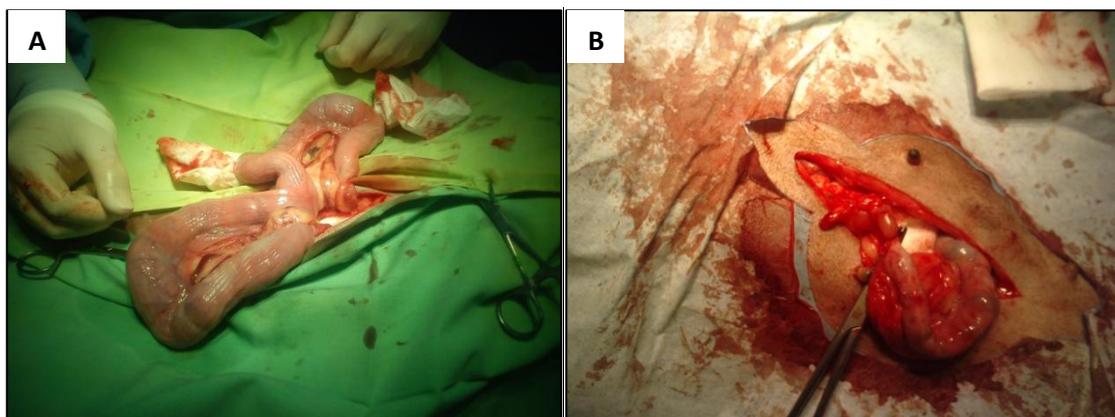


Figura 7 – (A) Piómetra em felídeo; (B) Piómetra em canídeo, ovário direito com quistos.

A piómetra do coto, é o desenvolvimento de uma afeção (inflamação e infecção bacteriana) no remanescente do corpo uterino após a realização de uma ovariectomia (OVH), trata-se de um problema incomum e de difícil diagnóstico (Aleixo *et al.*, 2011).

2.2.9. Hematologia

A área da hematologia possibilita o estudo das patologias dos órgãos hematopoiéticos: sangue, baço e medula óssea. O recurso ao microhematócrito, hemograma e esfregaço sanguíneo e, nalguns casos a outras provas laboratoriais como análises bioquímicas e provas de coagulação são essenciais para estabelecer um diagnóstico definitivo.

Hematologicamente, os achados mais comuns foram os referentes a causas parasitárias. Desta forma as anemias por causas parasitárias foram a afeção com maior FR (47,62%) (tabela 11).

Tabela 11- FA e FR dos casos assistidos na especialidade de hematologia.

Afeção clínica		Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Anemia	Hemorrágica	4	0	4	19,05
	Infeciosa	2	4	6	28,57
	Por parasitismo	8	2	10	47,62
Policitemia vera		1	0	1	5
Total		15	6	21	100

2.2.10. Nefrologia e urologia

Esta área representa um ramo da medicina veterinária responsável pelo diagnóstico e tratamento de afeções no trato urinário superior (rins e ureteres) e inferior (bexiga e uretra). Exige a utilização a meios complementares de diagnóstico complementares como a urianálise, as análises bioquímicas, a ecografia e radiografia simples ou de contraste, assim como de diversos procedimentos médicos, como a algaliação e a administração de fluidoterapia.

As afeções mais frequentes foram urolitíase com (FR=42,86%) e a cistite idiopática com (FR=21,43%) (tabela 12).

Tabela 12- FA e FR dos casos assistidos na especialidade de nefrologia e urologia.

Afeção clínica	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Cistite idiopática	0	3	3	21,43
Doença do Trato Urinário Inferior dos Felinos (FLUTD)	0	1	1	7,14
Insuficiência renal aguda (IRA)	0	2	2	14,29
Insuficiência renal crónica (IRC)	0	1	1	7,14
Rim poliquístico	0	1	1	7,14
Urolitíase	5	1	6	42,86
Total	5	9	14	100,00

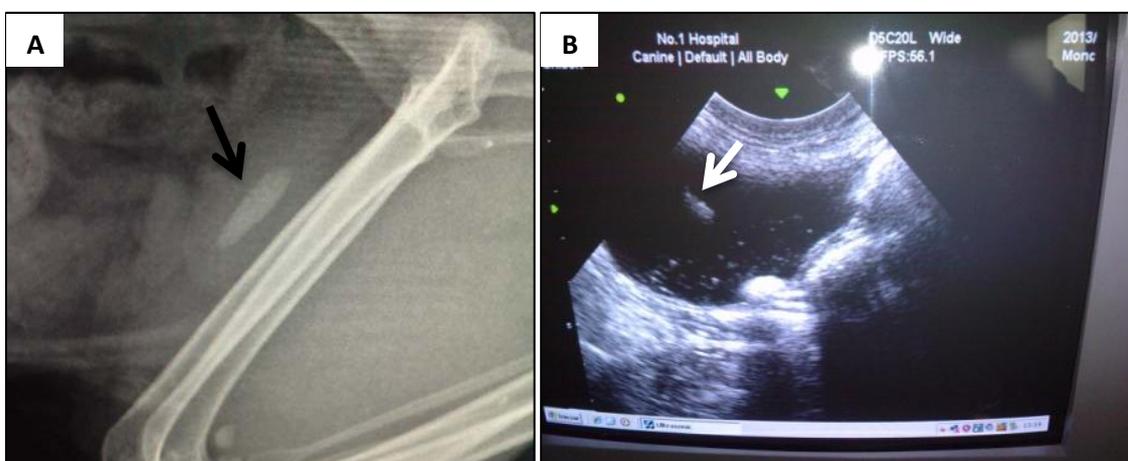


Figura 8 – (A) Radiografia de canídeo com cálculos na bexiga. (B) Ecografia de canídeo com cálculos na bexiga.

O termo urolitíase refere-se à formação de cálculos urinários ou urólitos e seus efeitos patológicos (Lulich *et al.*, 1997). Estes podem estar localizados nos rins, ureteres, bexiga ou uretra (Lulich *et al.*, 1997). O animal apresenta geralmente hematória, polaquiúria, disúria acompanhada de esforço abdominal durante a micção (Lulich *et al.*, 1997).

O diagnóstico baseia-se na combinação de anamnese, exame físico, urianálise, radiografia (figura 8A) e ultrassonografia (figura 8B) para a diferenciação entre urólitos e outras patologias possíveis como infecção do trato urinário, neoplasias, coágulos sanguíneos e anomalias urogenitais (Nelson e Couto, 2001).

O tratamento de urolitíase pode ser clínico, através da dissolução dos urólitos, ou cirúrgico através da remoção cirúrgica (Lulich *et al.*, 1997; Nelson e Couto, 2001), pois alguns cálculos, como os de estruvite, podem ser dissolvidos com uma dieta específica que induza uma ligeira acidificação urinária, já o tratamento de outros tipos de cálculos,

como o oxalato de cálcio, quase sempre envolve a remoção cirúrgica pelo médico veterinário (Nelson e Couto, 2001).

No INEMVET HV antes da remoção cirúrgica de cálculos urinários eram efetuadas tentativas através de terapêuticas médicas, a sua dissolução com dietas calculolíticas, a micção forçada por compressão da bexiga e a remoção dos urólitos com cateter (urohidropulsão).

O cálculo após ser removido era enviado para a análise, uma vez que o conhecimento da composição mineral do cálculo orientará um tratamento apropriado para evitar recorrências.

2.2.11. Neurologia

As patologias neurológicas requerem uma anamnese e exame físico cuidadosos, acompanhados de um exame neurológico correto. Nesta área no INEMVET não possuíamos todos os meios de diagnósticos fundamentais para obter diagnósticos definitivos nesta área. Desta forma após uma radiografia que suscitasse dúvida, os animais eram referenciados para outros centros veterinários de modo a obter-se meios complementares de diagnóstico como radiografias de contraste (mielografias), recolha e análise do líquido cefalorraquidiano, tomografia computadorizada (TAC) e ressonância magnética (RM).

Relativamente à área da neurologia, podemos observar que foi exclusiva dos canídeos e foi uma área com pouca casuística, 14 casos (tabela 13). As afeções mais observadas foram a síndrome vestibular periférico (figura 9B) e as convulsões de etiologia indeterminada com FR de 21,43% (tabela 13).

Tabela 13 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de neurologia.

Afeção clínica	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Convulsões de etiologia indeterminada	3	0	3	21,43
Encefalomielite	1	0	1	7,14
Epilepsia primária	2	0	2	14,29
Hidrocefalia congênita adquirida	1	0	1	7,14
Meningoencefalite imunomediada	2	0	2	14,29
Polirradiculoneuropatia	1	0	1	7,14
Síndrome vestibular periférico	3	0	3	21,43
Neoplasia cerebral	1	0	1	7,14
Total	14	0	14	100,00

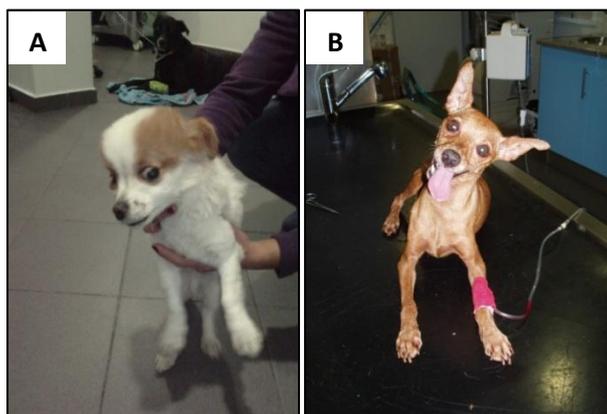


Figura 9 – (A) Cão com hidrocefalia; (B) Canídeo com síndrome vestibular periférico.

A hidrocefalia, é classificada como uma morfogênese defeituosa congênita do sistema ventricular cerebral (Taylor, 2006 referido por Velloso *et al.*, 2008), está associada à dilatação deste sistema, a hipoplasia ou atrofia dos tecidos nervosos adjacentes, à ação teratogénica de medicamentos ou a um distúrbio genético (figura 9A) (Chrisman, 1985 Velloso *et al.*, 2008). É uma doença comum em cães miniatura (Chihuahua, Yorkshire Terriers e caniche miniatura), podendo apresentar-se em qualquer espécie animal, sendo mais comum apresentar-se na forma congénita do que na adquirida, sem predisposição por sexo (Orozco e Aranzazu, 2001; Velloso *et al.*, 2008; Festugatto, 2007).

2.2.12. Odontoestomatologia

A odontologia veterinária é uma especialidade que surgiu a partir do correto diagnóstico dos problemas orais e da necessidade de seu tratamento. A dificuldade na alimentação, a inflamação da gengiva (gengivite), a perda de dentes, o hálito desagradável e a dor são indicativos de problemas orais. Nesta área a doença periodontal possui a maior FR, com 56,52% (tabela 14).

Tabela 14 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de odontoestomatologia.

Afeção clínica	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Abcesso sublingual	1	0	1	4,35
Doença periodontal	11	2	13	56,52
Estomatite linfocítica-plasmocitária	0	3	3	13,04
Estomatite induzida por lagarta do pinheiro	4	0	4	17,39
Remoção de dentes	2	0	2	8,70
Total	18	5	23	100,00



Figura 10 – (A) Canídeo com língua edemaciada (lagarta do pinheiro); (B) Canídeo com periodontite, tártaro, mandíbula fraturada.

A estomatite induzida pela lagarta do pinheiro é causada por uma proceccionária, de nome científico de *Thaumetopoea pityocampa* e é hoje em dia uma das principais causas de intoxicação em cães, mas que também afeta gatos (Oliveira, 2003). Esta afeição assume um carácter sazonal, dependente do clima da região, verificando-se uma maior percentagem de casos durante a primavera (entre fevereiro e maio) (Oliveira *et al.*, 2003). Estas lagartas que fazem o seu ciclo no pinheiro possuem um aparelho defensivo composto por 8 recetáculos com cerca de 120 000 pelos urticantes (Oliveira *et al.*, 2003). Estes pelos funcionam como finas agulhas, que libertam uma toxina, a taumatopoina responsável pela alergia (Oliveira *et al.*, 2003). A principal via de contacto dos cães com a proceccionária é mucocutânea, podendo ser também digestiva e ocular (Oliveira *et al.*, 2003). No cão, os lábios, a mucosa oral e a língua são as partes do corpo mais afetadas (Oliveira *et al.*, 2003). Os sinais podem começar com prurido e tumefação nos lábios e língua (figura 10A), podendo evoluir para apatia, anorexia ou dificuldade na apreensão dos alimentos, edema da face, prurido facial intenso, ulceração/necrose da ponta da língua, hipersalivação, edema da córnea, prurido ocular, que em último caso poderão levar à morte do animal (Oliveira *et al.*, 2003).

A doença periodontal (DP) é uma das afeições orais mais comuns em cães e pode afetar a sua saúde e qualidade de vida (Rezende *et al.*, 2004 referidos por Fonseca *et al.*, 2009). Esta afeição acomete os tecidos periodontais e de suporte dos dentes, sendo a principal causa de perda de dentes em animais domésticos (figura 10B) (West-hyde & Floyd, 1997; Domingues *et al.*, 1999 referidos por Fonseca *et al.*, 2009).

Os fatores predisponentes para esta afeição incluem a raça, a idade, a genética, a dieta, a mastigação e a saúde do animal (Hoffmann & Gaengler, 2004 referidos por

Fonseca *et al.*, 2009). Entretanto, é a presença de bactérias que influencia o processo contínuo da doença periodontal e atribui-se à placa bacteriana a causa da maioria das afeções bucais (Domingues *et al.*, 1999; Meira *et al.*, 2007 referidos por Fonseca *et al.*, 2009).

O tratamento da DP baseia-se na remoção da placa bacteriana supra e subgingival, no polimento das coroas dentárias e na instituição de antibioterapia adequada (Nelson & Couto, 2001; Salinas *et al.*, 2006 referidos por Fonseca *et al.*, 2009).

2.2.13.Oftalmologia

Esta área destina-se ao diagnóstico e tratamento das doenças oculares mais comuns nos pequenos animais. Requer exames e testes específicos como exame oftalmológico completo, que inclui nomeadamente a medição da produção lacrimal, a avaliação da presença de úlceras da córnea, a medição da pressão intraocular, e a observação das estruturas intraoculares e do fundo do olho (retina).

A conjuntivite foi a afeção mais frequente atingido quase metade de todos os casos assistidos nesta área (FR=45,45%) (tabela 15).

Na figura 11, podemos observar um felídeo que apresentava traumatismo ocular com consequente uveíte.

Tabela 15- FA e FR dos casos assistidos na especialidade de oftalmologia.

Afeção clínica	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Conjuntivite viral	3	2	5	45,45
Entrópion	1	0	1	9,09
Glaucoma primário	1	0	1	9,09
Luxação/descolamento da retina	1	0	1	9,09
Protusão ocular	1	0	1	9,09
Úlcera da córnea	1	0	1	9,09
Uveíte posterior	0	1	1	9,09
Total	8	3	11	100,00



Figura 11 – Felídeo com traumatismo ocular e consequente uveíte.

A conjuntivite é a inflamação da conjuntiva, podendo-se observar hiperémia, quemose, epífora e corrimento ocular variável (Barnett, 2006). É um dos problemas oftalmológicos mais frequentes na maioria dos animais, sendo normalmente uma doença autolimitante que nem sempre requer tratamento. A etiologia das conjuntivites pode ser viral, bacteriana, parasitária, micótica, imuno-mediada ou alérgica, física, química, por deficiências na produção lacrimal, lesões das pálpebras, iatrogénica, ou por causa desconhecida (Bedford & Jones, 2001; Crispin, 2005). No INEMVET HV, o tratamento da conjuntivite consistia na aplicação de compressas quentes e húmidas para remover gentilmente o corrimento mais seco e na lavagem do olho para limpar o corrimento existente, antes da aplicação de qualquer medicação. A maioria dos casos de conjuntivite é autolimitante, embora seja importante o clínico estabelecer a etiologia da conjuntivite já que a terapêutica instituída dependerá da mesma (Petersen-Jones *et al.*, 2001)

2.2.14.Oncologia

A incidência de lesões oncológicas em animais de companhia tem vindo a aumentar nos últimos anos. Este aumento ocorre devido a um variado número de razões, sendo uma das principais razões a atual maior longevidade dos animais de companhia. Apesar da evolução que a oncologia veterinária tem sofrido nos últimos tempos, sabemos que, aproximadamente metade dos pacientes oncológicos, acabará por ser vitimada por esta doença e, a maior parte, necessitará de terapia para controlo da sintomatologia e da dor (Page, 2001).

Dos casos de oncologia assistidos, os hemangiossarcomas esplénicos foram os que possuíram maior FR com 25% do total de casos (tabela 16).

Na figura 12A pode observar-se uma neoformação no testículo direito, na figura 12B observa-se uma lâmina de PAAF (*Punção aspirativa por agulha fina*) compatível

com histiocitoma cutâneo em canídeo, na figura 12C uma neoplasia no prepúcio de um canídeo compatível com mastocitoma e na figura 12D uma neoplasia inserida na cavidade ocular de um felídeo compatível com tumor das células escamosas.

Tabela 16- FA e FR dos casos assistidos na especialidade de oncologia.

Afeção clínica	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Carcinoma ocular	0	2	2	12,5
Fibroma testicular	1	0	1	6,25
Hemangiossarcoma esplênico	4	0	4	25
Histiocitoma cutâneo	1	0	1	6,25
Linfoma	2	0	2	12,5
Mastocitoma prepucial	1	0	1	6,25
Carcinoma das cel. Escamosas	1	1	2	12,5
Tumor mamário	1	1	2	12,5
Tumor ósseo (osteossarcoma)	1	0	1	6,25
Total	12	4	16	100

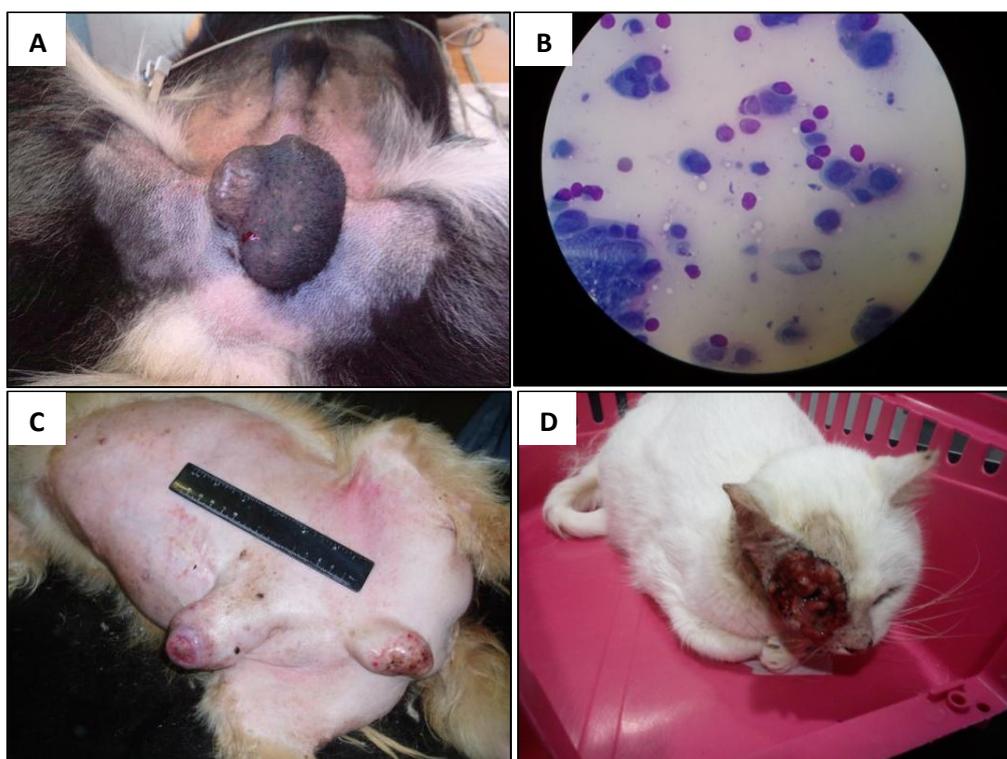


Figura 12 – (A) Testículo direito com massa; (B) Lâmina de PAAF de histiocitoma cutâneo em canídeo 400x diff-quick; (C) Mastocitoma prepucial em canídeo; (D) Tumor das células escamosas em felídeo.

O histiocitoma cutâneo canino (HCC) é um tumor de células redondas benigno, de etiologia desconhecida e comum em cães (Kraegel *et al.*, 2004; O'Brien *et al.*, 2007). É originado de células da linhagem monócito-macrófago, sendo mais provavelmente originário das células de Langerhans (O'Brien *et al.*, 2007). Caracteristicamente, os HCC acometem os animais jovens (Kraegel *et al.*, 2004; O'Brien *et al.*, 2007), geralmente até os três anos de idade (Kraegel *et al.*, 2004), com cerca de 50% dos casos ocorrendo em cães com menos de dois anos (O'Brien *et al.*, 2007). Contudo, podem ocorrer em cães de qualquer idade (Shaw *et al.*, 2001), não havendo predileção por sexo (O'Brien *et al.*, 2007).

O tratamento da HCC é controverso e pode incluir excisão cirúrgica, criocirurgia, eletrocirurgia e a sua observação sem tratamento (O'Brien *et al.*, 2007).

2.2.15. Otorrinolaringologia

A otorrinolaringologia é considerada uma das áreas mais complexas da medicina, compreendendo o conhecimento de um grupo de órgãos com características muito específicas. Esta abrange áreas relacionadas com o ouvido, cavidade nasal, os seios paranasais, a faringe, a laringe, e pescoço.

A afecção mais comum nesta área foram as otites, representando a otite por *Malassezia*, 46,67% das afecções (tabela 17).

Os exames com otoscópio e as citologias de canal auditivo (figura 13), são meios eficazes no diagnóstico de muitas das afecções desta área.

Tabela 17- FA e FR dos casos assistidos na especialidade de otorrinolaringologia.

	Afeção clínica	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
	Síndrome respiratório dos braquiocefálicos	2	0	2	13,33
	Otohematoma	2	0	2	13,33
Otite externa	Bacteriana	1	0	1	6,67
	Por <i>Octodetes cynotis</i>	3	0	3	20,00
	Por <i>Malassezia pachidermatis</i>	6	1	7	46,67
	Total	14	1	15	100,00

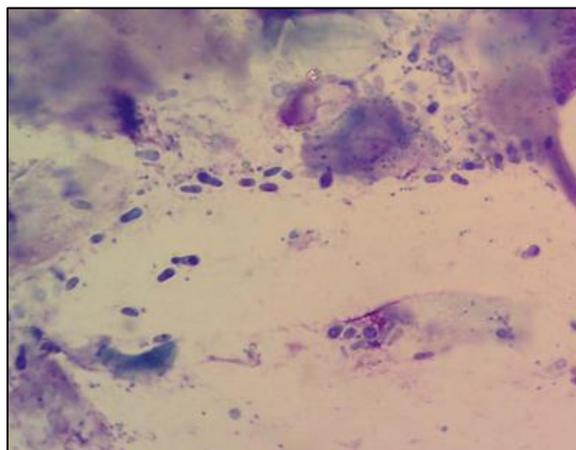


Figura 13: Esfregaço de citologia auricular, contendo malassezias. Col. Diff-Quick 100x

As otites externas ocorrem por fatores multifatoriais, e provocam alterações de pH, humidade, temperatura, o que facilita a multiplicação de agentes secundários e oportunistas dificultando a eficácia do tratamento (Nobre, 1998).

