

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA  
CAMPUS SOUSA  
CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Isabela Calixto Matias

PREVALÊNCIA DE *Dirofilaria immitis* EM CÃES DO CANIL MUNICIPAL DE SOUSA,  
SEMIÁRIDO DA PARAÍBA

SOUSA – PB  
FEVEREIRO/2019

Isabela Calixto Matias

PREVALÊNCIA DE *Dirofilaria immitis* EM CÃES DO CANIL MUNICIPAL DE SOUSA,  
SEMIÁRIDO DA PARAÍBA

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado como parte das exigências  
para a conclusão do Curso de Graduação  
de Bacharelado em Medicina Veterinária  
do Instituto Federal da Paraíba, Campus  
Sousa.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Lisanka Ângelo Maia

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Vanessa Lira de Santana

SOUSA – PB  
FEVEREIRO/2019

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação**  
Edgreyce Bezerra dos Santos – Bibliotecária CRB 15/586

M433p

Matias, Isabela Calixto.

Prevalência de *Dirofilaria immitis* em cães do canil municipal de Sousa, semiárido da Paraíba / Isabela Calixto Matias. – Sousa, PB : A Autora, 2019.

37 p.

Orientadora : Dra. Lisanka Ângelo Maia.

Coorientadora : Dra. Vanessa Lira de Santana.

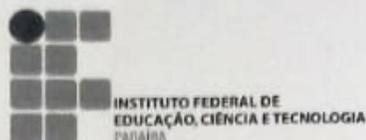
Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Medicina Veterinária do IFPB – Sousa.

– Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba.

1 Verme do coração. 2 Filariose. 3 Epidemiologia. 4 Diagnóstico. Título.

IFPB Sousa / BC

CDU – 576.89



INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA  
CAMPUS SOUSA

CURSO SUPERIOR DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: *Prevalência de Dirofilaria immitis em cães do Canil Municipal de Sousa, Semiárido da Paraíba*

Autora: Isabela Calixto Matias

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa como parte das exigências para a obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Aprovado pela Comissão Examinadora em: 28/02/2019.

*Lisanka Ângelo Maia*

Professora Doutora Lisanka Ângelo Maia  
IFPB – Campus Sousa  
Professor Orientadora

*Vanessa Lira de Santana*

Professora Doutora Vanessa Lira Santana  
IFPB – Campus Sousa  
Examinadora 1

*Vinicius Longo R. Vilela*

Professor Doutor Vinicius Longo Ribeiro Vilela  
IFPB – Campus Sousa  
Examinador 2

## DEDICATÓRIA

“Olhe no fundo dos olhos de um animal e, por um momento, troque de lugar com ele. A vida dele se tornará tão preciosa quanto a sua e você se tornará tão vulnerável quanto ele (...)”, Philip Ochoa.  
Aos cães que participaram deste trabalho.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha professora e orientadora Lisanka, por ter me guiado no curso desde o ano de 2015 e me inspirado para que eu seguisse na área encantadora da patologia animal. Tenho orgulho em dizer que fui sua aluna. Agradeço muito pela confiança. Ao professor Vinícius, pela ajuda ofertada no laboratório e nas estatísticas do projeto. Agradeço as minhas professoras Vanessa, Ana Lucélia e Roseane, profissionais incríveis por quem tenho respeito e admiração. Sou grata a todos os outros professores do IFPB que fizeram parte da minha formação. Agradeço a todas as pessoas que conheci durante a realização do estágio nos Laboratórios de Patologia Veterinária da UFPB e UFCG, que me acolheram mesmo sem conhecer e me ensinaram muito durante esse período de experiências incríveis.

Agradeço aos meus amigos de faculdade, em especial a Laynaslan, que sempre me acompanhou na patologia, compartilhando todas as dúvidas, respostas, dificuldades e conquistas nessa jornada, que agora se estende para nós dois. Aos voluntários do projeto, Aline, Samara, Verinha, Hodias, Higor, Carol e Paula, que ajudaram muito nas coletas de sangue, necropsias e leitura de lâminas, cujo, na maioria das vezes, se estendiam pelo período da noite, fins de semana e feriados. Esse projeto não seria possível sem eles.

Agradeço a Suzanna, médica veterinária do município e colaboradora do projeto, que nos deu suporte e auxiliou na realização das coletas de sangue e eutanásias dos cães, trabalho exaustivo, fisicamente e psicologicamente, que merece um maior respeito e atenção por parte do governo público da cidade. Sou grata também aos funcionários da Vigilância Sanitária que nos ajudaram durante esse período.

Agradeço à minha mãe, Jozélia, a mulher mais forte, responsável e corajosa que já conheci, capaz de enfrentar qualquer coisa e fazer de tudo pelo bem dos quatro filhos. Agradeço ao meu pai, Júnior, por ter me apoiado desde quando consegui ingressar no curso, por acreditar no meu potencial e pela grande proteção que oferece aos filhos. Às minhas avós, meu avô, tio e tias, pelo grande apoio que ofereceram.

Agradeço ao grande amor da minha vida, Phelippe, por estar comigo desde antes de tudo isso começar, me encorajando e incentivando, enfrentando todos os meus dramas e dilemas. Sou imensamente grata por cada momento que estamos vivendo, pelo companheirismo, amizade e amor que sempre prevaleceram. Obrigada por me dar forças para continuar.

Por fim, meus sinceros agradecimentos a todas outras pessoas que tornaram isso possível e contribuíram para o meu crescimento durante o curso.