A *Malassezia pachydermatis* é um habitante natural dos ouvidos e da pele dos cães, podendo tornar-se oportunista, e quando se instala necessita de tratamento prolongado podendo recidivar (Nobre, 1998). Este fungo é uma levedura oportunista e patogénica que apresenta uma alta taxa de infeção. O seu aparecimento ocorre em casos onde existe um aumento da temperatura e humidade, bem como em casos de distúrbios imunológicos. Nestas situações origina-se um aumento do número de células desta levedura no meato acústico externo e na pele (Nobre, 1998).

2.2.16. Pneumologia

A pneumologia estuda e investiga doenças relacionadas com os mecanismos do aparelho respiratório, e toda a sua estrutura, incluindo, pulmões, traqueia e brônquios. Um diagnóstico correto deve passar sempre pela execução de uma boa auscultação da cavidade torácica, associada a radiografia, bem como outros meios complementares de diagnóstico, como as lavagens traqueais, toracocentese entre outros.

De acordo com a tabela podemos verificar que as pneumonias e a asma felina são as afeções mais frequentes com 25% de FR (tabela 18).

Na figura 14A pode observar-se um canídeo com várias lesões na região torácica secundárias a mordedura. O canídeo apresentava pneumotórax. Na figura 14B observa-se a aplicação de um tubo de traqueostomia num canídeo, devido a cirurgia laríngea. E

na figura 14C, radiografia torácica em projecção latero-lateral evidenciando um padrão pulmonar brônquico e alveolar, num felídeo.

Tabela 18- FA e FR dos casos assistidos na especialidade de pneumologia.

Afeção clínica	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Asma Felina	0	5	5	25
Colapso da traqueia	1	0	1	5
Efusão pleural	1	0	1	5
Metástases pulmonares	1	0	1	5
Paralisia da laringe	1	0	1	5
Piotórax	1	1	2	10
Pneumonia	3	2	5	25
Pneumotórax	3	0	3	15
Rutura traqueal	1	0	1	5
Total	12	8	20	100

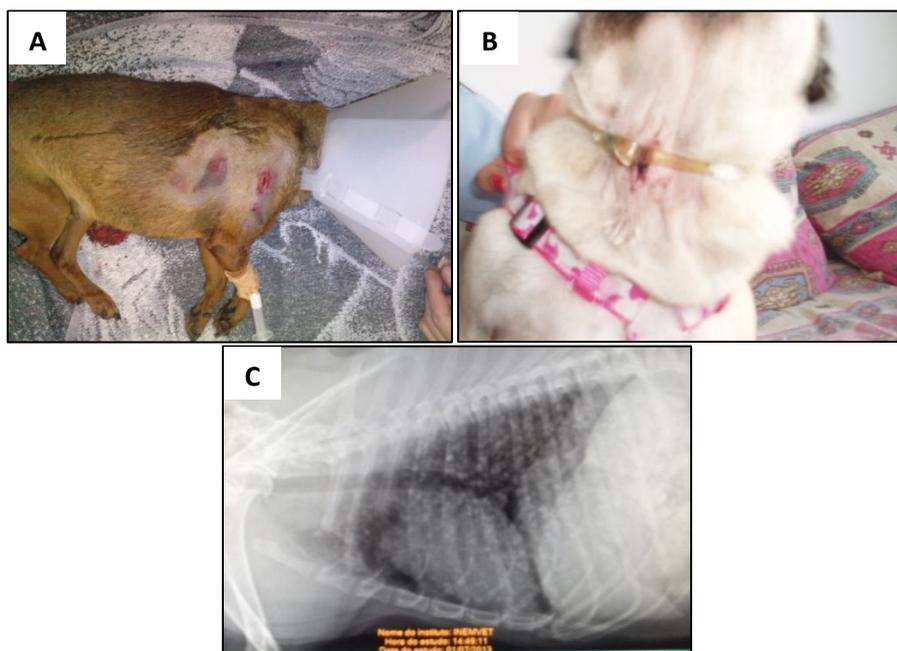


Figura 14 – (A) Pneumotórax posterior a mordida com fratura de costela (B) Tubo de traqueostomia em canídeo, posterior a cirurgia laríngea. (C) Radiografia torácica em projecção latero-lateral evidenciando um padrão pulmonar brônquico e alveolar, num felídeo.

2.2.17.Sistema Muscular

Como se pode verificar na tabela 19 a contusão de tecidos moles por mordedura representa a afeção mais comum, com uma FR de 48% (tabela 19).

Tabela 19 - FA e FR dos casos assistidos na especialidade de sistema muscular.

Afeção clínica	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Contusão dos tecidos moles – atropelamento	4	1	5	20
Contusão dos tecidos moles – mordedura	10	2	12	48
Hérnia abdominal	5	3	8	32
Total	19	6	25	100

2.2.18.Toxicologia

A abordagem a um paciente com suspeita de intoxicação deve compreender uma história pregressa detalhada relativamente ao tipo de tóxico envolvido, quantidade ingerida ou grau de exposição, duração da exposição, sinais clínicos, doenças concomitantes e medicações que esteja a tomar.

A realização de um exame físico detalhado seguida da estabilização do paciente e a avaliação dos principais órgãos por meio da realização de análises é de extrema importância.

Para além da exposição acidental a tóxicos, por vezes a intoxicação acontece por ingestão de fármacos consentida pelos donos. Por desconhecimento, é comum os donos automedicarem os seus animais, o que pode levar a graves situações de intoxicação.

No INEMVET HV, as intoxicações por organofosforados foi a afeção mais assistida nesta área com FR de 33,33% (tabela 20).

Tabela 20- FA e FR dos casos assistidos na especialidade de toxicologia.

Afeção clínica	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Intoxicação por organofosforados	3	0	3	33,33
Intoxicação por chocolate	2	0	2	22,22
Intoxicação por rodenticida	1	0	1	11,11
Intoxicação por ibuprofeno	2	0	2	22,22
Intoxicação por detergente	1	0	1	11,11
Total	9	0	9	100,00

No INEMVET HV a emese era induzida em todos os casos de ingestão de agentes tóxicos. O protocolo de atuação perante uma intoxicação incluía a indução de emese por água oxigenada 3% (1-2 ml/kg por via oral, numa dose máxima de 30 ml; se não há vômito em 15 minutos, repetir o procedimento numa dose de 0,5 ml/kg), a administração de carvão ativado (2-5 mg/kg por via oral, em forma de suspensão de 1 g / 5 ml de água) e 30 minutos depois, um laxante osmótico, lactulose.

Nos cães, a intoxicação por ibuprofeno é atualmente a causa mais importante de nefropatias e danos gástricos (Gupta, 2007 referido por Oliveira, 2009). A insuficiência renal induzida pelos AINEs é caracterizada por um início abrupto de oligúria (Gupta, 2007 referido por Oliveira, 2009). Os sinais clínicos associados com insuficiência renal aguda incluem isostenúria, cilindros de células tubulares renais no sedimento urinário e/ou glicosúria sem hiperglicemia. A gama-glutamyltransferase (GGT) urinária estará elevada (Gfeller e Messonnier, 2006 referidos por Oliveira, 2009).

Em seguida ocorrerão aumentos da ureia sanguínea, creatinina e desequilíbrios eletrolíticos. Às vezes pode-se observar aumento da alanina transaminase (ALT) e fosfatase alcalina (FA) (Gfeller e Messonnier, 2006 referidos por Oliveira, 2009). Os gatos são considerados duas vezes mais sensíveis ao ibuprofeno do que os cães em razão de sua limitada capacidade de conjugação com o glicuronil (Gfeller e Messonnier, 2006 referidos por Oliveira, 2009).

2. Patologia Cirúrgica

Neste ponto procurei dividir a área da patologia cirúrgica de acordo com o tipo de intervenção realizado, assim será dividido em cirurgia de tecidos moles, pequena cirurgia e ortopedia-traumatologia.

O INEMVET HV possui um serviço de cirurgia equipado com o material necessário para fazer desde as cirurgias mais simples, como orquiectomias e ovariectomias, até cirurgias mais complexas como cirurgia ortopédica.

A maior parte das cirurgias, requerem a cooperação entre diferentes serviços, como a imagiologia e a medicina interna. Os cuidados pré e pós-cirúrgicos são muito importantes. O controle da dor pré e a pós-cirurgia é de enorme importância, porque permite uma recuperação mais rápida e conduz a um aumento do bem-estar dos nossos pacientes.

Para cada paciente é instituído o protocolo anestésico mais adequado, em função do seu estado físico. Durante a anestesia todos os animais são monitorizados, utilizando equipamentos adequados.

Durante os cinco meses de estágio tive a oportunidade de assistir e participar na maioria das cirurgias efetuadas no INEMVET HV. Além disso de forma ocasional pude recorrer a cadáveres para executar algumas técnicas cirúrgicas. As minhas tarefas nesta área passaram por desempenhar funções de circulante, anestesiológico, ajudante de cirurgia e cirurgião.

Como anestesiológico tinha a função de acompanhar o animal desde a administração da pré-medicação até ao período de recuperação pós-cirúrgica o que me permitiu adquirir importantes noções dos cuidados intra e pós operatórios a ter com os pacientes.

A maioria dos animais que se apresentam para cirurgia manifesta má condição física e ou fisiológica, isto associado à suscetibilidade destes animais à hipotermia durante o procedimento cirúrgico pode provocar um aumento da incidência de mortalidade cirúrgica. Torna-se assim necessária uma rigorosa monitorização anestésica, para evitar estas complicações. Esta monitorização requer a constante avaliação das funções cardiovascular e respiratória, bem como da temperatura corporal do paciente e da sua profundidade anestésica.

No INEMVET HV o sistema cardiovascular era avaliado através da monitorização da frequência e ritmo cardíaco, do pulso e do tempo de repleção capilar.

Para avaliação do sistema respiratório monitorizavam-se a frequência respiratória e a concentração de CO₂ no ar expirado.

Já a profundidade anestésica era avaliada através da monitorização dos reflexos palpebral, corneal e conjuntival sempre em associação com a frequência cardíaca, frequência respiratória, posição do globo ocular e diâmetro pupilar.

Por último e não menos importante, torna-se fundamental a monitorização constante da temperatura, antes e depois da cirurgia. A anestesia geral inibe os mecanismos de termorregulação do animal, pelo relaxamento muscular com inibição dos movimentos musculares esqueléticos (Saxena *et al.*, 2000) sendo importante a monitorização da temperatura em intervenções de longa duração. Alguns destes animais requerem uma fonte de calor durante e após a cirurgia, de forma a minimizar a ocorrência de hipotermia. Para manutenção da temperatura corporal recorríamos a botijas de água quente, fluidoterapia aquecida e cobertores na área de recobro.

Através do gráfico 5, observa-se que tanto em canídeos como em felídeos a cirurgia de tecidos moles foi a mais frequente (FR=55,56% e 75,51% respectivamente), seguindo-se a pequena cirurgia e por fim a cirurgia ortopédica. Torna-se importante ressaltar que o baixo número de cirurgias ortopédicas não se deve somente a uma baixa casuística, mas sim aos custos elevados destes procedimentos, preferindo os donos optar por opções de estabilização externa, que arrastam o problema não o resolvendo.

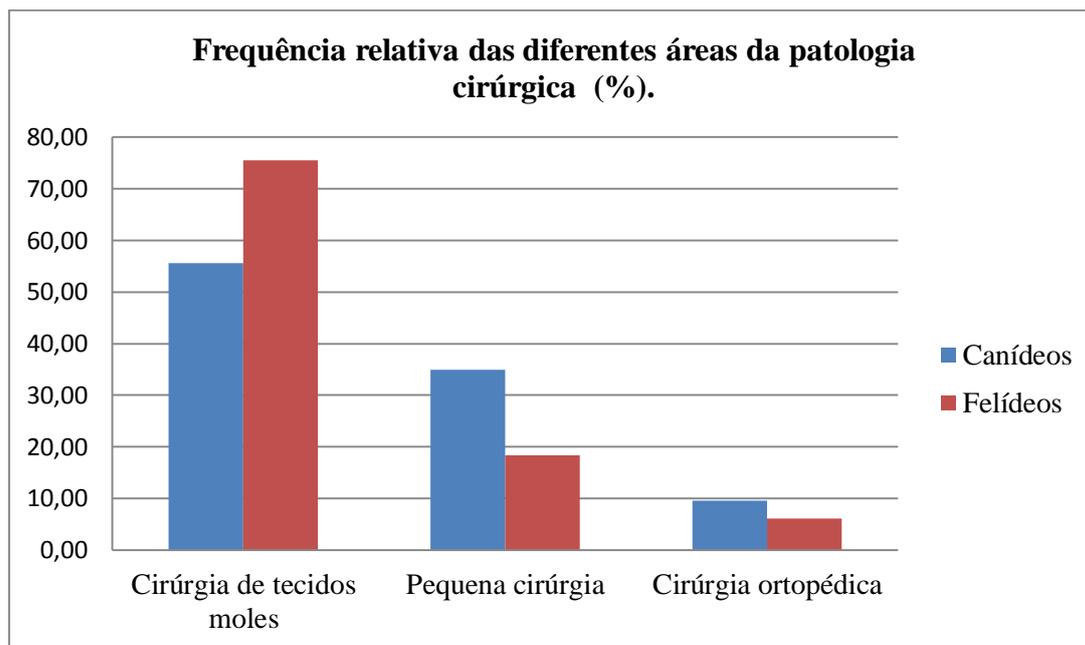


Gráfico 5 - Frequência relativa das diferentes áreas da patologia cirúrgica.

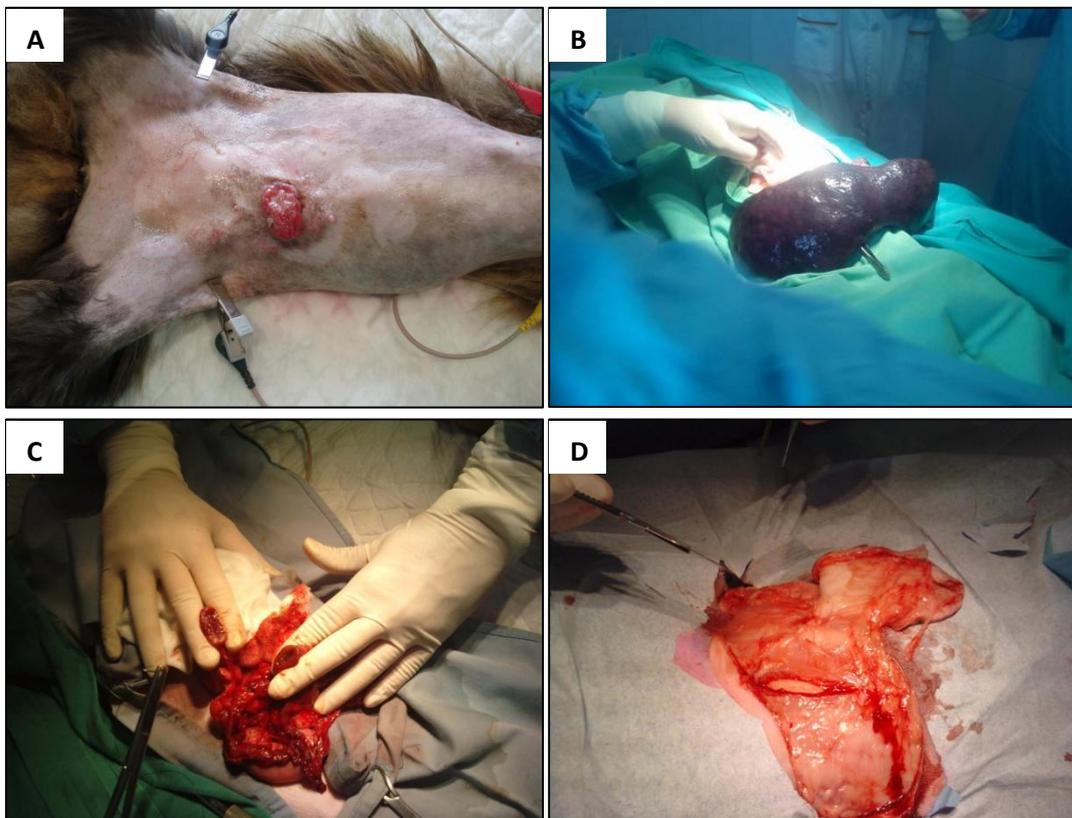
2.3.1. Cirurgia de tecidos moles

Nesta área a cirurgia com maior FR foi a ovariectomia eletiva com (45,83%). Seguindo-se a orquiectomia (16,67%) (tabela 21).

A figura 15 procura evidenciar as cirurgias efectuadas nesta área, nas quais se destacam: (A) Mastectomia de felídeo; (B) Esplenectomia de canídeo. (C) Enterectomia em canídeo; (D) Exérese de nódulo cutâneo em canídeo; (E) Amputação de pénis devido a mastocitoma prepucial; (F) OVH terapêutica em canídeos.

Tabela 21- FA e FR dos casos assistidos na especialidade de cirurgia de tecidos moles.

Área	Procedimento	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Reprodução	OVH eletiva	9	24	33	45,83
Reprodução	OVH terapêutica	3	2	5	6,94
Reprodução	Orquiectomia	8	4	12	16,67
Reprodução	Mastectomia	0	1	1	1,39
Sistema ME	Herniorrafia inguinal	2	0	2	2,78
Sistema ME	Herniorrafia abdominal	0	3	3	4,17
Respiratório	Rutura da traqueia	1	0	1	1,39
Gastroenterologia	Enterectomia	2	0	2	2,78
Gastroenterologia	Gastropexia	1	0	1	1,39
Gastroenterologia	Esplenectomia	2	0	2	2,78
Gastroenterologia	Gastrotomia	2	1	3	4,17
Pele e tecidos anexos	Exérese escroto	1	0	1	1,39
Pele e tecidos anexos	Exérese nódulo cutâneo	2	1	3	4,17
Nefrologia/Urologia	Cistotomia	2	1	3	4,17
Total		35	37	72	100,00



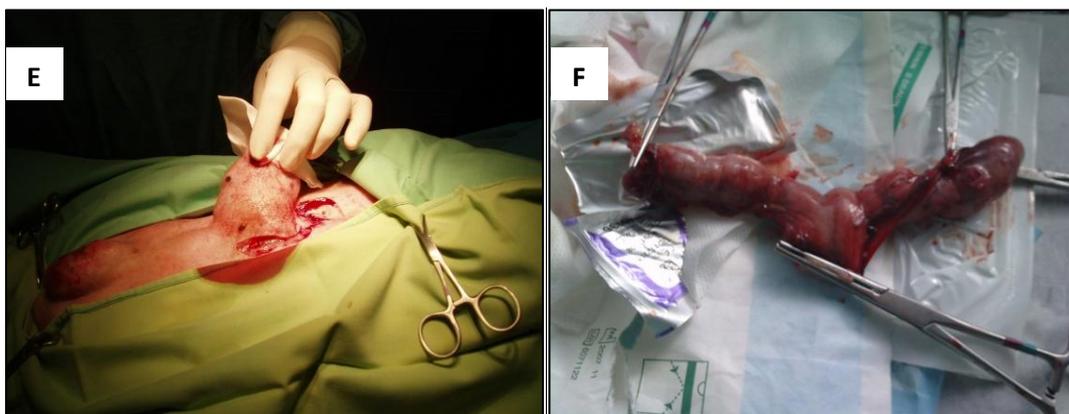


Figura 15 – (A) Mastectomia de felídeo; (B) Tumor de baço, esplenectomia de canídeo. (C) Enterectomia em canídeo; (D) Exérese de nódulo cutâneo em canídeo, coxa esquerda; (E) Amputação do pênis devido a mastocitoma prepucial; (F) OVH terapêutica em canídeos.

2.3.2. Pequena cirurgia

Esta área inclui todos os procedimentos cirúrgicos ou médicos de pequena dimensão, que são realizados mediante anestesia. Também foram inseridos nesta secção, procedimentos que por uma ou outra razão necessitam de maior técnica, como é o caso das algaliações (figura 16A).

A técnica com maior FR nesta área foram as suturas de lacerações com (32,26%) (figura 16 B,C,D), seguindo-se as drenagens de abscessos (22,58%) (tabela 22).

Tabela 22- FA e FR dos casos assistidos na especialidade de pequena cirurgia.

Procedimento	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Algaliação uretral	3	2	5	16,13
Destartarização	6	0	6	19,35
Drenagem abscesso	4	3	7	22,58
Drenagem seroma	3	0	3	9,68
Sutura lacerações	6	4	10	32,26
Total	22	9	31	100,00

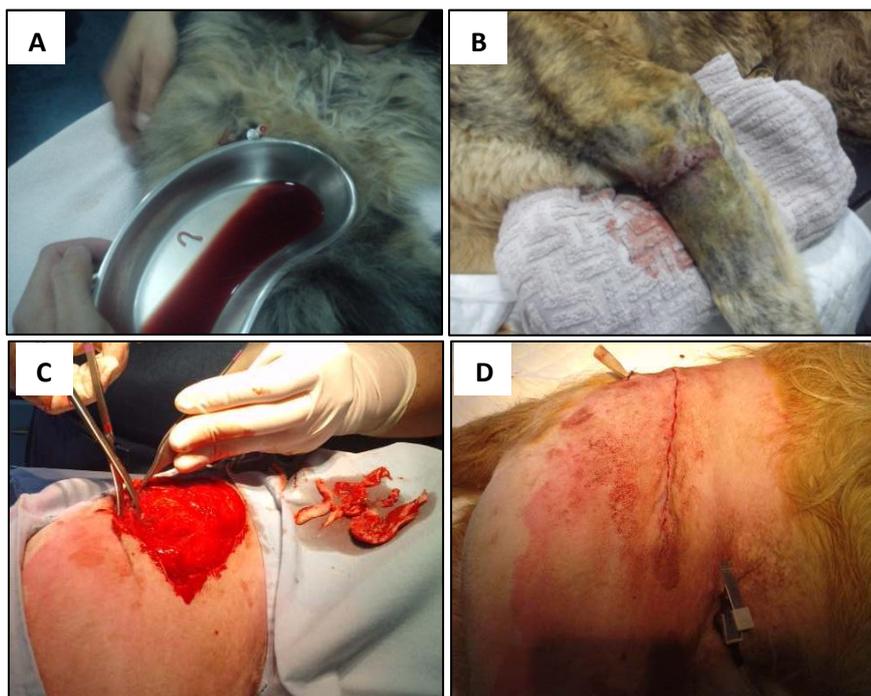


Figura 16 – (A) Algaliação de felídeo; (B) Sutura de laceração membro posterior esquerdo num canídeo; (C) e (D) Sutura de ferida de mordedura na coxa esquerda de um canídeo.

2.3.3. Cirurgia ortopédica

A cirurgia ortopédica é uma área tecnicamente muito exigente da medicina veterinária. Por atuar sobre o sistema músculo-esquelético é fundamental para uma boa qualidade de vida dos animais. Todas as cirurgias desta área deveram-se a causas traumáticas. Pela análise da tabela 23, verifica-se que as recessões da cabeça do fémur (figura 17A) tanto em canídeos como em felídeos foram as cirurgias ortopédicas mais realizadas com (FR=66,67%). Na figura 17B, podemos observar a preparação cirúrgica de um canídeo para trocleoplastia em cunha de resolução de luxação patela.

Tabela 23- FA e FR dos casos assistidos na especialidade de cirurgia ortopédica.

Procedimento	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Trocleoplastia em cunha para resolução de luxação patela	1	0	1	11,11
Osteossíntese de metatarssianos	1	0	1	11,11
Osteossíntese do rádio	1	0	1	11,11
Recessão da cabeça e colo do fémur	3	3	6	66,67
Total	6	3	9	100,00

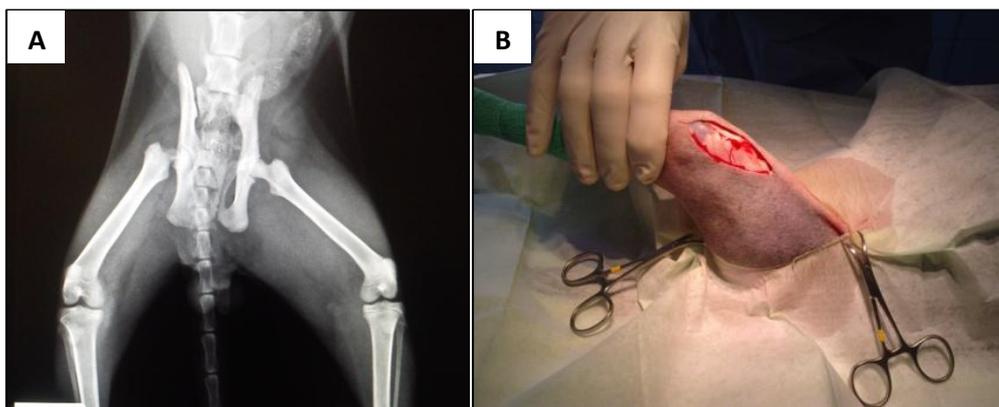


Figura 17- (A) Radiografia ventro-dorsal onde se evidencia necrose asséptica da cabeça do fêmur direito, animal seguiu para cirurgia; (B) Cirurgia rotula, canídeo.

3. Exames complementares de diagnóstico

Os exames complementares são uma ferramenta indispensável e fundamental no exercício da medicina veterinária. Permite-nos confirmar ou retirar as dúvidas das listas de diagnóstico diferenciais formadas depois da anamnese. Dentro destes meios complementares incluem-se as análises clínicas, a radiologia, a ecografia, o eletrocardiograma entre outros.

A escolha do exame a ser utilizado depende da análise clínica do médico veterinário e muitas vezes são necessários mais do que um exame para se chegar a um diagnóstico definitivo.

Para facilitar a análise estatística, agrupei-os em análises clínicas, análises por *kits* de imunocromatografia, imagiologia e outros exames complementares de diagnóstico.

Pela análise do gráfico 6, as análises clínicas foram os exames mais efetuados, seguidos muito de perto pela imagiologia.

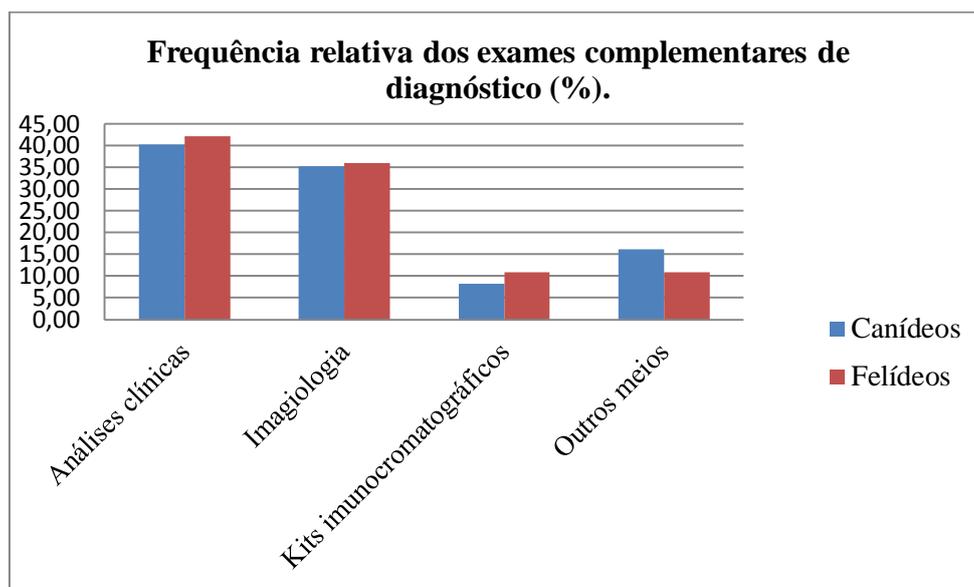


Gráfico 6 - Frequência relativa dos exames complementares de diagnóstico.

3.1. Análises clínicas

No INEMVET HV as análises clínicas disponíveis referem-se às áreas da hematologia, bioquímica sérica, citologias, análises coprológicas e urianálises. Observando a tabela podemos ver que as mais utilizadas são sem sombra de dúvidas a hematologia com (74,18%), seguido das bioquímicas séricas com (19,67%) (tabela 24).

Tabela 24- FA e FR dos casos assistidos na especialidade análise clínicas.

Análise	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Bioquímicas séricas	39	9	48	19,67
Coprologia	3	1	4	1,64
Hematologia	133	48	181	74,18
Urianálise	5	4	9	3,69
Citologia vaginal	2	0	2	0,82
Total	182	62	244	100,00



Figura 18 – Laboratório INEMVET HV.

O INEMVET HV, dispõe de um laboratório (figura 18) equipado com microscópio ótico, equipamentos para determinação quantitativa de parâmetros bioquímicos e de análise automática dos constituintes sanguíneos, material para fixação e coloração de citologias, pelo que foi possível estender a curva de aprendizagem a este material e interpretar os seus resultados. Por regra, a qualquer animal sujeito a sedação ou anestesia geral, era efetuado um hemograma, e um conjunto de bioquímicas pré-anestésicas (ureia, creatinina, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina, proteínas totais, glucose, albumina e globulinas), permitindo a avaliação do risco anestésico.

3.2.Imagiologia

A imagiologia engloba um conjunto de meios de diagnóstico de recolha de imagens internas dos organismos animais. O INEMVET HV possui nas suas instalações alguns destes meios de diagnóstico, como são a radiografia digital e a ecografia.

O radiografia de um modo geral foi a análise por imagem mais efetuada, sendo a região abdominal tanto na radiografia (FR=31,13%) (figura 19B) e na ecografia (FR=23,58%) (figura 19A) a região mais analisada (tabela 25).

Tabela 25 – FA e FR dos casos assistidos na especialidade de imagiologia.

	Zona	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Ecografia	Abdominal	53	13	66	31,13
	Tórax	3	0	3	1,42
	Testicular	1	0	1	0,47
Raio X	Tórax	36	14	50	23,58
	Abdómen	42	8	50	23,58
	Membros	23	18	41	19,34
	Crânio	1	0	1	0,47
Total		159	53	212	100,00

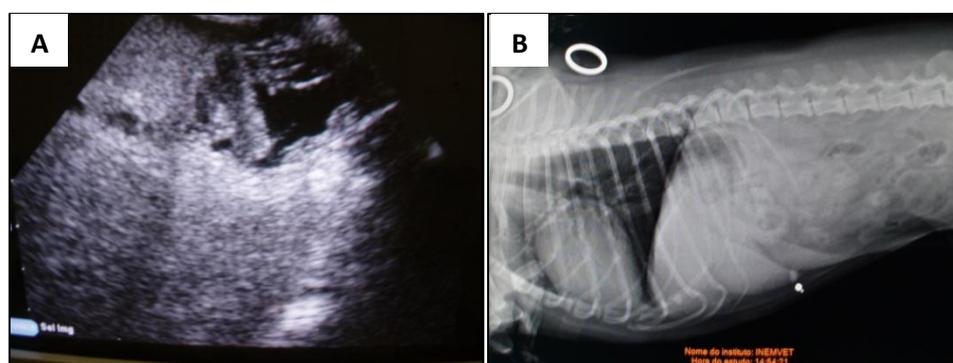


Figura 19 – (A) Ecografia abdominal, com apresentação de um tumor no baço de um canídeo. (B) Radiografia de projecção latero-lateral torácico e abdominal de um canídeo.

3.3. Kits imunocromatográficos

Por serem métodos relativamente baratos e de resposta imediata, estes testes imunocromatográficos são usualmente utilizados no INEMVET HV. De acordo com a tabela os testes mais utilizados são a para a dirofilariose nos canídeos (FR=43,40%) e para o FIV/FeLV (figura 20) nos felídeos (FR=30,19%) (tabela 26).

Tabela 26 – FA e FR dos tipos de testes imunocromatográficos realizados.

Teste	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Leishmaniose	12	0	12	22,64
Dirofilariose	23	0	23	43,40
FIV/FeLV	0	16	16	30,19
Parvovirose	2	0	2	3,77
Total	37	16	53	100,00



Figura 20 – Kits imunocromatográficos para diagnóstico de leishmaniose (negativos).

3.4. Outros meios

Nos outros meios complementares de diagnóstico decidi englobar aqueles meios que não eram frequentemente utilizados, ou que não se enquadravam nas áreas anteriormente descritas. Pela tabela 27 verifica-se que as medições de pressão sanguínea e as raspagens cutâneas, possuem FR (20,22 e 21,35%) relativamente altas demonstrando a sua importância.

Tabela 27 – FA e FR dos casos assistidos na especialidade outros meios de diagnóstico.

Procedimento	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Citologia auricular	7	2	9	10,11
Citologia pele	9	5	14	15,73
Curvas de glicemia	1	2	3	3,37
Eletrocardiograma	6	0	6	6,74
Gota fresca	7	0	7	7,87
Medição não invasiva de pressão sanguínea	18	0	18	20,22
PAAF	5	2	7	7,87
Raspagem cutânea	16	3	19	21,35
Teste fluoresceína	4	2	6	6,74
Total	73	16	89	100,00

4. Outras áreas de intervenção

Neste ponto decidi incluir todas as técnicas que não se enquadravam nos outros grupos. Deste modo, segundo a tabela 28 verifica-se que as eutanásias e os pensos foram as áreas com maiores FR (40,91%).

A figura 21 demonstra a execução da técnica de eletroacupunctura.

Tabela 28 – FA e FR dos casos assistidos na especialidade de outras áreas de intervenção.

Procedimento	Canídeo	Felídeo	FA	FR (%)
Acupunctura	3	0	3	6,82
Eutanásia	7	11	18	40,91
Exame ecográfico de diagnóstico de gestação	3	0	3	6,82
Pensos	13	5	18	40,91
Transfusões sanguíneas	2	0	2	4,55
Total	28	16	44	100,00



Figura 21 – Realização de eletroacupunctura em canídeo.

5. Animais exóticos

O INEMVET HV possui há pouco tempo uma veterinária especializada em animais exóticos. Esta área da medicina veterinária tem vindo a evidenciar uma crescente procura. O modo de tratamento de cada espécie é bastante específico, e implica um conhecimento aprofundado desta área.

Durante a realização do meu estágio, não assisti no entanto a muitas consultas nesta área, FR de 0,98% (gráfico 1). Ao todo assisti a 8 consultas em animais exóticos, em 6 espécies diferentes, sendo a espécie mais frequente os coelhos (tabela 29).

Tabela 29 – FA e FR dos casos assistidos na especialidade animais exóticos.

Espécie	Procedimento
Chinchila	Desparasitação com ivermectina
Coelho	Resolução de timpanismo
Coelho	Vacinação para mixomatose
Coelho	Drenagem de abscessos
Papagaio	Resolução de distúrbio alimentar
Porco da Índia	Limpeza de ferida por mordedura
Ratazana	Tumor facial – eutanásia
Rato	Punção de abscesso ocular (figura 22)

A vacinação de animais exóticos teve só um caso e consistiu na vacinação de um coelho. O protocolo vacinal desta espécie inicia-se às 8 semanas contra a doença vírica hemorrágica (Cunical[®]). Quatro semanas depois é administrada a vacina contra a mixomatose (Mixohpra-FSA[®]). A revacinação para estas doenças deve anual e semestral, respetivamente.



Figura 22 – Rato com abscesso no olho

III. Monografia - Oncocercose ocular canina

1. Oncocercose canina

A oncocercose canina tem-se afirmado nos últimos anos como uma afeção cada vez mais comum em canídeos na Europa e nos Estados Unidos da América (EUA). É uma afeção causada por um parasita nemátode e manifesta-se geralmente pela presença de lesões oculares.

Por possuir um possível carácter zoonótico, esta afeção possui cada vez mais interesse por parte de investigadores, apesar de continuar fora das publicações veterinárias, mesmo nas especializadas em parasitologia e oftalmologia. Deste modo é muitas vezes descartada nos diagnósticos diferenciais, acreditando-se assim que a sua incidência esteja subestimada.

Com este relatório pretende-se para além de uma revisão bibliográfica de aspetos importantes como as características morfológicas do parasita, fisiopatogenia, diagnóstico e terapêuticas, reportar um caso de oncocercose ocular canina (OOC) que ocorreu durante a realização deste estágio.

1.1. Referência histórica

As infeções intra e perioculares originadas por parasitas em canídeos têm sido raramente reportadas. Os estudos existentes na literatura incluem casos de *Toxocara Canis* (Shields, 1984), *Thelazia callipaeda* (Chermette *et al.*, 2004), *Angiostrongylus vasorum* (King *et al.*, 1994), oftalmomíases (Gwin, 1984), strongiliasis (Gaunt, 1982) e a mais comum *Dirofilaria immitis* (Carastro *et al.*, 1992).

Para além destes casos, tem existido um aumento crescente dos casos de oncocercose. As espécies de *Onchocerca* são parasitas da classe nemátoda que pertencem à família *Onchocercidae* (Papaioannou *et al.*, 2004). Possuem uma distribuição mundial e infetam vários ungulados, incluindo equídeos, cervídeos, camelídeos, suínídeos e o Homem (Anderson, 2000 referido por Zarfoss *et al.*, 2005). Relativamente à OOC, desde 1991, têm sido reportados cada vez mais casos na literatura mundial. Na Europa foram reportados 56 casos, incluindo países como a Alemanha, a Grécia, a Hungria, Portugal e a Suíça (Széll *et al.*, 2001a,b; Egyed *et al.*, 2002a; Komnenou *et al.*, 2002, 2003; Hermosilla *et al.*, 2005; Schaffer *et al.*, 2006; Sréter-Lancz *et al.*, 2007). Na zona oeste dos Estados Unidos foram também reportados

8 casos (Orihel *et al.*, 1991; Gardiner *et al.*, 1993; Eberhard *et al.*, 2000; Gionfrido *et al.*, 2005; Zarfoss *et al.*, 2005).

Apesar deste aparente crescimento de casos de oncocercose em canídeos, existiram durante algum tempo, algumas dúvidas quanto à espécie responsável. A infecção por diferentes espécies deste parasita é relativamente comum em equídeos, bovinos e outros ungulados (Zarfoss *et al.* 2005). Os canídeos pelo contrário ainda não são totalmente reconhecidos como hospedeiros naturais (Faísca *et al.*, 2010). Porém sabe-se que a gama de hospedeiros de todos os *Onchocerca* spp. é relativamente restrita (Rommel *et al.*, 2000), sendo que as infecções acidentais apenas podem ser vistas em hospedeiros intimamente relacionados com o hospedeiro natural (por exemplo, chimpanzés infetados com *Onchocerca volvulos* de Homem) (Eberhard *et al.*, 1995; Orihel e Eberhard 1998). Por outro lado nos casos de OOC, podem ser observados parasitas machos maduros, fêmeas grávidas e alta carga de microfilárias (Orihel *et al.*, 1991; Gardiner *et al.*, 1993; Eberhard *et al.*, 2000; Széll *et al.*, 2001a, b; Egyed *et al.*, 2001; Komnenou *et al.*, 2002, 2003, Gionfriddo *et al.*, 2005; Hermosilla *et al.*, 2005; Zarfoss *et al.*, 2005; Schaffer *et al.*, 2006), indicando que os cães ou espécies de canídeos relacionadas, por exemplo lobos, podem ser hospedeiros definitivos do parasita.

O primeiro caso descrito de oncocercose ocular em canídeos, ocorreu num lobo caucasiano (*Canis lupus*) na Rússia sendo o organismo denominado de *Onchocerca lupi* (Rodonaja, 1967 referido por Sréter *et al.*, 2008), no entanto a sua validade taxonómica não foi aceite (Muller, 1979 referido por Eberhard *et al.*, 2000). Desde então têm sido formuladas várias hipóteses relativamente à espécie responsável por afetar os canídeos. Para alguns autores, maioritariamente norte-americanos a OOC é uma infecção aberrante com localização ectópica da *Onchocerca lienalis* dos bovinos, sendo o cão um hospedeiro acidental (Sréter *et al.*, 2008). A hipótese foi baseada na morfologia cuticular das fêmeas que é muito idêntica (Papaioannou *et al.*, 2004). Pelo contrário, as tentativas falhadas para infetar cães com *O. lienalis* (Eberhard *et al.*, 2000), a ausência de *O. lienalis* nas regiões endémicas (Széll *et al.*, 2001b) e o diferente tamanho, morfologia e localização dos estágios adultos das espécies de *Onchocerca* sp. canina e *O. lienalis* (Széll *et al.*, 2001a, b) indicam que será uma espécie distinta. Reforçando estes pressupostos, existem ainda outros argumentos que indicam tratar-se de outra espécie, como o pequeno tamanho e morfologia única das microfilárias da espécie de *Onchocerca canina* (Egyed *et al.*, 2001, 2002a; Széll *et al.*, 2001a, b) e os resultados dos

estudos sobre a filogenia e suas bactérias endossimbiontes (Egyed *et al.*, 2001, 2002a, b).

Outro autor sugere ainda que a espécie responsável é ainda desconhecida e que provem de ungulados selvagens (Komnenou *et al.*, 2002). No entanto segundo estudos recentes, onde foram avaliados estes parasitas, chegou-se à conclusão que a *Onchocerca* sp. canina é única dentro do género, não correspondendo a nenhuma espécie de *Onchocerca* anteriormente reconhecida (Sréter *et al.*, 2008). Estes estudos realizados tanto nos Estados Unidos como na Europa (Grécia, Hungria e Portugal) assentaram em avaliações morfológicas e moleculares, confirmando que as sequências nucleóticas de *Onchocerca* sp. canina são únicas dentro do seu género (Egyed *et al.*, 2001, 2002b; Sréter *et al.*, 2007).

As avaliações morfológicas basearam-se na avaliação de parasitas adultos vivos obtidos de nódulos episclerais e microfíliarias da pele de cães na Hungria e que levaram à conclusão que a *O. lupi* proveniente do lobo caucasiano (*Canis lupus*), e não a *O. lienalis*, está associada com a OOC (Eberhard *et al.*, 2000; Szell *et al.*, 2001b). A avaliação molecular de casos de OOC na Grécia, Portugal e mais recentemente EUA, comprovaram esta suposição, confirmando a identidade genética de *O. lupi* em casos de OOC, através da análise molecular do gene 5s rRNA, demonstrando também uma enorme semelhança genética entre todos os casos (Komnenou *et al.*, 2003; Sreter-Lancz *et al.*, 2007; Labelle *et al.*, 2013). Uma análise mais aprofundada do 16S rDNA da *Wolbachia* isolada a partir de *O. lupi*, confirmou que estas *Rickettsia* eram exclusivas de *O. lupi*, dando ainda mais credibilidade à *O. lupi* como uma espécie geneticamente distinta dentro do género *Onchocerca* (Egyed *et al.*, 2002a).

1.2. Taxonomia

O género *Onchocerca* é um parasita nemátode que pertence à Ordem *Spirurida*, superfamília *Filaroidea*, e à família *Onchocercidae* (figura 23) (Mehlhorn, 2001). Os parasitas que pertencem a esta família são normalmente conhecidos como nemátodes filarídeos, devido às suas formas larvares únicas. São conhecidos por volta de 80 géneros dentro desta família, nos quais se incluem, *Brugia*, *Dirofilaria*, *Loa*, *Onchocerca* entre outros (Gunn e Pitt, 2012).

A origem do género *Onchocerca*, deu-se por volta das épocas do Pleistoceno e Mioceno, o que é claramente refletido pelas pequenas diferenças morfológicas e genéticas entre *Onchocerca* spp. (Bain, 2002 referido por Sréter *et al.* 2008). Com base

na morfologia dos adultos, os membros do género *Onchocerca* que ocorrem na Europa e na América do Norte com interesse veterinário pertencem a três grandes grupos, o grupo dos bovinos domésticos (*O. lienalis*, *O. gutturosa*, *O. stilesi*), dos equídeos domésticos (*O. cervical*, *O. reticulata*, *O. böhmi*) e dos cervídeos (*O. Alcis*, *O. flexuosa*, *O. jakutensis*, *O. garmsi*, *O. tarsicola*) (Bain, 1981 referidos por Egyed *et al.*, 2001).

O género *Onchocerca* é constituído por várias espécies sendo a *O. volvulus* a mais estudada por afetar o Homem. Esta espécie é responsável pela conhecida “cegueira dos rios” que se estima que afete 18 milhões de pessoas em todo o mundo (Gunn e Pitt, 2012).