**RESUMO:** O parasito *Dirofilaria immitis* é um nematódeo que afeta os sistemas circulatório, linfático e tecido subcutâneo de cães, e é transmitido por mosquitos dos gêneros *Aedes*, *Culex* e *Anopheles*. Descrito na literatura com uma maior prevalência em regiões onde há condições para a proliferação do vetor, sua ocorrência em áreas consideradas antes não endêmicas gera questionamentos. O objetivo deste trabalho foi determinar a prevalência de *D. immitis* nos cães eutanasiados do Canil Municipal de Sousa-PB, no período de abril a dezembro de 2018, mediante a pesquisa de microfíliarias e parasitas adultos, associado a dados epidemiológicos referentes aos animais e bairros de onde foram capturados. O diagnóstico foi realizado através de esfregaços de sangue periférico e venoso, teste de Knott modificado e necropsia. Foram considerados positivos, cães que apresentaram positividade em pelo menos um dos testes. De 45 cães necropsiados, 18 foram positivos, revelando prevalência de 40%. Todos os 18 cães apresentaram parasitas adultos durante a necropsia, cinco animais foram positivos no teste de Knott modificado, quatro em esfregaço de sangue venoso e apenas em um no esfregaço de sangue periférico. Os resultados foram avaliados pelo método de concordância Kappa. Os fatores de risco epidemiológicos foram avaliados pela análise univariada e multivariada, com diferença estatística em relação a idade (cães maiores de 12 meses) ( $p=0,138$ ), acúmulo de água ( $p=0,073$ ) e saneamento básico inadequado nos bairros ( $p=0,127$ ). Concluiu-se que a prevalência de *D. immitis* nos cães do Canil Municipal de Sousa foi alta e os bairros com maior número de animais positivos foram Alto do Cruzeiro e Angelim. A necropsia foi considerada o exame que mais diagnosticou a parasitose. Variáveis como a idade do animal, acúmulo de água e saneamento básico inadequado foram considerados fatores relevantes para a ocorrência dessa parasitose.

**Palavras-chave:** Verme do coração. Filariose. Epidemiologia. Diagnóstico.

**ABSTRACT:** The parasite *Dirofilaria immitis* is a nematode that affects the circulatory and lymphatic systems and subcutaneous tissues of dogs, and is transmitted by mosquitoes of the genus *Aedes*, *Culex* and *Anopheles*. Described in the literature with a higher prevalence in regions where there are conditions for vector proliferation, its occurrence in previously non-endemic areas raises questions. The objective of this study was to determine the prevalence of *D. immitis* in dogs euthanized from the Municipal Kennel of Sousa-PB, from April to December 2018, by means of microfilariae and adult parasites, associated with epidemiological data on animals and neighborhoods from where they were captured. The diagnosis was made through peripheral blood and venous smears, modified Knott's test and necropsy. Positive dogs were considered positive in at least one of the tests. Of 45 necropsied dogs, 18 were positive, revealing a prevalence of 40%. All 18 dogs had adult parasites during necropsy, five animals were positive on the modified Knott's test, four on venous blood smear and only one on the peripheral blood smear. The results were evaluated using the Kappa agreement method. Epidemiological risk factors were evaluated by univariate and multivariate analysis, with statistical difference in relation to age (dogs older than 12 months) ( $p=0.138$ ), water accumulation ( $p=0.073$ ) and inadequate basic sanitation in the neighborhoods ( $p=0.127$ ). It was concluded that the prevalence of *D. immitis* in the Canil Municipal de Sousa dogs was high and the neighborhoods with the highest number of positive animals were Alto do Cruzeiro and Angelim. Necropsy was considered the most diagnosed test for parasitosis. Variables such as the age of the animal, accumulation of water and inadequate basic sanitation were considered relevant factors for the occurrence of this parasitosis.

**Keywords:** Heartworm. Filariasis. Epidemiology. Diagnosis.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ciclo de <i>Dirofilaria immitis</i> .....	14
Figura 2 - <i>Acanthocheilonema reconditum</i> (acima) e <i>Dirofilaria immitis</i> (abaixo).....	16
Figura 3 - Realização do teste de Knott modificado.....	21
Figura 4 – Estágios adultos de <i>Dirofilaria immitis</i> coletados e mensurados durante necropsia.....	22
Figura 5 – Estágios adultos de <i>Dirofilaria immitis</i> no coração direito do cão número 08....	24
Figura 6 - Estágios adultos de <i>Dirofilaria immitis</i> no pulmão do cão número 08.....	25
Figura 7 - Microfilárias de <i>Dirofilaria immitis</i> observadas em exames sanguíneos dos cães positivos Obj. 40x.....	28
Figura 8 - Canal que recebe esgoto doméstico e que desemboca na lagoa de estabilização, localizada próxima ao bairro Angelim, Sousa, Paraíba.....	31

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Dados gerais dos cães positivos para <i>Dirofilaria immitis</i> do Canil Municipal de Sousa, incluindo bairro, raça, pelagem, sexo e idade, necropsiados no período de abril a dezembro de 2018.....	25
Tabela 2 – Estatística Kappa entre os resultados da necropsia e dos demais exames sanguíneos, segundo a classificação entre positivo e negativos dos cães do Canil Municipal de Sousa, necropsiados no período de abril a dezembro de 2018.....	29
Tabela 3 – Aspectos demográficos de bairros do município de Sousa que apresentaram cães do Canil Municipal de Sousa, positivos para <i>Dirofilaria immitis</i> , necropsiados no período de abril a dezembro de 2018.....	30
Tabela 4 – Resultado da análise estatística dos dados epidemiológicos coletados dos cães do Canil Municipal de Sousa e dos bairros onde foram capturados, entre o período de abril a dezembro de 2018.....	30

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AESA – Agência Executiva de Gestão de Águas

AHS – *American Heartworm Society*

CEUA - Comissão de Ética para o Uso de Animais

CGDT - Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis

CGLAB - Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública

CID - Coagulação intravascular disseminada

cm – Centímetros

DNA - *Deoxyribonucleic Acid*

DPP - *Dual Path Platform*

EDTA - *Ethylenediamine tetraacetic acid*

ELISA - *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

F – Fêmea

hab./km<sup>2</sup> - Habitantes por quilômetro quadrado

HD - Hospedeiro definitivo

HI - Hospedeiro intermediário

HV - Hospital Veterinário

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IFPB - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba

LACEN - Laboratório Central Estadual

LPA - Laboratório de Patologia Animal

LPV - Laboratório de Parasitologia Veterinária

LVC - Leishmaniose Visceral Canina

M – Macho

mm – Milímetros

NI – Não informado

PB - Paraíba

PCR – *Polymerase Chain Reaction*

SRD - Sem raça definida

VPN – Valor preditivo negativo

VPP – Valor preditivo positivo

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	13
	2.1 Etiopatogenia.....	13
	2.2 Ciclo biológico.....	13
	2.3 Sinais clínicos.....	14
	2.4 Diagnóstico.....	15
	2.5 Diferencial.....	16
	2.6 Tratamento.....	16
	2.7 Epidemiologia.....	17
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	19
	3.1. Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).....	19
	3.2. Descrição do local de estudo.....	19
	3.3. Seleção dos animais e coleta de dados epidemiológicos.....	19
	3.4. Coleta de sangue e confecção de lâminas de esfregaços sanguíneos.....	20
	3.5. Pesquisa e diferenciação de microfilárias de <i>D. immitis</i> e <i>A. reconditum</i> .....	21
	3.6. Necropsia dos animais.....	22
	3.7. Análise dos dados.....	22
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	24
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	33
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	34

## 1 INTRODUÇÃO

A ocorrência de endoparasitoses transmitidas por artrópodes hematófagos nos cães tem chamado atenção pelo aumento do número de casos descritos na literatura e observados na rotina clínica. *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) é um exemplo de nematódeo transmitido por mosquitos (*Aedes* spp., *Culex* spp. e *Anopheles* spp.), que possui o cão como hospedeiro definitivo, e pode causar uma doença zoonótica chamada dirofilariose ou filariose canina (VIDAL, 2014).

Difundida mundialmente, encontram-se índices de ocorrências de *D. immitis* em várias regiões do Brasil, dentre elas a região Nordeste, mais especificamente em regiões costeiras, onde há uma maior prevalência em que as condições edafoclimáticas favorecem o desenvolvimento e a proliferação dos vetores (LABARTHE, 2014).

No Brasil, estudos sobre a prevalência foram realizados em canil municipal de Santa Catarina (LIRA et al., 2012) e do Paraná (LEITE et al., 2007), além de levantamento de casos em bairros do Rio de Janeiro (DA SILVA & DE SOUZA ABBOUD, 2017). Na Região Nordeste, pesquisas foram realizadas em Salvador e Lauro de Freitas, na Bahia, onde 10,4% (64/613) dos cães avaliados apresentavam microfilárias circulantes (ALMEIDA et al., 2001); em Maceió com 1,3% (15/1097) dos cães positivos (BRITO et al., 2001); e na Paraíba, nos municípios de João Pessoa, Conde e Cabedelo, com prevalência de 0,33% (1/301) de cães positivos (VIDAL, 2014).

Na região semiárida da Paraíba, em estudo retrospectivo realizado no Laboratório de Patologia Animal da Universidade Federal de Campina Grande, cidade de Patos, no período de 2003 a 2012, foram encontrados dois casos de *D. immitis* (parasita adulto) como achado de necropsia em cães (ALMEIDA, 2014). Recentemente, *D. immitis* também foi identificado no ventrículo direito do coração de um cão no município de Sousa (MATIAS et al., 2016).

No Laboratório de Patologia Animal (LPA) do Hospital Veterinário do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba (HV-IFPB), campus Sousa, chamou-se atenção que entre os anos de 2016 e 2017, de 35 cães recebidos para realização de necropsia, a maioria proveniente do Canil Municipal de Sousa, 16 animais apresentaram parasita com morfologia compatível com larvas adultas de *D. immitis*. Desses 16 cães, sete apresentavam concomitantemente Leishmaniose (dados do LPA não publicados).

A ocorrência de um número considerável de *D. immitis* como achados de necropsia diagnosticados em cães provenientes do Canil Municipal de Sousa em um curto intervalo de tempo, e a carência de informações sobre a situação desse parasito no município, associada à

sua importância patogênica, despertou a necessidade de estudar sobre a parasitose. Portanto, o objetivo desse trabalho foi estudar a prevalência dessa parasitose em cães do Canil Municipal de Sousa, mediante a pesquisa de microfilárias e parasitas adultos.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Etiopatogenia

Os nematódeos do gênero *Dirofilaria* pertencem a superfamília Filariidae e subfamília Dirofilarinae, sendo a espécie *Dirofilaria immitis* a de maior importância na medicina veterinária (BOWMAN et al., 2006; SILVA & LANGONI, 2008). Esse é um parasita do sistema circulatório (coração e grandes vasos), linfático e tecido subcutâneo, conhecido como verme do coração, o qual causa uma doença crônica em cães (filariose canina ou doença do verme cardíaco) (ACHA & SZYFRES, 2003).

Além do cão, o parasita pode ser encontrado em canídeos silvestres e menos frequentemente em gatos. O homem também pode ser infectado, onde os vermes adultos causam nódulos granulomatosos nos pulmões que são frequentemente confundidos por neoplasias, contribuindo para a negligência da doença (SILVA & LANGONI, 2008).

Os parasitas adultos possuem predileção pela artéria pulmonar dos cães, considerados hospedeiros definitivos, chegando a medir 12 a 30cm de comprimento, sendo as fêmeas maiores e com extremidade caudal arredondada. Os machos possuem um menor comprimento e apresentam extremidade final da cauda espiralada. A presença de ambos os sexos do parasita irá promover a reprodução sexuada, onde a fêmea liberará microfílias no sangue após 6 a 7 meses desde a infecção (ALMEIDA, 2010; ROCHA, 2007).

### 2.2 Ciclo biológico

Os hospedeiros intermediários (HI) são principalmente mosquitos dos gêneros *Aedes*, *Culex* e *Anopheles*, que ingerem as microfílias de primeiro estágio (L1) junto com o sangue durante o repasto em um cão microfilarêmico. As larvas migram até os túbulos de Malpighi do vetor, onde ocorre a muda para o segundo (L2) e terceiro estágio (L3), considerado infectante. Durante a realização de novo repasto sanguíneo, a L3 migra pela proboscíde do mosquito, se aloja na pele do cão e penetra na pele (CRUZ, 2007).