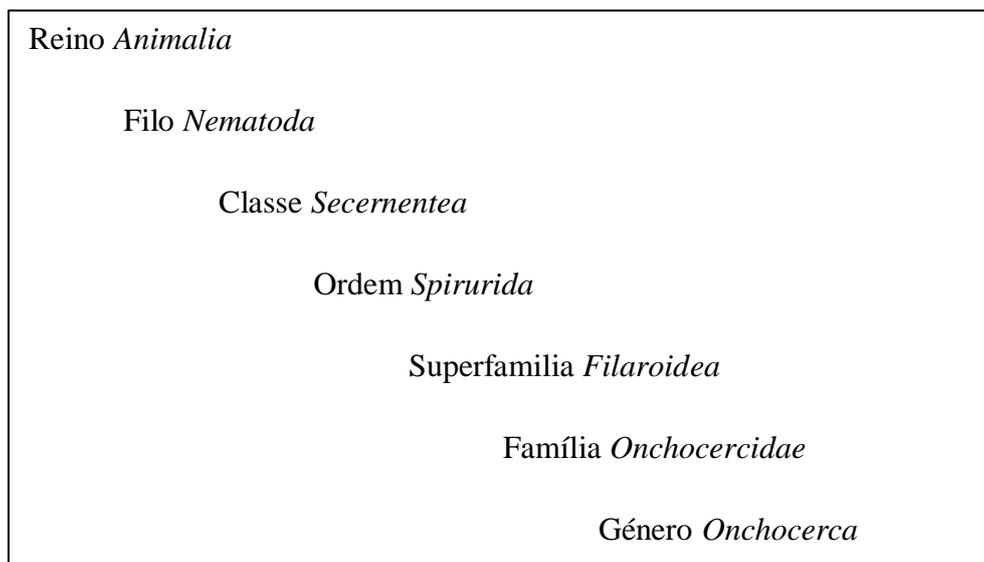


Figura 23: Árvore taxonómica do género *Onchocerca* (Mehlhorn, 2001).

1.3. Morfologia e fisiologia do parasita

Os machos são pequenos de cor branca, frágeis e delgados, medindo 43-50 mm de comprimento (tabela 30) e 0,1-0,2 mm de diâmetro (Rodonaja, 1967 referido por Sréter *et al.*, 2008; Orihel *et al.*, 1991; Egyed *et al.*, 2001). A extremidade anterior é arredondada, o anel nervoso está localizado 320-380 µm (tabela 30) dessa extremidade; o esófago mede 550-650 µm, e aumenta ligeiramente em diâmetro quando se aproxima da extremidade posterior (Rodonaja, 1967 referido por Sréter *et al.*, 2008). A cutícula possui 4-5 µm de espessura e tem estrias transversais ténues (Rodonaja, 1967 referido por Sréter *et al.*, 2008; Egyed *et al.*, 2001). O intestino possui cerca de 12-15 µm de diâmetro (Egyed *et al.*, 2001). Os testículos são arredondados ou achatados e medem 50-70 µm de diâmetro, ocupando 80% do pseudoceloma e contêm um grande número

de espermátocitos (figura 24) (Egyed *et al.*, 2001). A cauda possui 80-90 μm de comprimento por 50-59 μm de diâmetro; asas caudais estão presentes (Rodonaja, 1967 referido por Sréter *et al.*, 2008; Egyed *et al.*, 2001). As papilas caudais são grandes e espessas (Egyed *et al.*, 2001). A espícula esquerda é ligeiramente curva, tubular e cônica possuindo 160-203 μm de comprimento, a espícula direita por sua vez tem 75-94 μm de comprimento, é curvada, tubular, ampla e fortemente cuticulada na sua extremidade proximal, mas estreitando-se distalmente (Demiaszkiewicz *et al.*, 1991 referido por Sréter *et al.*, 2008, Egyed *et al.*, 2001; Komnenou *et al.*, 2002). A extremidade distal é enrolada numa volta (Rodonaja, 1967 referido por Sréter *et al.*, 2008; Demiaszkiewicz *et Matsaberidze*, 1991 referidos por Sréter *et al.*, 2008; Egyed *et al.*, 2001).

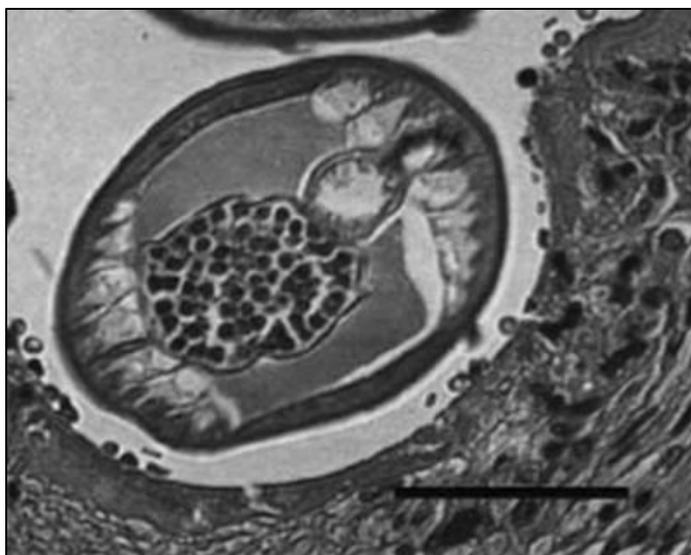


Figura 24: Seção transversal de um macho, ilustrando os testículos arredondados cheios de espermátocitos (H&E; barra = 50 μm) (Adaptado de Széll *et al.*, 2001a).

As fêmeas são de cor branca, frágeis, longas e delgadas, medindo 0,2-0,4 mm de diâmetro máximo, sendo o seu comprimento ainda indefinido (as mais longas observadas mediam 100-165 mm) (tabela 30). A extremidade anterior é arredondada, com um pequeno orifício bucal rodeado por um escudo cuticular quadrangular na superfície sobre o qual o primeiro anel de papilas da cabeça está localizado (Demiaszkiewicz *et al.*, 1991 referido por Sréter *et al.*, 2008). O segundo anel de papilas está localizado na parte externa do ângulo do escudo (Demiaszkiewicz *et al.*, 1991 referido por Sréter *et al.*, 2008). O esófago possui 1100-1200 μm de comprimento (tabela 30), aumentando ligeiramente de diâmetro em direção à extremidade posterior

(Rodonaja, 1967 referido por Sréter *et al.*, 2008). O anel nervoso e a vulva estão localizados 350-390 e 800-1000 μm da extremidade anterior, respetivamente (Rodonaja, 1967 referido por Sréter *et al.*, 2008) (tabela 30). O intestino tem cerca de 34-40 μm de diâmetro (Egyed *et al.*, 2001). Os tubos uterinos são longos, paralelos e em linha reta, medindo 118-143 μm , preenchendo cerca de 70% do corpo (Egyed *et al.*, 2001). Os cordões laterais são marcados, e os seus núcleos são ovoides, medindo 7 $\mu\text{m} \times 5 \mu\text{m}$ (Gardiner *et al.*, 1993, Egyed *et al.*, 2001). A vulva está localizada a 638-1000 μm a partir da extremidade anterior (Demiaszkiewicz *et al.*, 1991 referido por Sréter *et al.*, 2008; Komnenou *et al.*, 2002). A cauda é arredondada com estrias transversais na cutícula (Demiaszkiewicz *et al.*, 1991 referido por Sréter *et al.*, 2008). A cutícula é composta por duas camadas distintas sobre todas as extremidades do corpo (figura 25); a camada externa tem rugas em forma de anel, que são interrompidas e, por vezes dobrados ou ramificadas sobre cordões laterais (Demiaszkiewicz *et al.*, 1991 referido por Sréter *et al.*, 2008; Egyed *et al.*, 2001.). Interiormente, as estrias são pequenas, próximas umas das outras, tornando-se mais altas e mais distantes na direção posterior. Na parte posterior do corpo, as nervuras diminuem em tamanho, não há estrias perto das extremidades do corpo (Demiaszkiewicz *et al.*, 1991 referido por Sréter *et al.*, 2008). Na secção central, as rugas são de formato arredondado, com 3-5 μm de altura e espaçados 7 – 12 μm (Orihel *et al.*, 1991; Eberhard *et al.*, 2000; Egyed *et al.*, 2001; Hermosilla *et al.*, 2005; Komnenou *et al.*, 2002). A distância entre duas rugas cuticulares é de 32-62 μm (Demiaszkiewicz *et al.*, 1991 referido por Sréter *et al.*, 2008; Orihel *et al.*, 1991; Eberhard *et al.*, 2000; Egyed *et al.*, 2001; Komnenou *et al.*, 2002). A camada cuticular abaixo das rugas contém estrias, em média, duas estrias por sulco. Na secção central, as estrias são alongadas, arredondadas, com 4-7 μm de espessura e 20-34 μm de comprimento (Eberhard *et al.*, 2000; Egyed *et al.*, 2001; Komnenou *et al.*, 2002).

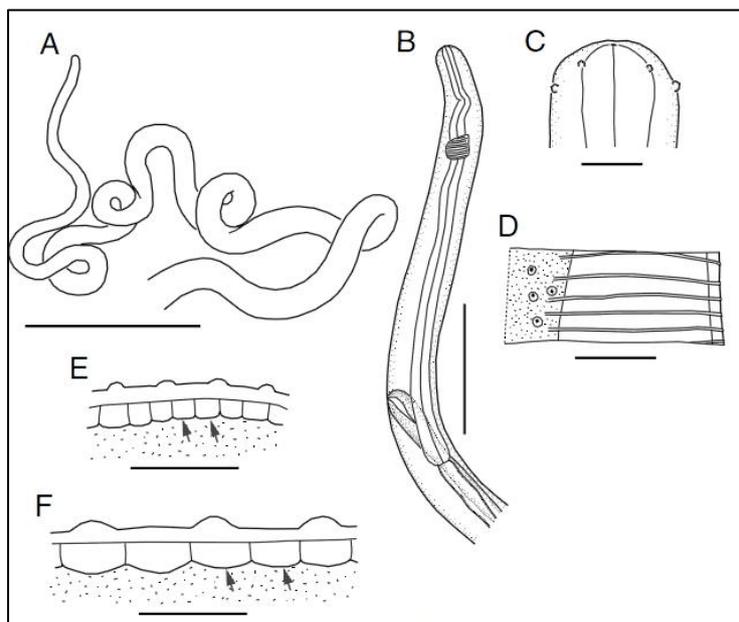


Figura 25: Fêmea de *O. lupi* imatura extraída de um bloco de parafina. (A) Fragmento da porção anterior enrolado (barra=1000 µm); (B) Região anterior com esófago e vulva, vista lateral (barra = 200 µm); (C) Cabeça, vista lateral (barra = 20 µm); (D) Detalhe da cutícula com rugas retas interrompidos na linha lateral (barra = 50 µm); (E) Detalhe da cutícula com a camada externa com rugas e uma camada interna com estrias (setas) (barra = 30µm); (F) *O. Lupi* de um cão da Grécia, cutícula de uma fêmea madura, com rugas e estrias (setas) (barra = 30µm). (Adaptado de Otranto *et al.*, 2012).

As microfilárias intrauterinas e da pele possuem uma forma reta, são desembainhadas, com 98-118 µm de comprimento por 5-7 µm de largura (Széll *et al.* 2008) (tabela 30). A extremidade anterior é arredondada e contém 2-3 núcleos por linha. A cauda diminui gradualmente até um ponto, e na cauda, a coluna de núcleos está reduzida a uma única fila de três. A proporção do corpo (comprimento/largura) é 15-28:1 (Demiaszkiewicz *et Matsaberidze*, 1991 referidos por Sréter *et al.*, 2008; Egyed *et al.*, 2001). A localização das estruturas expressa como distância a partir da extremidade anterior é: espaço cefálico 2-3 µm, anel nervoso 23-27 µm, poro excretor 30-37 µm, primeira célula retal 69-79 µm, poro anal 80-91 µm, e núcleo terminal 85-99 µm (Egyed *et al.*, 2001).

A morfologia dos adultos e das microfilárias de *O. lupi* difere consideravelmente da de todas as outras *Onchocerca spp.* de outros países europeus ou norte-americanos incluindo *O. lienalis* (Sréter *et al.*, 2008) como se pode ver na tabela 30. As fêmeas e machos de *O. lupi* são duas vezes maiores que a de *O. lienalis*, enquanto as suas microfilárias possuem menos de metade do tamanho das microfilárias de *O. lienalis* (Sréter *et al.*, 2008). As microfilárias são as mais pequenas dentro do género conhecido

até agora (Bain *et Chabaud*, 1986). A análise morfológica revelou que a *O. lupi* foi separada dos outros gêneros de *Onchocerca spp.* desde o início da sua evolução (Egyed *et al.*, 2001).

Tabela 30: Principais diferenças morfológicas entre *O. lienalis* e *O. lupi*. (Adaptado de Sréter *et al.*, 2008).

		<i>O. lienalis</i>	<i>O. lupi</i>
Machos	Comprimento médio (mm)	22 (19–25)	47 (43–50)
	Largura média (µm)	60 (50–80)	155 (110–200)
	Comprimento do esófago (µm)	702 (590–800)	565 (480–650)
	Anel nervoso da extremidade anterior (µm)	140 (110–170)	350 (320–380)
	Comprimento das espículas (µm)		
	✓ Direita	70 (60–80)	85 (75–94)
	✓ Esquerda	210 (190–230)	182 (160–203)
	Rácio das espículas (esquerda/direita)	3:1 (2.4–3.8:1)	2.1:1 (1.8–2.7:1)
	Fêmeas	Comprimento médio (mm)	560 (330–850)
Largura média (µm)		180 (150–220)	310 (200–420)
Comprimento do esófago (µm)		900 (740–1250)	917 (638–1200)
Anel nervoso desde a extremidade anterior (µm)		140 (120–180)	282 (175–390)
Vulva desde a extremidade anterior (µm)		360 (280–460)	820 (638–1000)
Microfilárias	Comprimento (µm)	236 (213–250)	108 (98–118)
	Largura (µm)	6 (5–7)	6 (5–7)
	Rácio do corpo (comprimento/largura)	39:1 (30–50:1)	18:1 (14–24:1)
	Número de núcleos		
	✓ Na cabeça (primeira linha)	1	2–3
✓ Na cauda	5	3	

Abreviaturas: ND, não determinado.

1.4. Caracterização molecular e filogenia

Como referido anteriormente, estudos recentes demonstraram que a morfologia de *O. lupi*, responsável pela OOC é única dentro do gênero (Egyed *et al.*, 2001, 2002b; Sréter-Lancz *et al.*, 2007). No entanto com o intuito de comprovar esta suposição e de modo a revelar a real posição taxonômica desta espécie têm sido também executadas diversas análises moleculares.

Tendo em vista a grande subjetividade na identificação morfológica das diferentes espécies, a utilização de marcadores moleculares relacionados com as sequências de nucleótidos dos ácidos desoxirribonucleico (ADN) e ribonucleico (ARN), ou relacionados às sequências de aminoácidos das proteínas passíveis de observação em análises comparativas, cresceu espantosamente nos estudos taxonômicos durante as últimas décadas, resultando na elaboração de novas hipóteses filogenéticas e, conseqüentemente, em mudanças observadas, principalmente nos níveis taxonômicos mais baixos (Caterino *et al.*, 2000).

Os estudos existentes para identificar espécies de *Onchocerca* baseiam-se em genes codificadores de proteínas. Assim através na subunidade I do gene citocromo oxidase (COI) e subunidade 5 do gene NAD desidrogenase (ND5) procurou-se comparar estes fragmentos de *Onchocerca* spp. com os fragmentos de outros parasitas da ordem *Spirudida* dos nemátodes (Sréter-Lancz *et al.*, 2007). Foi demonstrado que a posição filogenética de *O. lupi* é exclusiva (Sréter-Lancz *et al.*, 2007) (figura 26), o que confirma os resultados da análise morfológica (ou seja, a *Onchocerca* canina é uma espécie atípica de *Onchocerca* spp.).

A divergência evolutiva entre as sequencias COI e ND5 das espécies de *O. lupi* dos casos Grego, Húngaro e Português foram semelhantes aos observados dentro *Thelazia callipaeda* ou *O. lienalis* (Sréter *et al.*, 2008). A divergência evolutiva entre as sequências de *O. lupi* e outros *Onchocerca* spp. incluindo *O. lienalis* foram semelhantes ou maiores do que os observados entre outros *Onchocerca* spp. (Sréter-Lancz *et al.*, 2007). As árvores filogenéticas geradas para as sequências COI e ND5 foram entre si congruentes (Sréter- Lancz *et al.*, 2007). Verifica-se assim, através das árvores filogenéticas que a *O. lupi* forma um ramo exclusivo e independente o que demonstra não possuir uma relação próxima com qualquer outra espécie de *Onchocerca* (Egyed *et al.*, 2001, 2002b).

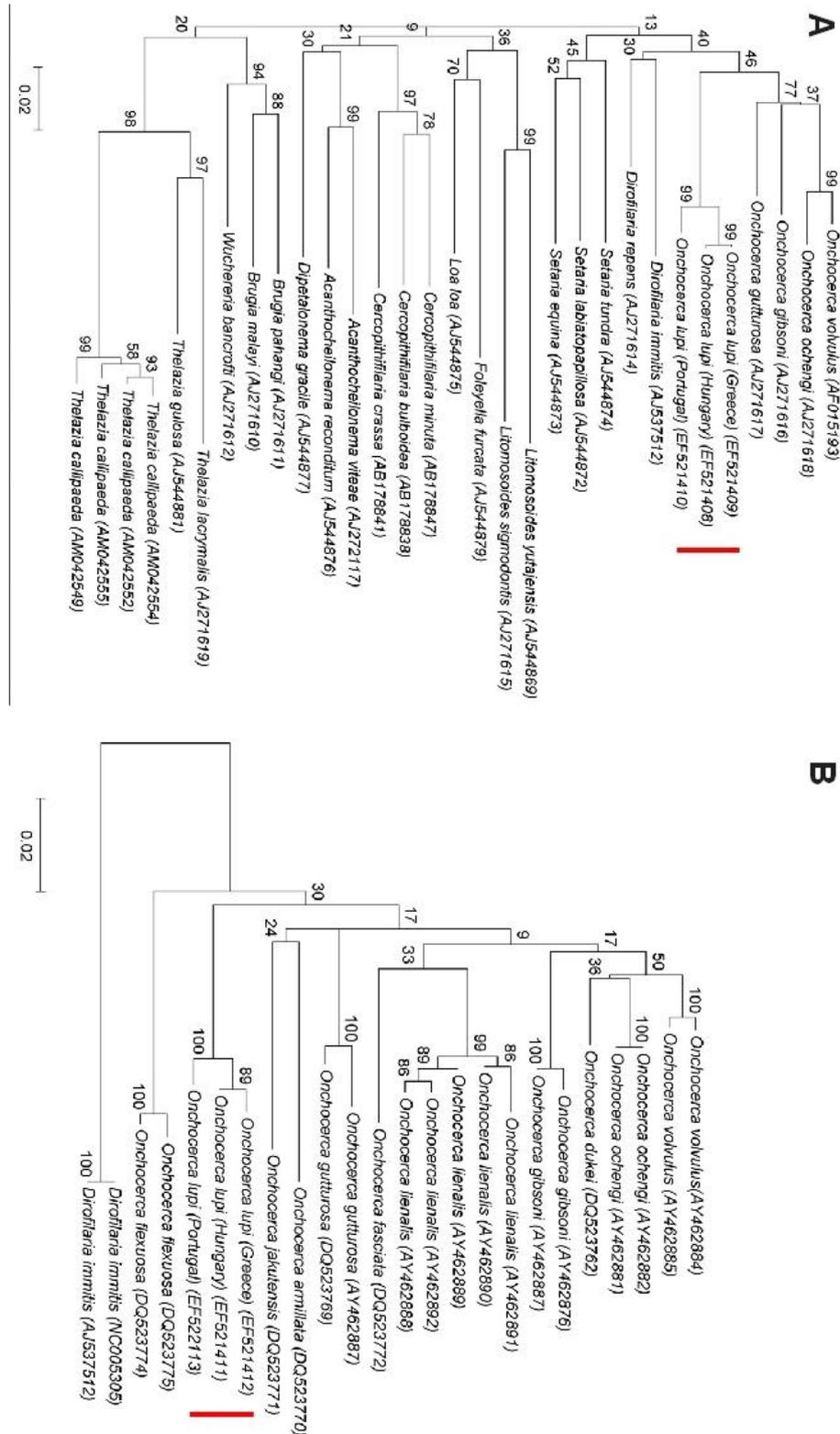


Figura 26 - Relações filogenéticas de alguns nemátodes inferidas a partir da análise (A) da subunidade I do gene citocromo oxidase (COI) e (B) subunidade 5 do gene NAD desidrogenase (ND5). Números acima e abaixo dos nós representam valores de bootstrap (%). A barra de escala indica distâncias evolutivas como o número de substituições por nucleótido. Os números de acesso no GenBank para cada sequência são mostrados adjacente a cada estirpe. (Adaptado de Sréter- Lancz *et al.*, 2007).

A infecção pela bactéria endossimbionte *Wolbachia* é generalizada nos nemátodes filarídeos incluindo a maioria das espécies de *Onchocerca* spp. (Taylor *et al.*, 2005). Estas bactérias desempenham um papel significativo na patogênese da oncocercose (Taylor, 2003). A filogenia dos *Filariae* parece ser congruente com a despectiva *Wolbachia* devido à longa história de coevolução e coespecificação (Bandi *et al.*, 1998, 2001; Casiraghi *et al.*, 2001). Os genes da proteína de superfície (WSP) e do ciclo celular (FtsZ) dos endossimbiontes *Wolbachia* de *O. lupi* foram também sequenciados (Egyed *et al.*, 2002b). As árvores filogenéticas obtidas a partir da sequenciação de WSP e FtsZ foram congruentes um com o outro e com as árvores obtidas para os genes mitocondriais dos parasitas, anteriormente referidos.

Com base na morfologia idêntica dos nemátodes e nas análises de sequenciação dos genes COI e ND5 dos parasitas e gene 16S rRNA da sua *Wolbachia*, os parasitas de *Onchocerca* isolados de cães europeus parecem pertencer à mesma espécie (Sréter-Lancz *et al.*, 2007). Estes resultados apoiam os argumentos que indicavam que uma espécie distinta, provavelmente a *O. lupi* originalmente descrita a partir de tecidos subconjuntivais de um lobo é a responsável pela OOC na Europa (Sréter-Lancz *et al.*, 2007).