As filárias permanecem no tecido subcutâneo, onde ocorrerá a muda para quarto (L4) e quinto estágio (L5), até alcançarem 5cm de comprimento, quando são transportadas pelas veias até o coração para finalizar o ciclo na fase adulta (Figura 1). O período pré-patente da doença é de 6 a 8 meses (BRITO et al., 2001).

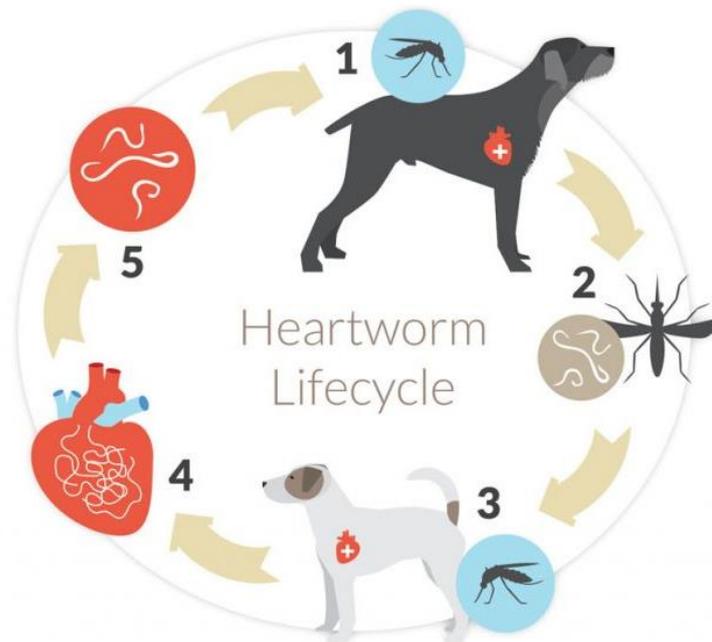


Figura 1 - Ciclo de *Dirofilaria immitis*. 1: HI ingere microfilárias durante repasto sanguíneo em cão microfilarêmico; 2: Microfilárias se desenvolvem até L3 no HI; 3: L3 presente no HI infecta o cão durante o repasto sanguíneo; 4: Ocorre muda para L4 no subcutâneo e migração para o sistema circulatório até os vasos pulmonares como L5; 5: Ocorre reprodução sexual e liberação de microfilárias para a circulação.

Fonte: vetmed.tamu.edu

### 2.3 Sinais clínicos

A dirofilariose (filariose canina) ocorre em animais intensamente parasitados, onde os vermes adultos alojam-se no ventrículo direito e vasos pulmonares, gerando manifestações clínicas como tosse, dispneia, intolerância a exercício e apatia, que podem ser atribuídas a outras patologias de etiologia cardíaca, dificultando assim o seu diagnóstico. Animais que apresentam carga parasitária baixa são assintomáticos, servindo apenas como fonte de infecção (VIDAL, 2014).

Nos cães que apresentam uma grande quantidade de parasitas alojados no coração e vasos, é possível a ocorrência da síndrome da veia cava, devido a uma migração retrógrada dos parasitas das artérias pulmonares para átrio e ventrículo direito, atingindo a veia cava, interrompendo, então, o funcionamento normal da válvula tricúspide (CRUZ, 2017; AHS, 2014).

Os sinais clínicos e achados laboratoriais atribuídos a síndrome são taquicardia, taquipneia, ascite, pulso jugular positivo, anemia, hemoglobinúria, disfunção renal e hepática, e coagulação intravascular disseminada (CID) (LEITE et al., 2006).

## 2.4 Diagnóstico

Para a realização do diagnóstico, além da observação dos sinais clínicos apresentados pelo animal, é importante a solicitação de exames para que se detecte a infecção. O esfregaço sanguíneo é um método de triagem que pode ser realizado durante a rotina clínica para a visualização de microfilárias no sangue (MORENO, 2015; SILVA & LANGONI, 2008). Entretanto, como o volume sanguíneo utilizado neste exame é considerado pequeno e a quantidade de microfilárias circulantes pode ser baixa, podem ocorrer resultados falsos-negativos.

O esfregaço de sangue periférico, preferencialmente de ponta de orelha ou cauda, é um método considerado um pouco mais sensível quando comparado ao esfregaço de sangue venoso, pois acredita-se que as microfilárias tendem a se concentrar nos capilares periféricos (MORENO, 2015).

Os métodos de concentração de microfilárias são mais precisos e indicados para realização do diagnóstico. Entre eles, o teste de Knott modificado é o preferível pela pouca utilização de materiais, além de ser padronizado e de rápida execução (BOWMAN et al., 2006). Para a detecção de antígenos da fêmea adulta, podem ser empregados o *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) e testes imunocromatográficos, além da realização da *Polymerase Chain Reaction* (PCR) (GENCHI et al., 2007).

Em animais que vieram a óbito e não foi possível o diagnóstico quando em vida, a realização da necropsia se torna essencial, onde é possível a visualização dos vermes adultos em ventrículo direito do coração e em vasos e brônquios pulmonares, diagnosticando infecções ocultas pelo parasita, quando o animal não apresenta nenhuma sintomatologia (ALMEIDA, 2010; ALMEIDA, 2014).

A ocorrência da infecção oculta é considerada comum e pode acontecer em casos em que o animal libera mecanismos imunomediados para a destruição de microfilárias que ainda estão no período pré-patente; quando os vermes ainda são imaturos para reprodução sexuada ou não há a presença de ambos os sexos; ou houve tratamento com fármacos microfilaricidas sem conhecimento do médico veterinário (LEITE et al., 2006).

## 2.5 Diferencial

Outras espécies de filarídeos, como *Dirofilaria reppens* e *Acanthocheilonema* (syn. *Dipetalonema*) *reconditum*, devem ser incluídas como diagnóstico diferencial ao se detectar microfílarias em canídeos. *D. reppens* acomete tecido subcutâneo e olho desses animais, mas sua ocorrência é predominante nos continentes Europeu, Africano e Asiático (SILVA & LANGONI, 2008).