2. A endossimbiose com a *Wolbachia*

Recentemente foi demonstrado que a maioria dos nemátodes filarídeos, incluindo os responsáveis pela OOC, possui uma simbiose obrigatória com a bactéria intracelular *Wolbachia* (Bandi *et al.*, 2001). A *Wolbachia* é uma bactéria gram negativa intracelular pertencente à ordem *Rickettsiaceae*, família *Anaplasmataceae* (Dumler *et al.*, 2001). Através de informações genômicas, esta bactéria foi dividida em 7 subgrupos, sendo a que afeta as *Onchocerca* spp. denominada *Wolbachia pipientis* e pertencente ao subgrupo C (Lo *et al.*, 2002). Esta bactéria é transmitida de forma transovárica e está presente em todos os estágios do parasita com uma prevalência de 100% (Bandi *et al.*, 2001 referido por Egyed *et al.*, 2002). Como referido anteriormente a evolução desta bactéria corresponde também à evolução do parasita, como mostram os estudos de filogenia. São bactérias pleomórficas variando entre 0,2 e 4 µm de comprimento, residindo de forma obrigatória intracelularmente dentro de vacúolos derivados do hospedeiro ao longo das células sinciciais da hipoderme (Kozek, 1977; Taylor *et al.*, 1999 referidos por Taylor *et al.*, 2013). Nas fêmeas do parasita, a *Wolbachia* sp. está presente nos ovários, oogônias, oócitos e nos vários estágios

embrionários dentro do útero (Kozek, 1977, Taylor *et al.*, 1999 referidos por Taylor *et al.*, 2013). Não foi demonstrada a sua presença no sistema reprodutor masculino (Kozek, 2005; Fisher *et al.*, 2011 referidos por Bouchery *et al.*, 2012). A relação endossimbiótica entre a bactéria e o parasita é considerada mutualista, sendo benéfica para ambos (Fenn *et al.*, 2004 referido por Bouchery *et al.*, 2012).

Esta endobactéria desempenha um papel importante no desenvolvimento, viabilidade e fertilidade dos nemátodes filarídeos e na patogênese da resposta imunitária do hospedeiro às filárias (Bandi *et al.*, 2001; Taylor *et al.*, 2001 referidos por Egyed *et al.*, 2002). Esta dependência está assim mais evidente em períodos de intensa atividade metabólica como são os casos do crescimento, desenvolvimento das formas larvares e embriogênese (Taylor *et al.*, 2013). No entanto esta interação ainda não está totalmente explicada, os estudos existentes baseiam-se na utilização de fármacos anti-*Wolbachia*. Estes fármacos ao eliminarem a bactéria evidenciam o seu papel fundamental para uma mudança eficaz dos estágios larvares do parasita, bem como para o seu sucesso na reprodução. Estudos em culturas *in vitro* demonstraram também que a evolução do estágio larvar de L3 para L4 foi inibido quando se utilizaram tetraciclinas (Smith e Razan, 2000; Casiraghi *et al.* 2002; Rao *et al.* 2002 referidos por Hise *et al.*, 2003). Foi ainda demonstrado que a ausência desta bactéria devido ao uso de antibióticos leva a um nanismo, esterilização e morte dos parasitas adultos (Hoerauf, 2008; Coulibaly *et al.*, 2009; Taylor *et al.*, 2010, referidos por Bouchery *et al.*, 2012)

3. Ciclo biológico do parasita

3.1. Ciclo de vida

O ciclo de vida bem como os hospedeiros intermediários de *O. lupi* não estão totalmente conhecidos, mas parecem ser semelhantes aos das outras espécies de *Onchocerca* (Sréter *et al.*, 2008). O ciclo de vida de todas as espécies de *Onchocerca* é indireto, pois são necessários hospedeiros intermediários (Sréter *et al.*, 2008). Moscas negras (*Simulium* spp.) e/ou mosquitos (*Culicoides* spp.) parecem desempenhar a função de hospedeiros intermediários (Rommel *et al.*, 2000; Zarfoss *et al.*, 2005) onde ocorre o desenvolvimento larvar (Sreter *et al.*, 2002; Zarfoss *et al.*, 2005). No entanto, um estudo recente não conseguiu provar que os *Simulium* spp. sejam responsáveis pela transmissão de *O. lupi* (Otranto *et al.*, 2012).

As larvas são transmitidas durante a alimentação dos hospedeiros intermediários. (Bain *et al.*, 2003; Zarfoss *et al.*, 2005). Durante a alimentação dos vetores no hospedeiro infetado, as microfilárias (L1) são ingeridas (Bain *et al.*, 2003). Nos vetores (hospedeiros intermediários) dá-se a muda das larvas e o desenvolvimento até L3 (larva infetante) (Bain *et al.*, 2003). Durante a alimentação do vetor, a larva infetante passa para o hospedeiro definitivo (Bain *et al.*, 2003). No hospedeiro definitivo a larva muda para L4, após o qual, as larvas migram para locais específicos dentro do hospedeiro definitivo (Bain *et al.*, 2003). A migração ocorre mais vulgarmente para a pele e para a subconjunctiva ocular e conjuntival (Sreter *et al.*, 2002). Nestes locais, dá-se a maturação e muda dos parasitas até a fase adulta, e por fim libertam-se mais microfilárias que circulam na pele e sangue do mamífero e irão infetar outro inseto quando este se alimentar (figura 27) (Sreter *et al.*, 2002).

Nos hospedeiros definitivos como os bovinos e os equídeos, os parasitas de *Onchocerca* spp. têm um tropismo marcado pelo tecido conjuntivo e, normalmente, estão altamente enrolados em nódulos discretos (Orihel e Eberhard, 1998). Nos seres humanos, os parasitas adultos de *O. volvulus* fixam-se na derme, onde estão rodeados por um infiltrado de células do hospedeiro que produzem os nódulos subcutâneos característicos (oncocercomata) (Cotran *et al.*, 1999). Em todos os casos anteriormente relatados em canídeos, os nódulos de *O. lupi* foram localizados no tecido ocular e periocular, exceto um único relato na Grécia onde o parasita estava localizado no lúmen traqueal (Papaioannou *et al.*, 2004).

Os diferentes locais onde o parasita se fixa nos diferentes tipos de hospedeiro podem ser explicados pelos diferentes habitats de alimentação dos vetores (Nelson, 1970). Sabe-se que a região da orelha dos cães (Georgi e Georgi, 1992) e a região abdominal de bovinos (Eichler e Nelson, 1971) são os locais preferidos para a alimentação dos *Simulium* spp. Deste modo a localização ocular de *Onchocerca* sp. nos canídeos (proximidade com a região da orelha) e a localização abdominal nos bovinos, podem estar relacionadas com os diferentes locais de inoculação de L3 dentro do corpo de cães e bovinos (Széll *et al.*, 2001).

O período pré-patente e patente de todos os outros *Onchocerca* spp. são longos, com duração de vários meses e anos, respetivamente (Rommel *et al.*, 2000). Considerando que todas as espécies de *Onchocerca* apresentam uma gama de hospedeiros restrita (Rommel *et al.*, 2000), torna-se muito provável que a *O. lupi* infete apenas canídeos e possa persistir em populações selvagens de canídeos, como por

exemplo, lobos, raposas, chacais e coiotes. Além disso nos casos oncocercose canina, pode ser observada uma elevada carga de microfilárias, indicando uma forte possibilidade dos canídeos serem os hospedeiros definitivos do parasita (Sreter *et al.*, 2008). Por outro lado foram também identificadas fêmeas grávidas de *O. lupi*, em casos relatados de oncocercose canina, o que sugere também que os cães possam ser o hospedeiro definitivo de *O. lupi* (Labelle *et al.*, 2011).

Foi elaborado um estudo onde se procurou provar a suscetibilidade da raposa vermelha à infecção da *Onchocerca* sp. canina, mas não se obteve qualquer resultado positivo (Sréter *et al.*, 2003).

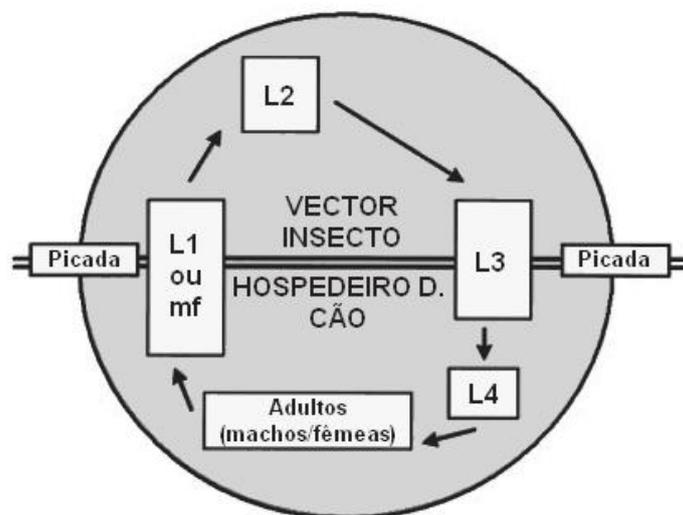


Figura 27: Ciclo de vida de *Onchocerca* spp. A transmissão é iniciada quando um inseto (vetor) faz uma refeição através da picada num indivíduo infetado, ingerindo as larvas no primeiro estágio (L1 ou microfilárias). As microfilárias (mf) entram no inseto, chegando ao intestino e migram para a cavidade torácica e, em seguida, para as glândulas salivares, durante este percurso submetem-se a duas mudas. Quando chegam a L3 as larvas entram no hospedeiro, quando o inseto se alimenta novamente. As larvas L3 sofrem mais duas mudas passando a adultos maduros. Os parasitas adultos vivem e reproduzem-se produzindo milhares de mf por dia, que circulam na pele (Adaptado de Hise *et al.*, 2003).

3.2. Características dos vetores

Apesar de existir ainda alguma falta de informação, acerca dos vetores responsáveis por este parasita, alguns autores assumem que são as moscas (*Simulium* spp.) e os mosquitos (*Culicoides* spp.) (Rommel *et al.*, 2000). Uma análise das espécies de mosquitos, assim como a sua densidade numa determinada área geográfica, são importantes na determinação do risco de infecção por espécies de *Onchocerca*.

No caso de Portugal, foi já provado a existência de *Simulium* spp. (Crosskey *et al.*, 1985). Relativamente ao estudo de *Culicoides* spp. em Portugal, Peter Rawlings em 1996, compilou toda a informação existente sobre *Culicoides* spp. na Península Ibérica, desde 1970. A sua compilação demonstrou a existência de 60 espécies de culicídeos em toda a Península e uma tendência para que não exista exclusividade de espécies em cada país (Rawlings, 1996). Em 2005 o estudo de *Culicoides* spp. ganhou importância em Portugal devido ao surto de língua azul. Durante o Plano Nacional de Vigilância Entomológica iniciado as espécies de *Culicoides* mais prevalentes em Portugal continental eram a *C. imicola* (75,3%) e espécies pertencentes ao grupo *obsoletus* (6,5%), estando apenas duas espécies deste grupo presentes: *C. obsoletus strictu sensu* (69,6%) e *C. scoticus* (30,4%) (Ramillo, 2012).

As mudanças climáticas têm facilitado a propagação destes vetores na Europa, como é o exemplo da espécie *C. imicola*, que prefere climas secos e quentes e desta forma tem expandido o seu alcance para o sul da Europa. Além disso, estas alterações climáticas favorecem o aumento da densidade de vetores e o alargar do seu período de atividade (Ramillo, 2012).

Estes dados podem ser interessantes quando se tentar justificar a presença de oncocercose canina no nosso país.

3.2.1. *Simulium* spp.

Existem mundialmente mais de 1700 espécies de simulídeos, no entanto apenas 10-20% são considerados como pragas para seres humanos e animais (Taylor *et al.*, 2007). Apresentam uma distribuição mundial, estando apenas ausentes na Antártica e em alguns desertos e ilhas onde não há água corrente, condição quase que essencial para que as larvas se desenvolvam (Crosskey, 1990).

São pequenos insetos incluídos na ordem *Díptera*, e pertencem à subordem *Nematocera*, família *Simuliidae* (Taylor *et al.*, 2007). Os adultos são indivíduos de pequeno porte (1,5 a 5,0 mm de comprimento), o corpo é relativamente robusto, as asas são incolores, curtas, largas e recobertas de pelos microscópicos, as pernas são curtas e fortes (Taylor *et al.*, 2007). Morfologicamente, fêmeas e machos adultos são semelhantes, a diferenciação pode ser feita através dos olhos. Nas fêmeas os olhos são nitidamente separados, enquanto nos machos fundem-se. (Taylor *et al.*, 2007).

Os *Simuliidae* são holometabólicos, isto é, têm desenvolvimento completo (Taylor *et al.*, 2007). O seu ciclo de vida compreende quatro estágios de desenvolvimento: ovo, larva, pupa e adulto (figura 28) (Taylor *et al.*, 2007).

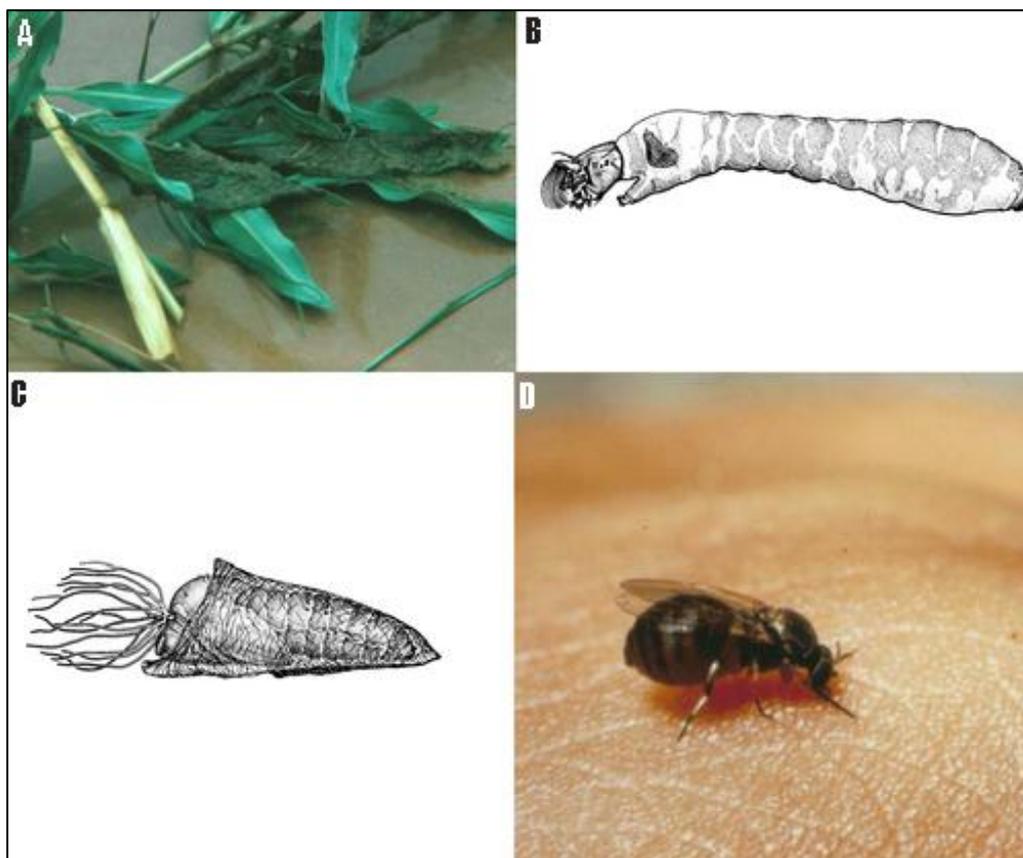


Figura 28: Estágios de desenvolvimento dos *Simuliidae* spp. (A) Ovos em plantas aquáticas; (B) Fase larvar; (C) Pupa; (D) Simulídeo adulto. (Adaptado de Bechinski e Klowden, 2005)

Os estágios imaturos estão limitados a ambientes com água corrente e bem oxigenada, prendem-se aos substratos por meio de um anel com ganchos, situado na extremidade posterior do abdômen (Taylor *et al.*, 2007). A fêmea deposita os ovos em pedras ou vegetação parcialmente submersas em água corrente (Taylor *et al.*, 2007). O período de incubação demora em média poucos dias em condições de muito calor, porém pode levar semanas nas regiões temperadas; Após a eclosão, inicia-se a fase larvar que pode apresentar até oito estádios (fases) (Taylor *et al.*, 2007). Neste estado, as larvas encontram-se normalmente aderidas à vegetação ou às pedras submersas (Taylor *et al.*, 2007). A fase larvar pode durar semanas, podendo ocorrer ao longo de todo o inverno (Taylor *et al.*, 2007). Em seguida, as larvas entram na fase de pupa (casulo) aderindo-se a objetos submersos (Taylor *et al.*, 2007). A fase pupal possui brânquias respiratórias proeminentes projetando-se do casulo (Taylor *et al.*, 2007). A fase de pupa

é de aproximadamente 2-6 dias, e um aspecto característico de muitas espécies é a emergência maciça dos mosquitos adultos que ganham a superfície da água e alçam vôo (Taylor *et al.*, 2007). Os adultos podem ter uma vida de 2-3 semanas até 85 dias (Taylor *et al.*, 2007).

Estes insetos assumem grande importância na área médico-veterinária, uma vez que fêmeas são hematófagas de algumas espécies animais domésticas podendo assim ser potenciais vetores de agentes etiológicos como vírus, bactérias, protozoários e helmintos (Adler, 1994). Torna-se importante ter em consideração que apenas as fêmeas são hematófagas e cada espécie tem o seu local de eleição, sendo o abdômen, membros, cabeça e orelhas os locais preferenciais (Adler, 1994). O seu período de maior atividade ocorre durante os períodos crepusculares (ao amanhecer e ao entardecer). Apesar de moscas poderem estar ativas ao longo do ano, pode haver um grande aumento do seu número nos trópicos durante a estação chuvosa (Taylor *et al.*, 2007). Nas regiões temperadas e árticas a seu aparecimento pode ser sazonal, uma vez que os adultos morrem no outono com as novas gerações na primavera e verão (Taylor *et al.*, 2007).

3.2.2. *Culicoides* spp.

Os culicídeos pertencem à classe *Insecta*, ordem *Díptera*, subordem *Nematocera*, família *Ceratopogonidae*. Os insetos pertencentes à família *Ceratopogonidae*, são conhecidos como mosquitos que picam e apenas o género *Culicoides* possui interesse para a Medicina Veterinária. São conhecidas mais de 1000 espécies dentro deste género, são hematófagas, alimentam-se em aves ou mamíferos e são responsáveis por transmitir agentes etiológicos (Taylor *et al.*, 2007).

Em adultos estes mosquitos possuem 1,5-5,0 mm de comprimento e um tórax curvado sobre uma pequena cabeça. As asas contêm um padrão de manchas cinzentas e brancas e as pernas são relativamente curtas, particularmente as anteriores. A sua probóscide é curta e perfurante, sendo o seu aparelho bucal constituído por um labro pontiagudo, duas maxilas, duas mandíbulas, uma hipofaringe e um lábio que não penetra na pele durante a alimentação da fêmea. Nos machos, as antenas são longas e plumosas, enquanto nas fêmeas possuem pelos curtos. Possuem pelos microscópicos a cobrir as asas (Taylor *et al.*, 2007)

O seu ciclo de vida compreende quatro fases (figura 29A) e inicia-se com a deposição de ovos em áreas pantanosas e húmidas ou em zonas de vegetação em decomposição. Os ovos de cor acastanhada ou preta, cilíndricos ou em forma de banana

e com 0,5 mm de comprimento. A sua eclosão ocorre entre 2-9 dias, dependendo da espécie e da temperatura, mas as espécies de clima temperado podem resistir aos invernos dentro dos ovos (Taylor *et al.*, 2007).

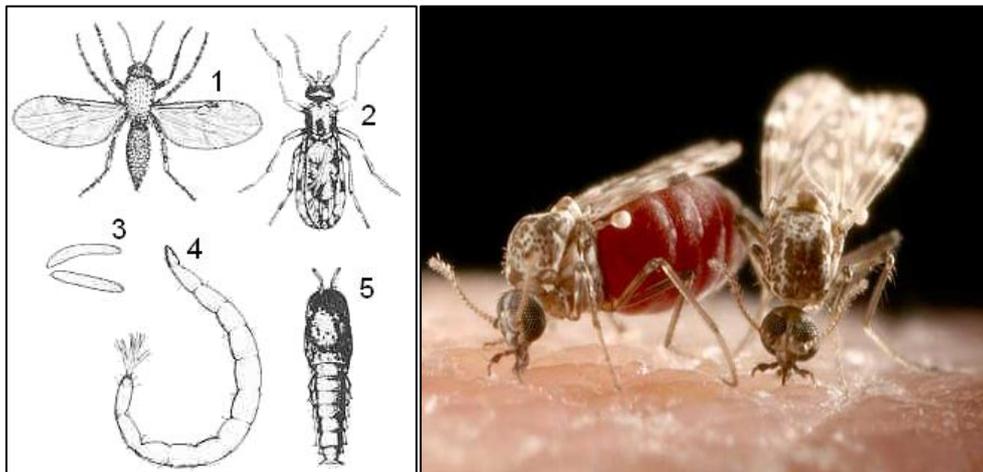


Figura 29 – (A) *Culicóide midges*: 1,2-adultos; 3-ovos; 4-larva; 5-pupa; (B) *Culicóide midges* adulto alimentando-se.

Existem quatro fases larvares e estas são caracterizadas por possuírem pequenas cabeças escuras, corpos segmentados e brânquias anais terminais. Apresentam movimentos natatórios na água e alimentam-se de vegetação em decomposição, completando o desenvolvimento larvar em 14 a 25 dias em regiões quentes ou até 7 meses em regiões temperadas (Taylor *et al.*, 2007).

As pupas são menos ativas, têm entre 2 a 4 mm de comprimento, encontram-se à superfície ou nas margens de água e caracterizam-se por um par de sífões respiratórios no cefalotórax e um par de cornos terminais que permitem o movimento. Os adultos emergem das pupas em 3 a 10 dias (Taylor *et al.*, 2007)

Somente as fêmeas são hematófagas e infligem uma mordida dolorosa (figura 29B). Os *Culicoides* spp. não são muito eficazes a voar e geralmente encontram-se perto dos seus habitats larvares em pequenos enxames impercetíveis. Os *Culicoides* spp. alimentam-se ao crepúsculo ou durante a noite e as fêmeas são atraídas pelo odor e calor dos seus hospedeiros, existindo vários graus de especificidade quanto ao hospedeiro, nas várias espécies de *Culicoides* (Taylor *et al.*, 2007).

A importância veterinária destes mosquitos, prende-se com o facto de estes poderem atuar como vetores de mais de 50 arbovírus, que podem ser transmitidos a uma ampla gama de hospedeiros. Estes arbovírus são responsáveis por afeções importantes

como a doença da língua azul em ovelhas. As espécies de *Culicoides* podem ainda atuar como vetores de nemátodes filarídeos como a *Onchocerca* spp. (Taylor *et al.*, 2007).

3.3. Distribuição geográfica

As infeções por *O. lupi* foram inicialmente descritas num lobo caucasiano (*Canis lupus*) na Rússia (Rodonaja, 1967 referido por Sréter *et al.*, 2008) e desde 1991 foram descritos 64 casos divididos pela zona sudoeste dos Estados Unidos (Arizona, California, Utah) e zonas Sul e Central da Europa (Alemanha, Grécia, Hungria, Portugal e Suíça), como se pode verificar no mapa (figura 30).