No Brasil, considera-se de maior importância a diferenciação morfológica entre *D. immitis* e *A. reconditum*, considerando o fato de que esta última não causa complicações, sendo não patogênica, enquanto *D. immitis* causa uma doença cardíaca grave e às vezes fatal (ROCHA, 2006).

É possível analisar a morfologia das microfílarias através de testes de concentração, como o teste de Knott modificado, onde são características marcantes da *D. immitis* um maior calibre e comprimento, além da cauda retilínea. Já *A. reconditum* possuem um menor calibre e comprimento, apresentando cauda em gancho e acúleo cefálico (Figura 2) (JONES et al., 2000). Para a diferenciação também pode-se utilizar exames de marcação histoquímica para fosfatase ácida, PCR e testes imunológicos (ROCHA, 2006; BRITO et al., 2001).



Figura 2 - *Acanthocheilonema reconditum* (acima) e *Dirofilaria immitis* (abaixo).

Fonte: veteriankey.com

## 2.6 Tratamento

O tratamento da dirofilariose deve ser realizado com cautela pelo médico veterinário, e os fármacos e doses administradas irão depender da carga parasitária e estado geral do paciente

(ETTINGER & FELDMAN, 2004). A utilização de adulticidas e microfilaricidas às vezes se torna perigosa em cães devido a ocorrência de tromboembolismo e choque anafilático, acarretando na morte do animal. Em casos mais graves, é indicada abordagem cirúrgica para a retirada dos parasitas (MEIRELES et al., 2014).

Devido a complicações na terapia instituída nos cães e o caráter zoonótico em humanos, recomenda-se então que o foco maior esteja na prevenção da infecção, principalmente quando se há o deslocamento de cães para regiões endêmicas que apresentem um alto número de animais infectados sem apresentação de sinais clínicos e casos relatados em humanos (SILVA & LANGONI, 2008).

## 2.7 Epidemiologia

O primeiro relato de infecção por *D. immitis* em um cão na América do Sul foi descrito no estado da Bahia, Brasil, no ano de 1878 por Silva Araújo (PINTO, 1944). Desde então, o Brasil detém um maior número de estudos sobre a prevalência do parasita quando comparado aos outros países do continente (BENDAS et al., 2017).

Em Cuiabá, estado de Mato Grosso na região Centro-Oeste brasileira, foi realizada uma pesquisa de nematódeos em 100 cães eutanasiados entre os anos de 2007 e 2008 pelo Centro de Controle de Zoonoses da cidade. Em apenas um animal (1%) foi evidenciada a presença de vermes adultos de *D. immitis* alojados no coração durante a necropsia (RAMOS et al., 2015).

No estado do Amazonas, região Norte do Brasil, durante a realização de um estudo no ano de 2009 na cidade de Lábrea (SOARES et al., 2014), visando a identificação dos principais endoparasitas transmitidos por carrapatos, avaliou-se amostras de sangue coletadas de 99 cães através de PCR e, acidentalmente, detectou-se sequências de DNA (*Deoxyribonucleic Acid*) de *Anaplasmataceae* idênticas a de *Wolbachia*, bactéria endossimbiótica de *D. immitis*. Diante deste achado, todas as amostras foram testadas para *D. immitis*, resultando em um total de 44 cães (44,4%) positivos, uma das maiores prevalências descritas na América do Sul.

Em um estudo realizado entre os anos de 2013 e 2014, foram coletados sangue de 1531 cães dos estados de Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Bahia e Pernambuco, para realização de teste imunocromatográfico, onde 354 (23,1%) das amostras foram positivas para o antígeno de *D. immitis*, sendo 64 na região Sul, 160 na região Sudeste e 130 na região Nordeste (LABARTHE et al., 2014).

Mais recentemente, no ano de 2016 na cidade de Recife, foram realizados exames microscópicos (teste de Knott modificado e exame em fragmento de pele) e molecular, em 104 cães para detecção de microfilárias presentes em sangue e amostra de pele (RAMOS et al.,

2016). Microfilárias de *D. immitis* foram detectadas em 12 animais (11,54%), e em 4 (3,85%) observou-se uma coinfeção entre *D. immitis* e *A. recotidium*. A cidade foi considerada endêmica para o parasita, pois apresenta condições favoráveis para a proliferação dos vetores.

Uma pesquisa realizada nas cidades de João Pessoa, Conde e Cabedelo, na Paraíba, revelou uma porcentagem de apenas 0,33% (1/301) de cães positivos para microfilárias circulantes e antígeno para o verme adulto, diagnosticados através dos testes de Knott modificado e ELISA, respectivamente (VIDAL, 2014). Apesar de serem consideradas cidades litorâneas, o estudo demonstrou uma prevalência baixa para parasitose.

Resultados obtidos de estudos englobando fatores intrínsecos como idade, sexo e raças; e fatores de riscos associados à dirofilariose, concluíram que, entre a faixa etária de seis meses a 14 anos dos cães estudados, a infecção por *D. immitis* foi maior nos cães de idade entre seis a dez anos. Não foi observado predisposição para o parasitismo com relação ao sexo, raça, comprimento e coloração dos pelos dos animais (ALMEIDA et al., 2001).

Nesse mesmo estudo, observou-se que em relação a suscetibilidade dos cães à dirofilariose, os fatores extrínsecos como o ambiente e manejo dos animais, o tempo de permanência na área enzoótica da doença e o tipo de atividade que realiza, possibilitando uma maior exposição ao mosquito vetor; parecem ter maior importância dos que os fatores intrínsecos (ALMEIDA et al., 2001).

Apesar de *D. immitis* ser considerada pela literatura como um nematódeo prevalente em regiões litorâneas, sua ocorrência em regiões semiáridas desperta a necessidade de estudos que caracterizem os fatores epidemiológicos que favorecem a ocorrência dessa parasitose em cães na região, com o intuito de determinar parâmetros que possam estabelecer a profilaxia da doença e reduzir os riscos da transmissão para animais, como também para humanos.