Passados 22 anos, esta doença continua fora das publicações veterinárias, mesmo nas especializadas em parasitologia e oftalmologia, desde modo é muitas vezes descartada nos diagnósticos diferenciais de afeções oculares, acreditando-se assim que a incidência da oncocercose canina esteja subestimada.

Dos 64 casos reportados mundialmente, 50 ocorrem em regiões específicas da Europa, Vós (Hungria), Thessaloniki (Grécia) e Algarve (Portugal), o que pode indicar uma distribuição restrita dos vetores na Europa (Sréter *et al.* 2008).

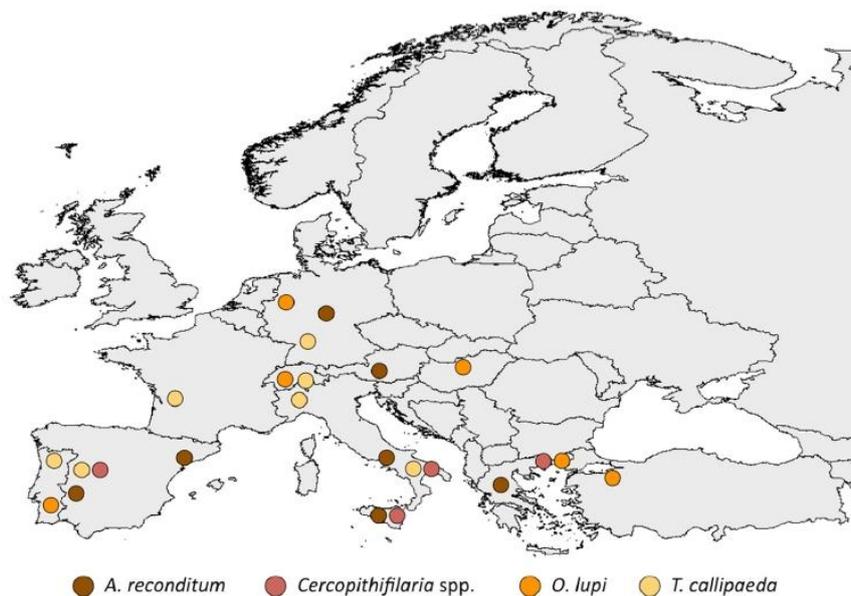


Figura 30 – Mapa demonstrativo da distribuição de *Acanthocheilonema reconditum*, *Cercopithifilaria* spp., *Onchocerca lupi* e *Thelazia callipaeda* na Europa (Adaptado de Otranto *et al.* 2013).

4. Fatores de suscetibilidade à *Onchocerca* sp.

Na oncocercose, como em todas as doenças transmitidas por vetores, estes desempenham um papel fundamental na transmissão da doença. A competência de um vetor refere-se à capacidade destes adquirirem, manterem e transmitirem os agentes infecciosos (Lane, 1994). Como é sabido, nem todos os artrópodes são vetores de doenças. Mesmo os artrópodes que se alimentam de sangue nem sempre são vetores. Os insetos, as carraças, ou os ácaros podem durante a sua refeição nos hospedeiros adquirirem o agente infeccioso, mas esse deve superar muitos obstáculos antes de ser transmitido para outro hospedeiro. Primeiro este elemento deve ter a capacidade de sobreviver (e até mesmo desenvolver-se) nos tecidos do vetor, tais como a hemolinfa, músculos, ou o sistema reprodutivo, e finalmente na maior parte dos casos, possuir a capacidade de penetrar nas glândulas salivares para inoculação num novo hospedeiro (McHugh, 1994). Entretanto, o próprio vetor deve viver o tempo suficiente para todas estas etapas de multiplicação/movimento/desenvolvimento a terem lugar (McHugh, 1994).

Um vetor ideal será aquele que proporcione um ambiente interno adequado para o agente infetante, possua um tempo de vida suficiente, tenha um padrão de alimentação em hospedeiros correspondentes à gama de hospedeiros do elemento infetante, alimente-se muitas vezes e por longos períodos, ingeria grandes quantidades de sangue em cada fase da vida, e possua a capacidade de se dispersar facilmente (McHugh, 1994). Naturalmente, nenhum vetor possui todas estas características, mas alguns possuem graus variáveis das mesmas (McHugh, 1994). Numa determinada região ou período específico, existem vetores primários, que são os principais artrópodes envolvidos na transmissão de uma determinada afeção, e vetores secundários, que desempenham um papel suplementar na transmissão, mas que são incapazes de manter a afeção na ausência de vetor primários (Harwood *et al.* 1979).

A competência dos vetores é afetada quer por fatores intrínsecos, quer por fatores extrínsecos (Goddard, 2008). Os fatores intrínsecos incluem fatores fisiológicos internos e características comportamentais inatas que regem a infeção de um vetor e a sua capacidade de transmitir um agente - características como a duração da alimentação, preferências por determinados hospedeiros, existência ou não de transmissão transovárica (Goddard, 2008). Os fatores extrínsecos incluem a disponibilidade de animais hospedeiros, os seus padrões de atividade, condições climáticas, a variação

genética, entre outros (Goddard, 2008). A competição entre os microrganismos dentro de um vetor também pode afetar a competência do vetor (Goddard, 2008).

4.1. Fatores extrínsecos ao hospedeiro vertebrado

A frequência de transmissão e disseminação das *Onchocerca* sp. depende de fatores ambientais, tais como a temperatura, humidade, frio, chuva e a densidade da população de vetores (Gubler, 2009). No entanto, fatores socioeconómicos são igualmente importantes, tais como a densidade e a circulação de cães infetados, devido à adoção e deslocação de/para áreas endémicas (Gubler, 2009).

É fundamental igualmente a existência de um clima que proporcione uma temperatura e humidades adequadas para sustentar uma população viável dos mosquitos vetores e manter uma temperatura suficiente para a maturação de microfilárias L3 no hospedeiro intermediário (Gubler, 2009).

Por outro lado prevê-se que com o aquecimento global há um potencial significativo para o aumento de doenças transmitidas particularmente por vetores (Khasnis e Nettleman, 2005; Rinaldi *et al.*, 2006, referidos por Genchi *et al.*, 2009), uma vez que os artrópodes hematófagos possuem uma temperatura interna bastante afetada pela temperatura ambiente (Genchi *et al.*, 2009).

Pelo facto dos artrópodes serem de sangue frio, a transmissão de doenças em regiões temperadas é sazonal e normalmente só ocorre durante os meses mais quentes, cessação de transmissão pode ser correlacionada com a temperatura e duração do dia, os principais fatores que determinam a diapausa e hibernação na população dos vetores (Genchi *et al.*, 2009). Nos trópicos e subtropicais, a transmissão geralmente ocorre em todo o ano, mas um aumento da transmissão sazonal é correlacionada com o período de chuvas (Genchi *et al.*, 2009).

Outros fatores extrínsecos podem influenciar a possibilidade do vetor ficar infetado ou não (Gubler, 2009). Por exemplo, foi demonstrado que mosquitos que ingeriram sangue de um animal que contenha tanto microfilárias como certos arbovírus têm maior probabilidade de transmitir vírus em relação às microfilárias, visto que os vírus possuem uma disseminação mais facilitada em relação às microfilárias (Gubler, 2009).

Podia-se considerar que os animais domésticos possuem um modo de vida mais protegido que a maioria, dado estarem muitas vezes confinados em ambientes fechados. No entanto, a menos que o ambiente doméstico ofereça uma barreira efetiva à entrada

de mosquitos, estes animais, chamados de interior, também podem estar em risco de infecção (Nelson *et al.*, 2007), apesar de o maior risco estar sempre associado ao habitat exterior. Atualmente acredita-se que os animais que possuem um estilo de vida de exterior possuem duas vezes maior probabilidade de serem expostos à infecção por vetores (Miller *et al.*, 2000). No entanto, é importante salientar que o maior risco é a exposição, o que não corresponde necessariamente a um aumento de risco de desenvolver uma infecção (Miller *et al.*, 2000).

Como o ciclo de vida de todos *Onchocerca* spp. é indireto (isto é, é necessário tanto um hospedeiro intermediário como um hospedeiro definitivo), e o desenvolvimento destes parasitas no hospedeiro definitivo é lento (Rommel *et al.*, 2000 referido por Sréter *et al.*, 2008), a doença foi reconhecida apenas em cães adultos. A idade média dos cães afetados foi de 5,3 anos (variação: 1-15), e 78% dos cães pertencia à classe de idade de 1-7 anos (Orihel *et al.*, 1991; Gardiner *et al.*, 1993;. Eberhard *et al.*, 2000;. Széll *et al.*, 2001a, b;. Egyed *et al.*, 2001, Komnenou *et al.*, 2002, 2003; Hermosilla *et al.*, 2005;. Zarfoss *et al.*, 2005;. Schaffer *et al.*, 2006;. Omonte, comunicação pessoal referidos por Sréter *et al.*, 2008).

A maioria dos cães (70%) eram do sexo masculino, a diferenciação sexual nas infecções parasitárias é um fenómeno conhecido, embora não esteja ainda muito aprofundada (Klein, 2004 referido por Sréter *et al.*, 2008). Recentemente alguns autores têm evidenciado o facto da possibilidade de existir uma predisposição racial da *O. lupi*. É referido em concreto o caso dos pastores alemães. Isto acontece por existirem 32% de casos referenciados nesta raça (Komnenou, *et al.*, 2002). No entanto a informação ainda é escassa e pode ser explicada, por esta raça ser uma das mais populares em todo o mundo, e estes cães serem geralmente mantidos ao ar livre (isto é, mais expostos ao vetor) (Sréter *et al.*, 2008).

4.2.Fatores intrínsecos ao hospedeiro vertebrado

Como dito anteriormente a competência dos vetores, é regulada também por fatores intrínsecos (genéticos) que influenciam a capacidade de um vetor em transmitir um agente patogénico (Hardy *et al.*, 1983; Black *et al.*, 1996; Woodring *et al.*, 1996). Porque a eficácia de vetores, ou seja, como estes são suscetíveis à infecção e como estes permitem que o elemento infetante desenvolva-se é controlada geneticamente, a competência dos vetores deverá evoluir, como resultado da pressão seletiva ao longo do tempo (Gubler, 2009). Além desta suscetibilidade inata à infecção, a capacidade vetorial

é influenciada por outras características biológicas e comportamentais da população de artrópodes, como por exemplo, as preferências pelo tipo de hospedeiro onde o vetor se vai alimentar, a suscetibilidade à infecção pelo elemento infetante, o comportamento do vetor durante a alimentação, o grau de contacto que os insetos têm com os hospedeiros vertebrados, o comportamento de repouso dos vetores. Longevidade, comportamento no voo, postura (reprodução) possuem uma componente genética que irá afetar a competência do vetor (Bernstein *et al.*, 2000; Gubler, 2009).

No entanto esta capacidade que os vetores têm para transmitir um agente patogénico varia de forma muito significativa entre as espécies de artrópodes e mesmo dentro da mesma espécie mas que vivam em áreas geográficas diferentes. O grau de contacto que o vetor tem com os animais é influenciado pela preferência pelo hospedeiro, pela relação tempo de alimentação/repouso do vetor, e pela densidade da população do vetor e do hospedeiro (Gubler, 2009).

5. Patologia e sinais clínicos

Na maioria dos casos, as infeções por *Onchocerca* spp. são assintomáticas ou subclínicas em equinos e bovinos, devido ao facto dos parasitas adultos nestes animais estarem geralmente localizados nos tecidos subcutâneos ou ligamentos e não manifestarem sinais clínicos evidentes (Rommel *et al.*, 2000 referido por Sréter *et al.*, 2008). A localização de *O. lupi* nos canídeos não é similar aos casos descritos em equinos e bovinos, na esmagadora maioria dos casos, apesar de haver o relato de um caso na Grécia descrevendo o parasita em tal local. Neste caso, a doença foi identificada como oncocercose subcutânea, manifestando-se através de nódulos salientes no lúmen traqueal causando tosse, dispneia, asfixia e morte (Papaioannou *et al.*, 2004).

Na maioria dos casos, a oncocercose canina tem sido relatada como uma doença ocular aguda ou crónica (Sréter *et al.*, 2008). Nos casos agudos a inflamação ocular é manifestada por conjuntivite, eritema, exoftalmia, edema periorbital, fotofobia, desconforto, lacrimejamento e descarga ocular, não existindo granuloma ou quisto formado em torno dos parasitas (Eberhard *et al.*, 2000; Széll *et al.*, 2001b; Egyed *et al.*, 2002a, b; Zarfoss *et al.*, 2005). Nestes casos, os parasitas apresentam um aspeto de fios finos que podem ser retirados da estrutura da conjuntiva com o auxílio de uma pinça (Eberhard *et al.*, 2000; Egyed *et al.*, 2002a, b;).

Nos casos crónicos, os parasitas estão localizadas dentro de nódulos granulomatosos de 5-25 mm de diâmetro compostos principalmente por eosinófilos,

histiócitos, fibroblastos e vasos sanguíneos recentemente formados (Zarfoss *et al.*, 2005). Estes nódulos são localizados no espaço retrobulbar, fáscia orbital, pálpebra, membrana nictitante, conjuntiva e esclera, e são em alguns casos acompanhados sinais clínicos que são muito variáveis (Zarfoss *et al.*, 2005) como resumidos na tabela 31.

A superfície dos nódulos é geralmente irregular, com espessamentos nodulares devido ao forte enrolamento dos parasitas adultos. A excisão cirúrgica das massas revela em muitos casos que estas se infiltram profundamente no tecido conjuntivo periocular e pode ser de até 2 cm de comprimento em alguns cães (Széll *et al.*, 2001b; Egyed *et al.*, 2002a).

Tabela 31: Manifestações oftalmológicas em 62 cães com OOC crónica.

Com base em dados fornecidos por Orihel *et al.* (1991), Gardiner *et al.* (1993), Eberhard *et al.* (2000), Széll *et al.* (2001a, b), Egyed *et al.* (2002a), Komnenou *et al.* (2002, 2003), Gionfriddo *et al.* (2005), Hermosilla *et al.* (2005), Zarfoss *et al.* (2005), Schaffer *et al.* (2006) e Faísca *et al.*, (2010).

Sinais/lesões Oculares	% de animais afetados
Envolvimento unilateral	53,2
Envolvimento bilateral	46,8
Exoftalmia	95,2
Congestão da conjuntiva	93,5
Descarga ocular	93,5
Edema periorbital	91,9
Formação de granulomas	85,5
Protrusão da membrana nictitante	82,3
Lacrimejamento	79,0
Desconforto	79,0
Edema da córnea (localizada ou generalizada)	72,6
Fotofobia	64,5
Uveíte anterior ou posterior	54,8
Blefarite	19,4
Úlcera de córnea	14,5
Formação quística	14,5

Várias secções de machos e fêmeas de *O. lupi*, com a forma de fragmentos filiformes finos e brancos, podem ser detetados no exame histopatológico destas massas (Sréter *et al.*, 2008). Os parasitas são rodeados por tecido conjuntivo de colagénio ou tecido granulomatoso, caracterizada pela presença de granulócitos eosinófilos, células do plasma, fibroblastos, histiócitos e vasos sanguíneos recém formados (Orihel *et al.*, 1991; Gardiner *et al.*, 1993, Széll *et al.*, 2001a, b; Komnenou *et al.*, 2002; Hermosilla *et al.*, 2005; Zarfoss *et al.* 2005; Schaffer *et al.*, 2006 referidos por Sréter *et al.*, 2008).

Hemorragias recentes e tecidos destruídos também podem ser observados, devido ao grande número de microfilárias presentes e à sua migração (Széll *et al.*, 2001a; Komnenou *et al.*, 2002; Gionfriddo *et al.*, 2005; Schaffer *et al.*, 2006 referido por Széll *et al.*, 2008).

Estas lesões oculares têm sido erradamente diagnosticadas, no entanto, estas podem ser distinguidas de outras infecções por parasitas de acordo com a localização ocular do parasita, o grau de envolvimento da infecção e os sinais clínicos (tabela 32).

Tabela 32: Helmintíases oculares relatadas em cães (Adaptado de Sréter *et al.* (2002a, b) e Zarfoss *et al.* (2005)).

Parasita (estágio)	Localização ocular do parasita	Envolvimento	Sinais Clínicos
<i>Thelazia</i> spp. (adultos maduros)	Conjuntiva	Bilateral	Conjuntivite, fotofobia
<i>O. lupi</i> (adultos maduros)	Subconjuntiva, espaço retrobulbar	Unilateral ou bilateral	Tabela anterior
<i>Ancylostoma</i> sp. (adultos imaturos)	Câmara posterior	Unilateral	endoftalmite, glaucoma
<i>Dirofilaria immitis</i> (adultos imaturos)	Câmara anterior	Unilateral	Uveíte, edema corneal, glaucoma
<i>Angiostrongylus vasorum</i> (larvas)	Câmara anterior	Unilateral ou bilateral	Panuveíte, retinopatia
<i>Toxocara canis</i> (larvas)	Coróide, retina	Unilateral ou bilateral	Exoftalmia, corioretinite
<i>Trichinella</i> sp. (larvas)	Pálpebra	Unilateral ou bilateral	Nenhum

A concentração de microfilárias na pele de cães infetados pode ser elevada (50-3600 g⁻¹) em todas as regiões do corpo (Széll *et al.*, 2001a, b; Egyed *et al.*, 2002a). Os *Onchocerca* spp. são os únicos parasitas filarídeos em que microfilárias são patogénicas (Sréter *et al.*, 2008). O grande número de microfilárias na pele provoca grave dermatite eosinofilia aguda e crónica em pessoas infetadas, cavalos e bovinos, independentemente da espécie de *Onchocerca* envolvida (Bwangamoi, 1969; Herd *et Donham*, 1983; Pollitt *et al.*, 1986, Voung *et al.*, 1994; Beirute *et al.*, 2005; John e Petri, 2006 referidos por Széll *et al.*, 2008).

Os casos agudos são caracterizados por prurido grave e dermatite pustulosa, já os casos crónicos por atrofia e hipo ou hiperqueratose da pele (Széll *et al.*, 2008). Sintomas semelhantes foram observados em alguns casos de oncocercose canina (Széll *et al.*, 2001b), assim não se pode excluir que este parasita possa ser responsável por dermatite de origem desconhecida em cães. As lesões cutâneas devem ser diferenciadas

de sarna, demodecose, piodermatite, atrofia senil e outras doenças da pele (Scott *et al.*, 2000).

5.1. Importância da *Wolbachia* spp. na fisiopatologia

A patogênese multifatorial da oncocercose ocular é discutida na literatura, fazendo referência principalmente às microfilárias de *O. volvulus* como causa endêmica de cegueira no ser humano em África (Zarfoss *et al.*, 2005). Tanto a imunidade inata como a adaptativa responsiva às *Onchocerca* spp. (e em grande parte às *Wolbachia* spp.) contribuem para a resposta do hospedeiro e para o desenvolvimento da afeção (Zarfoss *et al.*, 2005).

A *Wolbachia* spp. torna-se importante na fisiopatologia, pois esta bactéria existe num grande número de tecidos do parasita e nos seus múltiplos estágios de desenvolvimento (Taylor *et al.*, 1999). Isto sugere que aquando da morte do parasita, ou através de mecanismos de secreção e excreção dos seus produtos contribuirão para a patologia inflamatória e resposta imunitária associada às afeções por parasitas filarídeos (Taylor *et al.*, 1999).

Nos casos de infeção por *O. volvulus*, os neutrófilos têm-se mostrado entre as primeiras células recrutadas para o olho (Hise *et al.*, 2003; Zarfoss *et al.*, 2005). Aliás a *Wolbachia* pode desencadear uma resposta inflamatória através da sua interação com monócitos/macrófagos, células dendríticas, neutrófilos e células do estroma, libertando para isso lipoproteínas específicas (Brattig *et al.*, 2000; Taylor *et al.*, 2000; Brattig *et al.*, 2001 referidos por Bouchery *et al.*, 2012).

Todos estes processos acontecem através da ativação por parte da *Wolbachia* de recetores do tipo *Toll* (*Toll-like* recetor:TLR) 2 e 6 (Tamarozzi *et al.*, 2011). Os recetores TLR são moléculas de superfície, presentes nas células de defesa do hospedeiro, responsáveis pelo reconhecimento de estruturas microbianas e na promoção de sinais, que levam à produção de citocinas pró-inflamatórias essenciais para a ativação das respostas imunes inatas (Bouchery *et al.*, 2012). Os TLR2 formam heterodímeros com os TLR1 ou TLR6 para iniciar a sinalização através de moléculas adaptadoras de forma a induzir o fator potenciador das cadeias kappa das células B ativadas (NF-kB) e a produção de citocinas pró-inflamatórias e citocinas quimiotáticas (Kawai *et al.*, 2010 referido por Tamarozzi *et al.*, 2011). Embora os recetores *Toll-Like* desempenhem um papel primordial na defesa do hospedeiro contra os processos infecciosos e inflamatórios, deve haver um equilíbrio entre a ativação e

inativação destes recetores para evitar uma resposta inflamatória ou imunológica excessiva (Tamarozzi *et al.*, 2011).

A inflamação devida à infiltração de neutrófilos é totalmente dependente da ativação dos TLR2 (Tamarozzi *et al.*, 2011). A *Wolbachia* é também responsável por induzir através dos TLR2 a ativação dos macrófagos residentes nesta zona a produzirem citocinas pró-inflamatórias e CXC quimiocinas, que medeiam o recrutamento de mais neutrófilos a partir dos vasos periféricos (Bouchery *et al.*, 2012).

Os neutrófilos e as células do estroma responsivos à *Wolbachia* medeiam a produção de citocinas e podem contribuir para a desgranulação e a secreção de oxigénio reativo e metaloproteinases de matriz, resultando na morte celular (Tamarozzi *et al.*, 2011). A desgranulação de neutrófilos e secreção de produtos citotóxicos tal como o óxido nítrico, a mieloperoxidase e os radicais de oxigénio têm um efeito citotóxico sobre as células residentes na córnea, incluindo fibroblastos e no endotélio da córnea, resultando em edema da córnea e maior perda de clareza da córnea (Gillette-Ferguson *et al.*, 2006; Gillette-Ferguson *et al.*, 2007 referidos por Tamarozzi *et al.*, 2011).

Os mastócitos por seu turno, quando ativados, promovem a desgranulação e o aumento da permeabilidade celular para facilitar o estabelecimento da infeção (Tamarozzi *et al.*, 2011). As Interleucinas (IL) - 4, IL-13 e IL-5 produzidas a partir de mastócitos e células *T-helpers* têm-se demonstrado essenciais para o recrutamento subsequente de eosinófilos, que têm como ação eliminar os parasitas através do contacto direto (Abraham *et al.*, 2002; Berger *et al.*, 2002 referidos por Zarfoss *et al.*, 2005).