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)**

O referido estudo foi submetido a CEUA do IFPB, campus Sousa, para o uso de animais em atividade de ensino, pesquisa e extensão, e aprovado sob cadastro nº 01.0462.2017, com vigência autorizada do experimento do mês de abril a dezembro de 2018.

#### **3.2 Descrição do local de estudo**

O município de Sousa está localizado no interior do estado da Paraíba, Brasil, e apresenta área territorial de 738,547 km<sup>2</sup>, com latitude 06°45'33" sul e longitude 38°13'41" oeste (IBGE, 2017). Possui uma população de 65.803 habitantes, com densidade demográfica de 89,10hab./km<sup>2</sup>, sendo a maioria proveniente de zona urbana (IBGE, 2010).

O clima é considerado tropical semiárido, com precipitação máxima de chuvas de 650,6mm no ano de 2018 (AESAs, 2018) e vegetação predominantemente composta por caatinga hiperxerófila e trechos de floresta caducifólia (MASCARENHAS et al., 2005).

O estudo foi realizado no Canil Municipal de Sousa, que está localizado no bairro Angelim, e possui infraestrutura para abrigar 100 cães. Possui ainda laboratório, sala de procedimentos, recepção, e baias contendo área sombreada, comedouros e bebedouros.

#### **3.3 Seleção dos animais e coleta de dados epidemiológicos**

O Canil Municipal de Sousa atualmente recebe solicitações para realização de testes de diagnóstico de leishmaniose em cães domiciliados e errantes, ou para captura de cães muito debilitados devido a outras patologias. A coleta de sangue para esses testes e a captura dos animais foi realizada pelo Departamento de Vigilância em Saúde do município, que atualmente tem priorizado o controle de casos de leishmaniose visceral canina.

Após a captura e encaminhamento para o canil, foi procedida a coleta de sangue para realização do teste rápido imunocromatográfico DPP – LVC® (*Dual Path Platform – Leishmaniose Visceral Canina*), considerado atualmente o método de triagem recomendado pelo Ministério da Saúde para diagnóstico de Leishmaniose (BRASIL, 2014). Os animais negativos para Leishmaniose eram separados dos demais para posterior realização do controle parasitário e castração, visando a adoção responsável por parte da população. Os animais positivos no teste rápido tiveram sua amostra de sangue centrifugada, e o soro enviado ao Laboratório Central Estadual (LACEN) na cidade de João Pessoa – PB, para realização de ELISA, considerado teste confirmatório pela norma técnica conjunta número 01 do ano de 2011

desenvolvida pela Coordenação Geral de Doenças Transmissíveis e Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública (CGDT/CGLAB) (BRASIL, 2011).

Seguindo o protocolo da Vigilância em Saúde do município, os cães sorologicamente positivos para leishmaniose e os que estão em estado terminal, muito debilitados e sem resposta terapêutica são eutanasiados. A eutanásia dos animais foi realizada pela médica veterinária responsável pelo canil, com o uso de propofol e cloreto de potássio, seguindo os preceitos éticos de bem-estar animal sobre métodos de eutanásia, como descrito no Guia Brasileiro de Boas Práticas em Eutanásia em Animais - Conceitos e Procedimentos Recomendados (2013). Após a eutanásia, os cadáveres foram identificados, acondicionados em sacolas plásticas e caixas, e encaminhados para o LPA-HV/IFPB, para realização da necropsia.

Foram inclusos no projeto 45 cães, sendo 29 machos e 16 fêmeas, com faixa etária maior que 6 meses de idade, eutanasiados no período de abril a dezembro de 2018. Entre as raças, em ordem decrescente, predominaram os sem raça definida (SRD) (36), poodle (4), pinscher (3), rotwailer (1) e pastor alemão (1). A pelagem variou de tamanho (curta, média e longa) e coloração (clara ou escura).

Os animais foram provenientes dos bairros Alto do Cruzeiro (13), Projeto Mariz (4), Angelim (4), Augusto Braga (3), Sousa I (3), Jardim Brasília (2), Jardim Sorrilândia II (1), Jardim Sorrilândia III (1), Jardim Iracema (1), Jardim Santana (1), Estação (1), Bancários (1), André Gadelha (1), São Gonçalo (1) e de bairros que não puderam ser identificados (7). Os aspectos demográficos como acúmulo de água, vegetação e saneamento básico dos bairros foram analisados.

### **3.4 Coleta de sangue e confecção de lâminas de esfregaços sanguíneos**

Antes da eutanásia foi realizada a contenção mecânica dos animais e coletados 3 a 5 ml de sangue da veia cefálica. Após a coleta, o sangue foi transferido para tubos estéreis previamente identificados contendo anticoagulante EDTA (*Ethylenediamine tetraacetic acid*), acondicionados e encaminhados para o Laboratório de Parasitologia Veterinária (LPV) do HV – IFPB, para realização do teste de Knott modificado e esfregaço de sangue venoso.

Foi realizado também esfregaço de sangue periférico obtido da ponta da orelha. As lâminas de esfregaços sanguíneos foram fixadas e coradas através de Panótico Rápido®, acondicionadas em caixas próprias e encaminhadas para o LPV para visualização microscópica.

### 3.5 Pesquisa e diferenciação de microfilárias de *D. immitis* e *A. reconditum*

Para a pesquisa de microfilárias foram realizados três métodos: esfregação de sangue periférico coletado da ponta da orelha, esfregação de sangue venoso coletado da veia cefálica e teste de Knott modificado. Foram confeccionadas duas lâminas para cada técnica. As lâminas de ambos os esfregaços sanguíneos foram observadas em microscópio óptico em busca de estruturas vermiformes coradas basofilicamente.