Foram encontradas também células dendríticas dependes da ativação por parte do TLR2 pela *Wolbachia*. Estas produzem em vez de IL-4 e IL-5, o interferon gamma (IFN- γ). Estes têm um papel indireto no aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiotáticas, aumentando o recrutamento de neutrófilos para o estroma da córnea (Tamarozzi *et al.*, 2011), induzindo um tipo de resposta imune por Linfócitos T – helper do tipo 1 (Th1).

Este papel da *Wolbachia* pode ser replicado *in vitro* por exposição de células imunitárias inatas a fragmentos de parasitas. De facto, as células apresentadoras de antígenos quando estimuladas com *Wolbachia* presente nos fragmentos de parasitas libertam grandes quantidades de citocinas inflamatórias, enquanto que a estimulação com fragmentos de parasitas previamente tratados com antibióticos anti-*Wolbachia* não

desencadeiam essa resposta (Hise *et al.*, 2003; Turner *et al.*, 2006, 2009 referidos por Bouchery *et al.*, 2012).

Em indivíduos cronicamente infetados, e não tratados, também existe uma resposta imune adaptativa em curso, devido à invasão repetida do parasita e da própria morte de alguns, o que leva à libertação de mais *Wolbachia* (Tamarozzi *et al.*, 2011). Isto levará os eosinófilos e macrófagos causarem danos permanentes nos tecidos, o que se manifesta como a opacificação da córnea, perda de visão e cegueira (Tamarozzi *et al.*, 2011).

A figura 31 ilustra como a *Wolbachia* induz a resposta imune em diferentes tipos de células imunitárias.

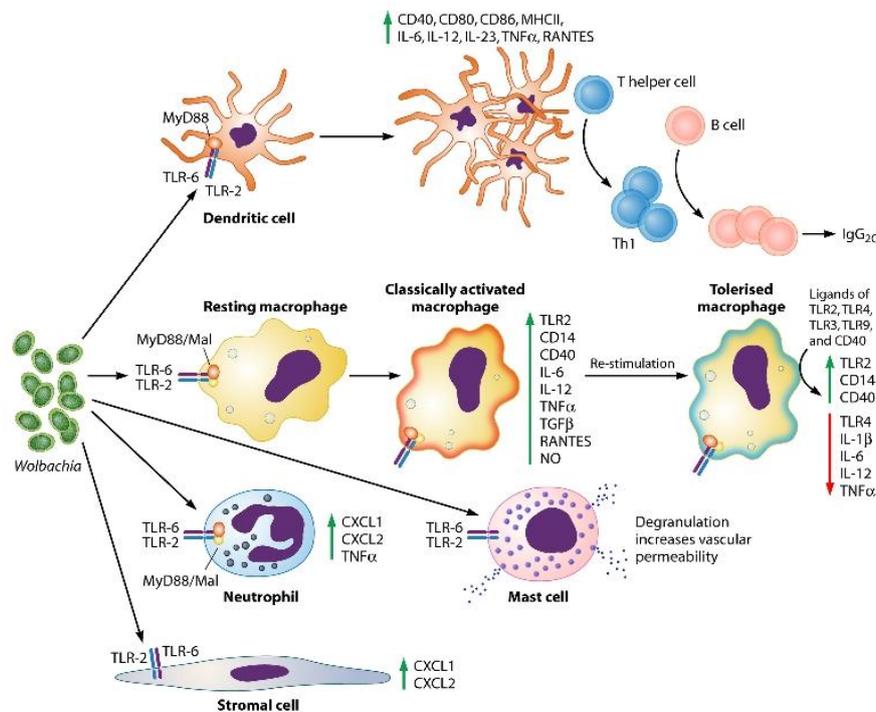


Figura 31: Resposta induzida pela *Wolbachia spp.* nas células. **Abreviaturas:** TLR, Recetor do tipo Toll; CD, Grupo de diferenciação; MHCII, Complexo principal de histocompatibilidade classe II; IL, interleucina; TNF α , Fator de necrose tumoral alpha; RANTES, Regulador da atividade normal da célula T expressada e secretada; TGF β , Fator de transformação de crescimento beta; NO, óxido nítrico; MyD88, Fator de diferenciação mielóide 88 (Adaptado de Tamarozzi et al., 2011).

A produção de anticorpos (IgM, IgE, IgG) foi também demonstrada como importante para a resposta imune às *Onchocerca* spp. (Abraham *et al.*, 2002). Num estudo em ratos com o intuito de determinar a imunidade à *O. volvulus* revelou que para além da imunidade mediada por células, verificou-se a existência de imunidade dependente de anticorpos. Esta conclusão teve por base a incapacidade dos ratinhos deficientes em células B em montar respostas imunes à infeção. Esta constatação mostra que a imunidade é dependente de IL-4 e IL-5 sugerindo uma dependência de IgG1 ou IgE. As medições dos níveis de anticorpos séricos totais e identificação anticorpos específicos aos antígenos de superfície, antígenos internos e antígenos solúveis em *western blot* revelaram respostas por IgM, IgE e todas subclasses de IgG (Abraham *et al.*, 2002).

Finalmente, é sugerido ainda que os antígenos de *Onchocerca* spp. (e, por conseguinte, anticorpo) possuem uma reação cruzada com antígenos dos exossomas da retina ligados ao sucesso da imunorregulação intraocular o que pode contribuir para a gravidade da lesão ocular por parte da *Onchocerca* spp. (McKenchnie *et al.*, 1997, 1993 referidos por Zarfoss *et al.*, 2005). Os exossomas são produzidos por muitas células de linhagem hematopoiética e por células epiteliais do intestino, e têm como função a regulação da resposta imune e o desenvolvimento da tolerância imunológica das mucosas. Este estudo demonstrou uma reação imunológica cruzada entre um antígeno de *O. volvulus* (Ov39) e o hr44 antígeno dos exossomas, isolados a partir das células ARPE-19 da retina. Vários grupos têm investigado a ocorrência de anticorpos nos fluidos oculares em pacientes com oncocercose, no entanto, apenas um grupo conseguiu demonstrar um nível significativo de anticorpos para antígenos de *O. volvulus* no humor aquoso (McKenchnie *et al.*, 2003). Foi provado que existiu uma reação cruzada entre Ov39/hr44 (presente apenas em pacientes com oncocercose), o que interrompeu a imunorregulação mediada pelos exossomas (McKenchnie *et al.*, 1997, 2003).

6. Diagnóstico

O diagnóstico ante-mortem de OOC pode ser alcançado através do exame oftalmológico seguido de biópsia ou enucleação e subsequente exame histopatológico (Zarfoss *et al.*, 2005). As microfilárias de *O. lupi* geralmente invadem a pele em vez do sangue (Andersson, 2000 referido por Zarfoss *et al.*, 2005), deste modo um diagnóstico de oncocercose pode também ser feito através de biópsia de pele periocular ou inguinal

e histopatologia, mas não através da avaliação sanguínea (Sréter *et al.*, 2002 referido por Zarfoss *et al.*, 2005). Contrariamente à *D. immitis*, os efeitos sistêmicos não oculares de *O. lupi* em canídeos estão geralmente limitados aos sinais dermatológicos secundários causados pelas microfilárias (Sréter *et al.*, 2002 referido por Zarfoss *et al.*, 2005). Informações histopatológicas sobre oncocercose canina estão limitadas a casos crônicos (Sréter *et al.*, 2002 referido por Zarfoss *et al.*, 2005).

Inicialmente os diagnósticos diferenciais de OOC incluem celulite orbitária, abscessos retrobulbares, episclerite nodular e neoplasia periorbital (Komnenou *et al.* 2002). As formas mais comuns de apresentação de OOC consistem em edema dos tecidos perioculares com existência de granulomas ou a de formações quísticas inseridas na esclera (Komnenou *et al.* 2002).

Uma ecografia ocular pode ser executada, pois permite-nos em casos de oncocercose verificar se existe ou não massas (pela hiperecogenicidade) no espaço retrobulbar (Faísca *et al.*, 2010). A palpação ocular em busca de massas também pode ser útil no diagnóstico. As análises bioquímicas e hematológicas não nos dão na maior parte dos casos informações relevantes. No entanto sempre que possível deve-se efetuar uma radiografia torácica, como meio complementar de diagnóstico para descartar *D. immitis*.

Nos casos agudos onde não existe a formação de nódulos visíveis o diagnóstico assenta sobretudo na análise morfológica do parasita (Sréter *et al.*, 2008). As características cuticulares das suas fêmeas, bem como o tamanho e morfologia das microfilárias removidas do útero ou isolados a partir da pele dos cães infetados podem-nos auxiliar no nosso diagnóstico (Sréter *et al.*, 2008).

6.1. Identificação de adultos

Uma vez que os fragmentos do parasita são brancos e delgados, estes podem ser confundidos com fios de gaze durante uma intervenção cirúrgica (Sréter *et al.*, 2008). A diferenciação entre a *O. lupi* e outros nemátodes que ocorrem no trato ocular dos canídeos pode ser feita através do exame morfológico das fêmeas do parasita, mais precisamente através das suas características cuticulares (tabela 33) (Sréter *et al.*, 2008). Geralmente, a cutícula dos *Onchocerca* spp. é composta por uma camada nas extremidades e duas camadas distintas do segmento central, com a única camada das extremidades e a camada interior do segmento central possuindo estrias e a camada exterior do centro, rugas arredondadas (figura 32) (Sréter *et al.*, 2008). O padrão

cuticular de duas estrias por sulco, a forma e altura das rugas e a relação do diâmetro do corpo com a distância entre as rugas da cutícula da *O. lupi* diferem dos outros nemátodes que infetam cães e dos outros *Onchocerca* spp. que ocorrem na Europa e na América do Norte (Tabela 33) (Sréter *et al.*, 2008).

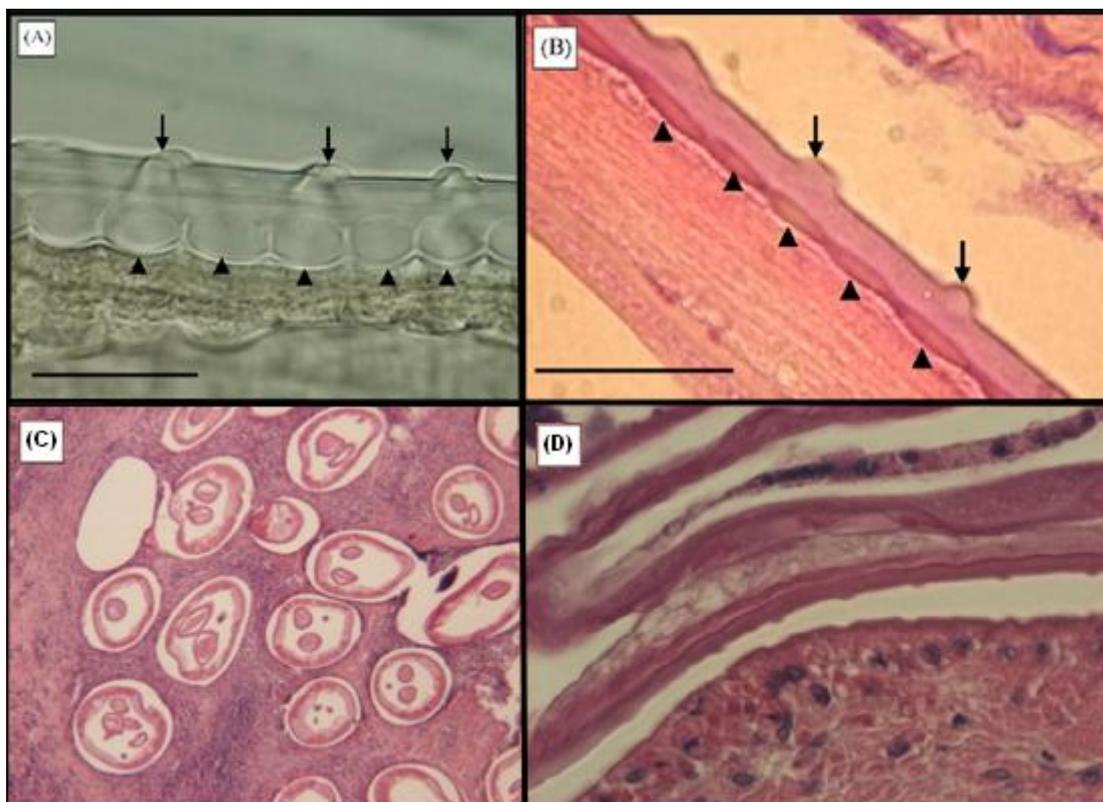


Figura 32: Morfologia cuticular de fêmeas de *O. lupi*. Rugas cuticulares (setas) e estrias (pontas de seta). (A) Parasita isolado da subconjuntiva e corado com lactofenol (Adaptado de Széll *et al.*, 2001); (B) Secção histológica de um nódulo subconjuntival (Adaptado de Széll *et al.*, 2001); (C) Reação granulomatosa com várias seções de uma fêmea grávida no espaço retrobulbar (Hematoxilina-Eosina (H&E), x40) (Adaptado de Faísca *et al.*, 2010); (D) A cutícula composta por duas camadas separadas, secções longitudinais. A camada externa possui rugas cuticulares e a camada interna uma estria em cada ruga e uma entre rugas vizinhas (H&E, x400) (Adaptado de Faísca *et al.*, 2010).

Tabela 33: Padrão de hospedeiros de *Onchocerca* spp. que infetam animais selvagens e domésticos na Europa e América do Norte. Comparação da largura máxima e morfologia cuticular das fêmeas do parasita.

Espécie	Hospedeiro	Largura máxima (µm)	Rugas	Forma da estria	Estria por ruga	BD por DBR
<i>O. cervicalis</i>	Cavalo	360-570	Proeminentes	Forma de dente	3-4	4:1
<i>O. reticulata</i>	Cavalo	275-400	Proeminentes	Triangular	1	20:1
<i>O. gutturosa</i>	Bovino	200-330	Proeminentes	Forma de dente	4	3-4:1
<i>O. lienalis</i>	Bovino	150-260	Pequena	Alongada	2	5-6:1
<i>O. stilesi</i>	Bovino	140-220	Proeminentes	Alongada	2-3	3-4:1
<i>O. garmsi</i>	Veado vermelho	343-405	Pequena	Alongada	3	7-8:1
<i>O. jakutensis</i>	Veado vermelho	387-455	Pequena	Alongada	3-4	8:1
<i>O. tarsicola</i>	Veado vermelho, rena	170-330	Pequena	Alongada	4	5:1
<i>O. flexuosa</i>	Veado vermelho, gamo	240-400	Uma proeminente, duas pequenas	Forma de onda	4 (por proeminência)	NA
<i>O. alcis</i>	Alce	200-300	Proeminentes	Forma de dente	4	6:1
<i>O. lupi</i>	Cão, lobo	200-420	Proeminentes	Alongada	2	7-10:1
<i>O. volvulus</i>	Homem	230-260	Proeminentes	Alongada	2	10:1

Abreviaturas: BD:DBR, rácio entre o diâmetro do corpo e a distância entre rugas; NA, não aplicável. Informação adaptada de Sréter et al., 2008, obtida através de Azarova (1965), Rodonaja (1967), Bain and Schulz-Key (1974, 1976), Bain (1975, 1981), Schulz-Key and Bain (1976), Eberhard (1979), Bain and Rehbinder (1986), Demiaszkiewicz (1989), Orihel et al. (1991), Demiaszkiewicz (1993), Gardiner et al. (1993), Eberhard et al. (2000), Egyed et al. (2001), Pampiglione et al. (2001), Komnenou et al. (2002), Gionfriddo et al. (2005), Zarfoss et al. (2005), Schaffer et al. (2006), and Uni et al. (2007).

6.2. Identificação de microfilárias

As microfilárias de *O. lupi* ocorrem geralmente na pele, e não na corrente sanguínea (Sréter et al., 2008). A concentração média, de microfilárias de *O. lupi*, encontrado na pele da região da cabeça e da região abdominal em cães é de (475 g⁻¹; 50-

3600 g⁻¹) (Széll *et al.*, 2001a,b; Egyed *et al.*, 2002a referidos por Sréter *et al.*, 2008) e é comparável com a concentração observada em infecções por *O. volvulus* no homem (John e Petri, 2006 referidos por Sréter *et al.*, 2008). Portanto, a biópsia de pele superficial deverá ser utilizada no diagnóstico de oncocercose canina (Sréter *et al.*, 2008). Um pequeno recorte da pele (0,1g), retirado da região da cabeça ou da região umbilical deve ser armazenado num pequeno tubo (por exemplo, tubo de Eppendorf) contendo 250-500µl de solução salina fisiológica à temperatura ambiente por 2-4h (Sréter *et al.*, 2008). Depois dos tecidos do hospedeiro terem sido removidos e o fluido restante ser centrifugado a 350g durante 3 minutos, o sedimento pode ser examinado diretamente numa lâmina de microscópio ou pode ser fixado e corado com hematoxilina (Sréter *et al.*, 2008).

A avaliação do esfregaço pode não ser útil no diagnóstico definitivo, pois como referido anteriormente as microfilárias geralmente invadem a pele em vez do sangue (Andersson, 2000 referido por Zarfoss *et al.*, 2005). As microfilárias de *O. lupi* (figura 33) podem ser diferenciadas das de outros nemátodes que infetam cães, com base nas suas características morfométricas (tabela 34) (Sréter *et al.*, 2008). Estas possuem uma forma de bastão, movendo-se lentamente e possuem um comprimento inferior a 120µm, enquanto as microfilárias de todos os outros parasitas filarídeos ou larvas de nemátodes que ocorrem na pele de cães são maiores do que 150µm (Sréter *et al.*, 2008).

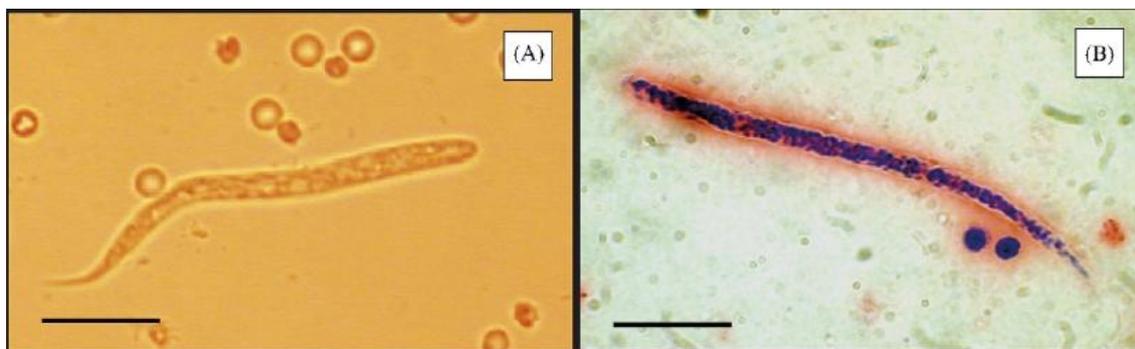


Figura 33: Microfilárias de *O. lupi* (Széll *et al.*, 2001). (A) Microfilária não fixada nem corada (barra=25µm); (B) Microfilária corada com hematoxilina (barra=25µm).

Tabela 34: Dados morfométricos, presença de bainha e da forma do fim da cauda de microfilárias de *O. lupi* na pele de cães e outras larvas nemátodes, que podem ocorrer na pele de cães na região da Europa e América do Norte. (Adaptado de Sréter *et al.*, 2008 baseado; Soulsby (1965), Mehlhorn *et al.* (1993), Széll *et al.* (2001a,b), Egyed *et al.* (2001), Bowman (2002), Komnenou *et al.* (2002), Tarello (2004), Gionfriddo *et al.* (2005), Hermosilla *et al.* (2005), Zarfoss *et al.* (2005), Schaffer *et al.* (2006), e Genchi *et al.* (2007b)).

Parasita	Comprimento médio (µm)	Largura média (µm)	Comprimento por largura	Outras características
<i>O. lupi</i>	108 (98-118)	6.0 (5-7)	18:1	Sem bainha; cauda reta
<i>Dirofilaria repens</i>	325 (283-386)	7.0 (6-8)	46:1	Sem bainha; cauda forma guarda chuva
<i>D. immitis</i>	310 (290-330)	7.0 (6-8)	44:1	Sem bainha; cauda reta
<i>Acanthocheilonem a (dipetalonema) reconditum</i>	248 (213-283)	4.5 (4-5)	55:1	Sem bainha; cauda curva
<i>Acanthocheilonem a (dipetalonema) dracunculoides</i>	224 (190-258)	5.2 (4-6.5)	46:1	Com bainha; cauda reta
<i>Cercopithifilaria (dipetalonema) grassii</i>	614 (567-660)	13.7 (12-15.5)	45:1	Com bainha; cauda ligeiramente curvada
<i>Strongyloides stercolaris</i>	410 (228-600)	17.0 (8-26)	24:1	Sem bainha; cauda reta
<i>Rhabditis strongyloides</i>	550 (400-700)	21.0 (17-27)	26:1	Sem bainha; cauda reta
<i>Ancylostoma e Uncinária spp.</i>	600 (500-700)	23.0 (22-24)	26:1	Sem bainha; cauda reta

6.3. Serologia, imunohistoquímica, diagnóstico molecular

Em contraste com os *Dirofilariae* (Genchi *et al.*, 2007 referido por Sréter *et al.*, 2008), não existem atualmente testes serológicos para a detecção de *O. lupi* disponíveis no mercado (Sréter *et al.*, 2008). Foi demonstrado recentemente que a identificação de *Wolbachia* um endossimbionte de *Dirofilaria spp.* através de métodos diretos e indiretos (imunohistoquímica, PCR, ELISA), parece ser um excelente exame complementar de diagnóstico e constituir uma ferramenta eficaz para estudos epidemiológicos sobre dirofilarioses (Simón *et al.*, 2007).

Como a *O. lupi* e outros nemátodes filarídeos que parasitam o cão também possuem microrganismos da família *Wolbachiae* (Egyed *et al.*, 2002a; Sréter-Lancz *et al.*, 2007), ambos os métodos diretos e indiretos podem detetar os endossimbiontes desses parasitas.

Portanto, cães positivos à *Wolbachia* devem ser testados para a infecção *Onchocerca* spp. e pela técnica de recorte de pele (Genchi *et al.*, 2007).

Métodos de sequenciamento por PCR ampliando o gene ND5 mitocondrial (figura 34) e genes COI de *O. lupi* podem também ser usados para a identificação dos parasitas pois as sequências destes genes estão disponíveis no *GenBank*. Como a amplificação baseada no PCR de ADN é geralmente difícil, a partir de materiais fixados em formol, uma parte de quaisquer nódulos ou parasitas deve sempre ser fixada em etanol a 70% (Sréter *et al.*, 2008).