Para a realização do teste de Knott modificado (BOWMAN et al., 2006), foi utilizado o sangue com EDTA coletado da veia cefálica. O método consistiu em misturar 1 ml de sangue com 10 ml de formol a 2% em um tubo Falcon, homogeneizando por inversão e agitação para que ocorra a lise dos eritrócitos e conservação das microfilárias em formato distendido. O tubo com a amostra foi então centrifugado à 1500 rpm por 5 minutos. Após a centrifugação, foi desprezado o sobrenadante e colocado uma gota de azul de metileno a 0,1% na parte decantada. Em seguida parte do sedimento foi coletado com uma micropipeta, colocado em uma lâmina e recoberto com lamínula para visualização em microscópio óptico em busca de microfilárias distendidas coradas de azul (Figura 3).

Em ambos os três testes, a visualização de apenas uma microfilária já classificou o animal como positivo. Quando positivo, realizou-se a diferenciação das microfilárias encontradas entre *D. immitis* e *A. reconditum* durante a leitura de lâminas do teste de Knott modificado, de acordo como descrito por Jones et al. (2000).

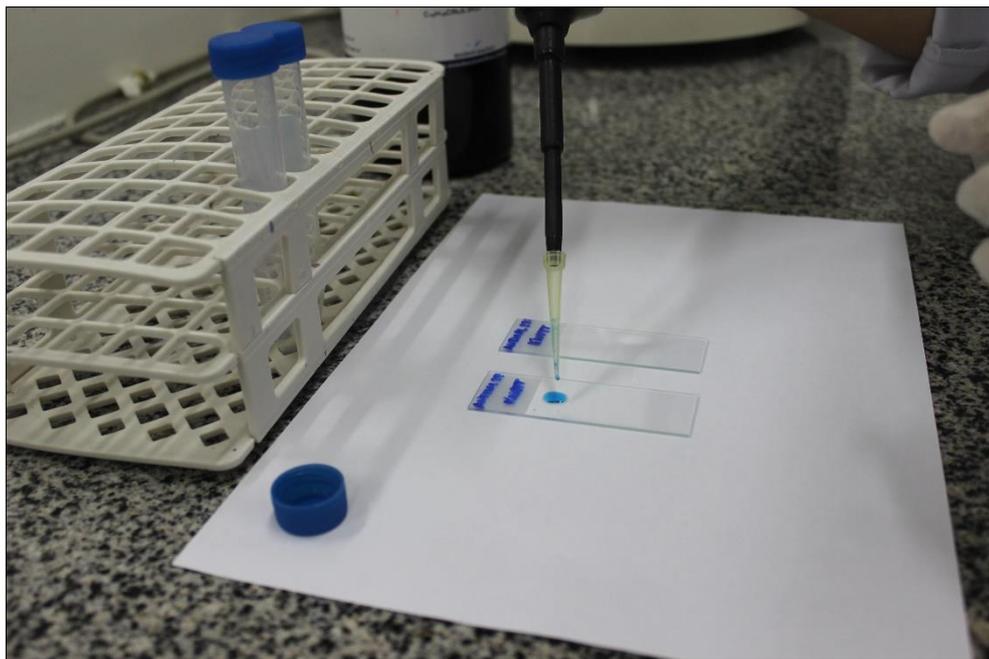


Figura 3 – Realização do teste de Knott modificado.

Fonte: Laboratório de Parasitologia Veterinária – HV/IFPB.

### 3.6 Necropsia dos animais

Durante as necropsias, foi realizada a pesquisa de parasitas adultos no ventrículo direito do coração e artérias e brônquios pulmonares. Os mesmos foram coletados (Figura 4) e fixados em formol a 10%, e encaminhados para o Laboratório de Parasitologia Veterinária para contagem e identificação da espécie.



Figura 4 - Estágios adultos de *Dirofilaria immitis* coletados e mensurados durante necropsia.

Fonte: Laboratório de Patologia Animal – HV/IFPB.

### 3.7 Análise dos dados

Foram considerados infectados com *D. immitis* cães que foram positivos em qualquer um dos testes descritos na metodologia.

Para avaliação dos testes de diagnóstico foi levado em consideração a necropsia como padrão ouro. A partir do cruzamento dos resultados foi possível calcular os valores de sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN). Além disso, para verificar a concordância entre a necropsia e a pesquisa de microfilárias nos testes de Knott modificado e esfregaços de sangue venoso e periférico, foi realizado o teste de Kappa ( $p \leq 0,05$ ). As análises de dados foram realizadas utilizando o software SPSS 23.0 for Windows.

Para esta análise, adotou-se a classificação descrita por Landis & Koch (1977), onde Kappa < 0 = sem concordância, Kappa entre 0 e 0,19 = concordância pobre, Kappa entre 0,20 e 0,39 = concordância baixa, Kappa entre 0,40 e 0,59 = concordância moderada; Kappa entre 0,60 e 0,79 = concordância substancial e Kappa entre 0,80 e 1,00 = concordância quase perfeita.

Em seguida, realizou-se uma análise para verificação de uma possível associação entre os dados epidemiológicos dos animais e bairros (variável independente) e o resultado da necropsia (variável dependente). A análise foi realizada em dois etapas, inicialmente foi feita uma análise exploratória univariada a fim de selecionar variáveis que apresentassem  $p \leq 0,2$  utilizando o teste de qui-quadrado ou exato de Fisher.

Na segunda etapa as variáveis que foram selecionadas foram submetidas a uma análise multivariada através da regressão logística múltipla ao nível de significância de 5% (HOSMER & LEMESHOW, 2000). O ajuste do modelo final foi feito através do coeficiente de Hosmer e Lemeshow onde para que houvesse um bom ajuste o valor de  $p \geq 0,05$ . A colinearidade das variáveis independentes foi realizada pela análise de correlação, as quais se apresentassem coeficiente de correlação  $< 0,9$  uma das variáveis seria eliminada de acordo com a plausibilidade biológica (DOHOO et al., 1997).

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A prevalência de *D. immitis* em cães do Canil Municipal de Sousa foi de 40%. Dos 45 cães estudados, 18 apresentaram formas adultas de *D. immitis* encontradas durante a necropsia em átrio e ventrículo direitos (Figura 5), artérias pulmonares e no lúmen de brônquios (Figura 6). A quantidade estimada de vermes adultos variou entre 1 a 112 exemplares.