<i>O. lupi</i>	TAATTATTTT TGAATGCACA ACAGTGAGAT GAGAATGAAG TAGTTGCAAA	50
<i>O. cervicalis</i>C.....G.....	50
<i>O. gutturosa</i>C.....G..R..W.	50
<i>O. volvulus</i>T.....C.T.....A.....	50
<i>O. ochengi</i>Y.R...Y...C.T.....A.....	50
<i>D. immitis</i>	A.GCC.....CG.....T.A.A...T..AT.....C.A.GAT.TT	50
<i>O. lupi</i>	ARTCGGTTTA ATTACCCAAG TTTGAGGTAA TTGAATGTTT CAGCCCAGAG	100
<i>O. cervicalis</i>	CA.T.....	100
<i>O. gutturosa</i>	CAKT.....W.R.....YK...Y..	100
<i>O. volvulus</i>	CA.T.....T.....	100
<i>O. ochengi</i>	CA.T.....T.....	100
<i>D. immitis</i>	TGA.....A	100
<i>O. lupi</i>	TTTCGGCTCC TGTGGCTTGA AGTGAAATT TGGAACGTCC TGTATCGGCG	150
<i>O. cervicalis</i>A.G.....C...A.....A....G.A.AA..	150
<i>O. gutturosa</i>	..M.AM.G.....M....YR---A...	146
<i>O. volvulus</i>A.G.....C.....C..GA...	150
<i>O. ochengi</i>A.G.....C.....C..GA...	150
<i>D. immitis</i>	..ATAT..G.....A.....A....AC..TA.T.	150

Figura 34: Alinhamento de sequências do gene de rRNA 5S ribossomal. Apenas as diferenças são mostradas. Traços indicam lacunas e pontos indicam bases que são idênticas aos de *O. lupi* (Adaptado de Egyed *et al.*, 2001).

7. Terapêutica

7.1. Remoção cirúrgica dos parasitas

O único tratamento conhecido para casos crônicos de OOC é a remoção cirúrgica dos nódulos contendo os parasitas (Sréter *et al.*, 2008). A excisão completa nem sempre é possível, pois os nódulos possuem ocasionalmente uma extensão profunda e envolvem a esclera (Széll *et al.*, 2001b; Komnenou *et al.*, 2002 referidos por Sréter *et al.*, 2008).

O procedimento de remoção das massas perioculares é sempre executado sob anestesia geral (Komnenou *et al.*, 2002). Após a cantotomia lateral, o olho é prolapsado e uma incisão é feita na conjuntiva e sobre as massas (figura 35A) (Komnenou *et al.*, 2002). O olho pode apresentar formações reativas em forma de quisto de cor acinzentada (figura 35B) ou formações granulomatosas inseridas na esclera (figura 35C) que terão que ser removidas (Komnenou *et al.*, 2002). Ocasionalmente, massas filiformes de parasitas projetam-se a partir dos tecidos e podem ser facilmente removidas durante o procedimento (figura 35D). É importante ter sempre cuidado de forma a remover os tecidos com uma margem suficiente (Komnenou *et al.*, 2002). A excisão completa pode não ser possível, quando há mais de duas massas que possuem uma profunda extensão envolvendo a esclera (Komnenou *et al.*, 2002). Após a excisão das massas, a conjuntiva e os locais de inserção da cantotomia são suturados (Komnenou *et al.*, 2002).

Um erro comum, ocorre quando é feito um diagnóstico errado de abscesso retrobulbar, e desta forma o olho é enucleado (Gardiner *et al.*, 1993; Eberhard *et al.*, 2000; Zarfoss *et al.*, 2005; Schaffer *et al.*, 2006 referidos por Sréter *et al.*, 2008), o que não é necessário em casos de OOC (Sréter *et al.*, 2008).

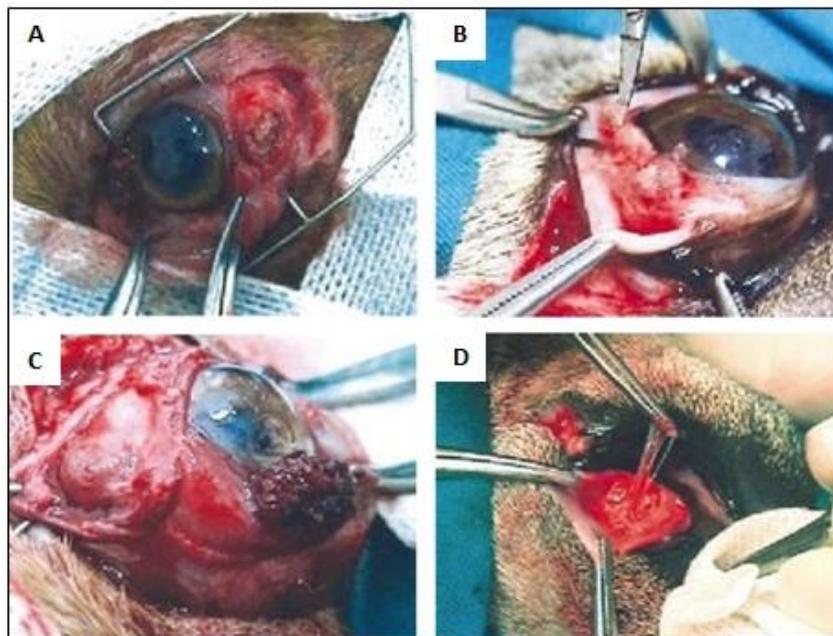


Figura 35: Remoção cirúrgica de massas perioculares. (A) Cantotomia lateral com presença de uma massa subconjuntival; (B) Formação quística no limbo esclerocorneano com protusão de parasitas; (C) Formação granulomatosa inserida na esclera; (D) Parasitas sendo removidos de um granuloma subconjuntival (Adaptado de Komnenou *et al.*, 2002).

7.2. Terapêutica pós cirúrgica

Segundo as recomendações atuais para o tratamento de OOC, o tratamento anti-helmíntico pós-cirúrgico é considerado necessário em todos os cães (Komnenou *et al.*, 2002). Sobretudo pelo facto de que a remoção completa dos parasitas nem sempre ser possível. Por outro lado algumas fases de desenvolvimento do parasita podem ficar presentes nos tecidos perioculares, podendo causar reaparecimento das lesões (Orihel *et al.*, 1991; Hermosilla *et al.*, 2005 referidos por Sréter *et al.*, 2008). Além disso, a presença de parasitas no hospedeiro possibilitará a infecção de vetores por vários meses após uma remoção cirúrgica incompleta. Portanto, os canídeos deverão sempre ser tratados com fármacos macro e micro-filaricidas (Bouchery *et al.* 2012).

O tratamento pós-cirúrgico deve iniciar-se com a administração de antibióticos sistêmicos e tópicos (por exemplo, amoxicilina-ácido clavulânico por via oral; e a aplicação tópica de neomicina-polimixina-dexametasona em pomada) e fármacos anti-inflamatórios (por exemplo, prednisolona, carprofeno) durante 9 dias, procurando reduzir a inflamação na área da lesão (Komnenou *et al.*, 2002.; Zarfoss *et al.*, 2005). Após estes 9 dias e de modo a possibilitar uma completa morte dos parasitas é necessário a administração de anti-helmínticos. É sugerido a administração de um macrofilaricida a melarsomina (Immiticide[®], Merial, Lyon, França), que deve ser administrada na dose de 2,5 mg / kg por via intramuscular (IM) uma vez por dia durante 2 dias, sendo a ivermectina, administrada na dose de 50 microgramas/kg de forma subcutânea (SC) 1 mês após o tratamento inicial (Komnenou *et al.*, 2002; Zarfoss *et al.*, 2005).

No caso dos humanos só a ivermectina possui eficácia comprovada no tratamento da oncocercose (WHOa), sendo a ivermectina a droga de escolha para o tratamento das manifestações e eliminação de microfilárias. No entanto começam a surgir várias pesquisas a questionar um possível desenvolvimento de resistência à ivermectina (Bouchery *et al.*, 2012).

7.3. Fármacos Anti-wolbachia

Recentemente, devido ao aumento das questões levantadas pela possível resistência da *Onchocerca* spp. à ivermectina, as tetraciclinas orais têm sido investigados como sendo uma possível terapia alternativa (Labelle *et al.*, 2011). Estudos recentes demonstraram que a bactéria *Wolbachia*, que vive na maioria dos *Onchocerca*

spp., é necessária para a homeostase dos seus hospedeiros (Taylor *et al.*, 2005), e estas bactérias endossimbiontes estão também presentes na *O. lupi* (Egyed *et al.*, 2002a, b; Schaffer *et al.*, 2006).

Foi provado também que alguns antibióticos têm a capacidade de eliminar estas bactérias, possuindo efeitos profundos sobre o desenvolvimento, a viabilidade e a fertilidade dos parasitas (Taylor *et al.*, 2000a; Taylor *et al.*, 2000b referidos por Taylor, 2002). Várias semanas de tratamento (28 dias no caso da doxiciclina) são necessárias para eliminar completamente a infecção bacteriana, embora, uma vez eliminada, os parasitas parecem ser incapazes de recuperar a fertilidade e viabilidade (Hoerauf *et al.* 1999 referido por Taylor, 2002). Os principais efeitos do tratamento com antibióticos são: 1) a inibição do desenvolvimento das larvas infetantes até às formas adultas, 2) inibição completa e de longa duração da embriogénese com citotoxicidade no desenvolvimento de embriões e inibição da transmissão transovárica, e 3) uma eventual perda de viabilidade, incluindo atividade adulticida (Taylor *et al.*, 2000 referido por Taylor, 2002).

Os antibióticos que possuem ação anti-*wolbachia* comprovada são as tetraciclina (doxiciclina), a azitromicina, e rifampicina (Hise *et al.*, 2003 referido por Zarfoss *et al.*, 2005). Por outro lado, estes têm-se mostrado ativos contra parasitas adultos e microfilárias, tanto *in vitro* e *in vivo* (Townson *et al.*, 2000, 2006; Trees *et al.*, 2000; Taylor *et al.* 2002 referidos por Sréter *et al.*, 2008). Um estudo recente demonstrou que múltiplos tratamentos com oxitetraciclina de longa ação eliminaram lentamente infecções de *O. ochengi* em bovinos (Langworthy *et al.*, 2000, referido por Zarfoss *et al.*, 2005). Foi também comprovada a eficácia da doxiciclina, como agente de esterilização a longo prazo, complementar à atividade microfilaricida da ivermectina (Hoerauf *et al.*, 2003 referido por Zarfoss *et al.*, 2005).

No entanto existem ainda algumas dúvidas acerca da validade das tetraciclina, pois um tratamento intermitente com oxitetraciclina (Trees *et al.*, 2000; Bandi *et al.*, 2001) foi testado em dois cães infetados com *Onchocerca* sp. sem qualquer melhoria significativa (Omonte, comunicação pessoal referido por Sréter *et al.*, 2008).

Nos humanos estudos recentes, também demonstraram que o tratamento de doxiciclina pode eliminar *Wolbachia* por longos períodos, levando ao bloqueio completo e de longa duração da embriogénese e na redução da quantidade de microfilárias da pele quando tratados com ivermectina (Taylor, 2002). Em comparação com as tetraciclina, tratamentos com a rifampicina mostraram-se mais ativos na

redução da motilidade dos parasitas, na viabilidade e na libertação das microfilárias (Taylor, 2002).

Todos estes estudos demonstraram que deve-se cada vez mais olhar para a *Wolbachia* como o alvo no controlo da oncocercose. A eliminação dos parasitas através da eliminação dos seus endossimbiontes permitirá reduzir ou eliminar as graves reações adversas da quimioterapia anti-filarial. Desta forma o controlo da *Wolbachia* possibilitará o controle clínico da infeção, reduzindo a inflamação induzida pelas bactérias induzidas, possibilitará a prevenção, quebrando o ciclo parasitário (por exemplo, reduzindo a produção de microfilárias e impedindo a sua evolução em seus vetores), e é uma maneira de eliminar parasitas já estabelecidos (efeito macrofilaricida) de maneira segura e efetiva. (Bouchery *et al.*, 2012).

No Homem a doxicilina é o primeiro fármaco utilizado em casos de oncocercose, para eliminar a *Wolbachia* (Tamarozzi *et al.*, 2011). Um estudo no Gana demonstrou que houve uma eliminação total de *Wolbachia* em mais de 90% dos casos (Hoerauf *et al.*, 2009 referido por Tamarozzi *et al.*, 2011), demonstrando assim através da informação já existente que pode ser um método eficaz de eliminação do parasita.

7.4. Plano de tratamento

O plano de tratamento pode ser ordenado segundo a tabela 35.

Tabela 35 – Plano de tratamento para a OOC (Adaptado: A. Komnenou, Novos tratamentos para a oncocercose canina. Comunicação pessoal com M. Zarfoss, 2004 referido por Zarfoss *et al.* 2005).

Dia	Ação
0	Remoção cirúrgica dos parasitas
1-9/12	Prednisolona 0,5mg/kg PO BID
1-28	Doxiciclina 5mg/kg PO BID
9	Melasormina 2,5mg/kg IM SID
10	Melasormina 2,5mg/kg IM SID
30	Ivermectina 50ug/kg SC

8. Monitorização e Prognóstico

Durante um ou vários dias após o tratamento médico é espectável uma reação edematosa e prurido, que podem ser controlados com o auxílio de anti-inflamatórios (Herd *et Donham*, 1983; Pollitt *et al.*, 1986. Komnenou *et al.*, 2002. Gionfriddo *et al.*, 2005 referidos por Sréter *et al.*, 2008). Este edema periorbital acompanhado por prurido intenso acontece normalmente até 3 dias após a administração de melarsomina e é resolvido no prazo de 7 dias (Zarfoos *et al.*, 2005).

Uma melhoria de todos os sinais clínicos só é observada após alguns dias ou semanas (Sréter *et al.*, 2008).

Porém após remissão dos sinais clínicos, todos os autores referem não ser necessário qualquer tipo de acompanhamento. Sendo que não existiram casos de recidivas em todos os cães tratados com o plano de tratamento aconselhado (tabela 35) (Komnenou *et al.*, 2002; Zarfoos *et al.*, 2005).

9. Profilaxia

Ainda não estão descritos quaisquer métodos de controlo de *O. lupi* em canídeos, no entanto reduzindo a população de vetores intermediários, diminuámos a incidência de OOC. Como referido anteriormente vários estudos revelam a presença, em Portugal, dos dois hospedeiros intermediários de *O. lupi*, o que facilita o aparecimento de casos de OOC em Portugal.

Os animais que estejam mais próximos de áreas pantanosas, áreas com águas residuais ou perto de estábulos estarão mais sujeitos ao ataque de vetores. Além dos repelentes de insetos que podem reduzir os ataques dos vetores (Sréter *et al.*, 2008), existem outros meios que poderão ser utilizados para reduzir estes ataques.

Este controlo nem sempre é uma tarefa fácil. No caso dos culicídeos isto acontece devido ao seu elevado número, uma armadilha com luz ultravioleta pode capturar mais de um milhão de insetos, no entanto estas armadilhas apenas capturam cerca de 1% dos insetos encontrados nas redondezas (Meiswinkel *et al.*, 2004 referido por Cepeda 2010). Devido aos sistemas produtivos atuais, com elevada concentração de animais, assim como o recurso frequente a rega, levam a um aumento da quantidade de culicídeos na proximidade dos animais domésticos (Meiswinkel *et al.*, 2004 referido por Cepeda, 2010)

Os métodos de controlo vetorial podem ser dirigidos quer às formas imaturas ou às formas adultas, designando-se por controlo larvar ou de adultos. Por outro lado, podem ser de três tipos quanto à natureza do meio utilizado: os métodos de gestão ambiental, os métodos químicos e os métodos biológicos (Almeida, 2011). Todos estes métodos devem ser utilizados de forma integrada com o objetivo de diminuir a densidade populacional de vetores de modo a que a sua atividade seja minimizada e a transmissão de afeções seja reduzida ou interrompida, com o mínimo de efeitos adversos para o ambiente (Almeida, 2011).

O controlo larvar é feito com recurso a métodos de gestão ambiental como a engenharia sanitária, o saneamento básico, os aterros e drenagens de pântanos (Reiter e Gubler, 1997 referidos por Almeida, 2011). Torna-se igualmente importante a proteção adequada dos reservatórios de água e a eliminação apropriada de depósitos de lixo, em que abundam os recipientes que podem coletar água das chuvas (Reitera e Gubler, 1997 referidos por Almeida, 2011). Os métodos químicos para controlo larvar incluem a utilização de inseticidas larvicidas, inibidores do desenvolvimento (hormonas juvenis) e inibidores da formação de quitina (Almeida, 2011). O controlo larvar biológico consiste no uso de predadores (inimigos naturais, peixes larvívoras) e agentes patogénicos e parasitas (vírus, bactérias, fungos, protozoários, nemátodes) (Su *et al.*, 2001; Becker e Zgomba, 2007 referidos por Almeida, 2011).

O controlo de adultos é executado com medidas de gestão ambiental como as plantações de bloqueio/proteção e a proteção das habitações com redes mosquiteiras (estas têm que ser tão finas que podem reduzir o fluxo de ar). Como métodos químicos englobamos os inseticidas aplicados no animal ou no ambiente, os sinérgicos e os repelentes (quer para uso em habitações quer para impregnação em redes mosquiteiras) (Taylor *et al.* 2007; Sharma *et al.*, 2009; Almeida, 2011).

Relativamente aos inseticidas aplicados no ambiente, inicialmente era utilizado o diclorodifeniltricloroetano (DDT) para controlo de *Simulium* spp. e *Culicoides* spp. No entanto devido a todos os problemas ambientais inerentes à sua utilização, a mesma foi proibida. Atualmente são recomendadas substâncias como temephos (Abate[®]) e os piretróides sintéticos que possuem menos riscos para o ambiente (Sata *et al.* 2004; Babalola, 2011)

A manipulação genética, técnica dos machos esterilizados e engenharia genética de insetos transgénicos, podem ser consideradas como tipos especiais de controlo biológico dirigidos aos mosquitos adultos, necessitando ainda de resolução de várias

dificuldades logísticas e científicas, antes de poderem ser considerados meios eficientes de controlo (Taylor *et al.* 2007; Tereniuset al., 2008; Rafikov *et al.*, 2009).

Nos humanos, a ivermectina é utilizada em diversos programas de controlo da *Onchocerca* sp., no entanto o seu papel tem sido cada vez mais posto em causa, devido ao facto da *O. volvulus* se ter tornado cada vez mais resistente à ivermectina. Em animais ainda não existem estudos concretos que provem isto (Cupp *et al.*, 2011).

10. Significância zoonótica

As zoonoses em humanos, causadas por infeções por filarídeos, são relativamente comuns, na Europa e no Mundo, sendo os membros do género *Dirofilaria*, os mais frequentes (Sallo *et al.*, 2005). Apesar da maior parte destes casos caracterizar-se por infeções subcutâneas, existem também casos de infeções zoonóticas oculares. Dentro destas doenças oculares veiculadas por vetores, a *O. volvulus*, o agente causal da chamada "cegueira dos rios", afeta cerca de 18 milhões de pessoas em todo o mundo (Gunn e Pitt, 2012).

Várias outras espécies de *Onchocerca*, foram já identificadas como agentes de zoonoses. Entre os 15 casos clínicos de oncocercose zoonótica relatados em todo o mundo (Sréter *et al.*, 2008; Uni *et al.*, 2010 referidos por Otranto *et al.*, 2012), as espécies identificadas foram a *Onchocerca gutturosa* (Orihel *et al.*, 1998; referido por Otranto *et al.*, 2012) e *Onchocerca cervical* (Burr *et al.*, 1998; referido por Otranto *et al.*, 2012) que afetam bovinos e equídeos respetivamente. Foram identificadas ainda a *Onchocerca jakutensis* do cervídeo europeu (Koehsler *et al.*, 2007; referido por Otranto *et al.*, 2012) e, em metade de todos os casos, a *Onchocerca dewittei japonica* do javali, reportado apenas no Japão ao longo dos últimos 20 anos (Uni *et al.*, 2010; referido por Otranto *et al.*, 2012).

No entanto, com base no conhecimento existente, só a *O. lupi*, e a *O. volvulus* podem apresentar uma localização ocular, considerando que as outras espécies são detetadas principalmente no tecido subcutâneo (Sréter *et al.*, 2008). As informações sobre zoonose ocular devido a *O. lupi* permanecem ainda muito escassas (Otranto *et al.*, 2012).

O papel da *O. lupi* como causa de zoonoses foi posto como hipótese em dois casos de oncocercose ocular humana na região da Crimeia (Sréter *et al.*, 2002, referido por Otranto *et al.*, 2011) e Albânia (Pampiglione *et al.*, 2001 referido por Otranto *et al.*,

2011). Nos dois casos mencionados, *O. lupi* foi sugerida como agente etiológico com base nas semelhanças da apresentação clínica da OOC, por exemplo, a semelhança nos tecidos-alvo, a apresentação de lesão e a área de proveniência dos doentes (Otranto *et al.*, 2011).

Sabe-se que a etiopatogenia desta infeção difere entre o homem e o cão, pois no homem são as microfilárias as causadoras da doença ocular, enquanto que nos cães são as formas adultas do parasita (Sréter *et Széll*, 2008; Neto *et al.*, 2009). Apesar desta diferença na etiopatogenia, o estudo da oncocercose que ocorre naturalmente em cães pode gerar novos conhecimentos úteis para o diagnóstico, tratamento e prevenção de *O. volvulus* e *O. lupi* no Homem (Sréter *et al.*, 2008).

Só recentemente, esta espécie foi identificada de forma inequívoca como o agente causal da infeção ocular humana em dois pacientes na Turquia e um na Tunísia com base nas características morfológicas, análises histológicas e moleculares semelhantes aos da infeção canina (Otranto *et al.*, 2012). De acordo com estes casos não há informações sobre a ocorrência da infeção em cães nessas regiões (Otranto *et al.*, 2012). Parecendo o cão ser o hospedeiro definitivo de *O. lupi* mais estudos parasitológicos devem ser realizados para estimar a distribuição real do parasita nas populações de cães.

Considerando que no género *Onchocerca* a gama de hospedeiros dos parasitas é muito restrita, o facto de *O. lupi* afetar os seres humanos e cães sugere que, se estas duas espécies compartilharem o mesmo ambiente, existe possibilidade do Homem estar em risco de infeção (Otranto *et al.*, 2012). Os resultados demonstram ainda que esta infeção zoonótica está mais difundida do que se acreditava anteriormente, sendo provavelmente confundida com outros parasitas helmintes que afetam o olho humano, como a *Dirofilaria spp.* Sendo assim, a *O. lupi* deve definitivamente ser considerada no diagnóstico etiológico diferencial de nemátodes em olhos humanos. Os caracteres morfológicos distintos das suas formas adultas femininas permitem uma identificação clara desde parasita (Otranto *et al.*, 2012).