Não houveram cães positivos simultaneamente para *D. immitis* em todos os testes realizados. Todas as microfilárias foram avaliadas morfológicamente, não havendo positivos para *A. reconditum*.

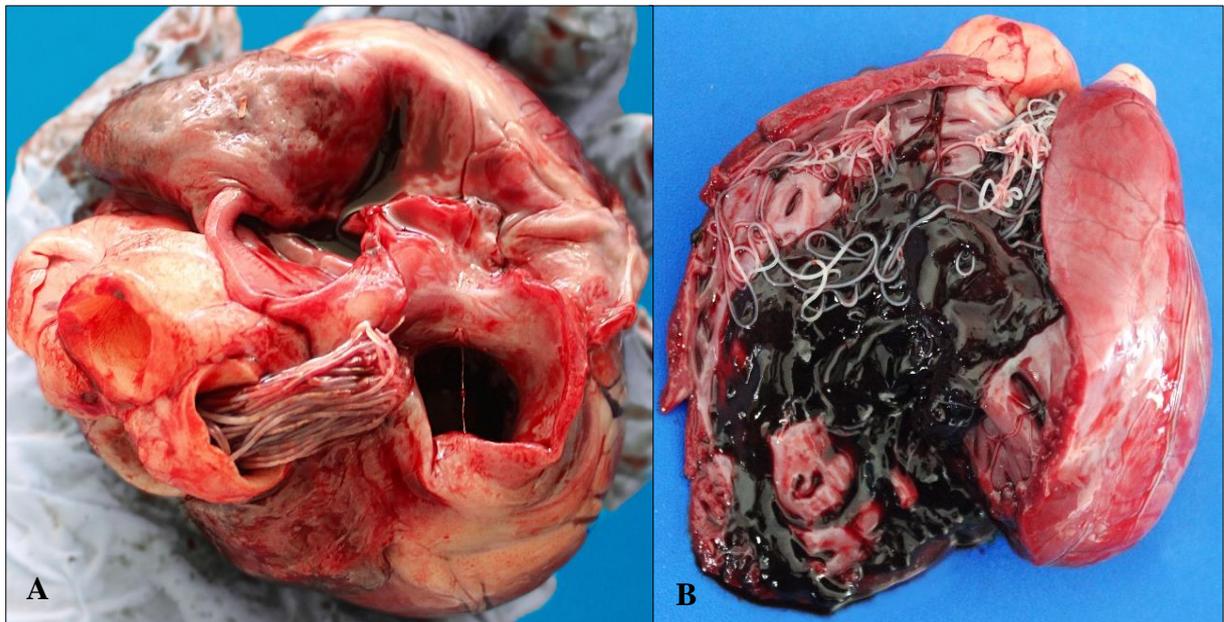


Figura 5 – Estágios adultos de *Dirofilaria immitis* no coração direito do cão número 08. A: Ao corte dos vasos da base do coração, observou-se vermes adultos emaranhados na artéria pulmonar; B: A abertura das câmaras direitas, observou-se vermes adultos e coágulo cruóricos.

Fonte: Laboratório de Patologia Animal – HV/IFPB.

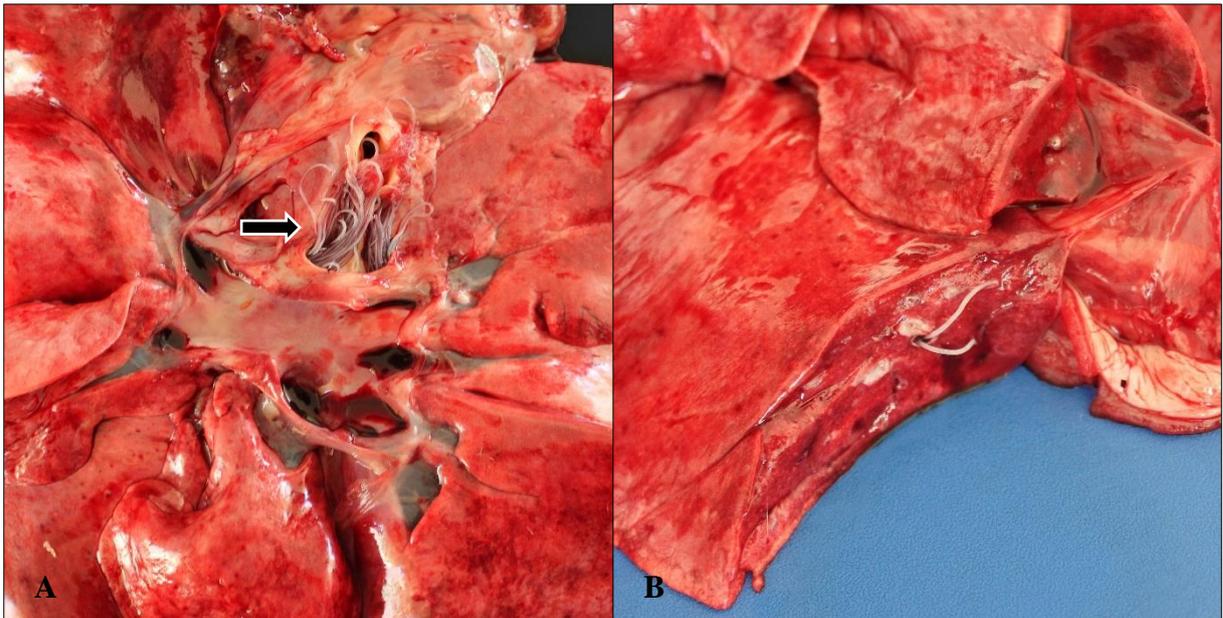


Figura 6 – Estágios adultos de *Dirofilaria immitis* no pulmão do cão número 08. A: Estágios adultos do parasita no lúmen da artéria pulmonar (seta); B: Ao corte, observou-se estágios adultos do parasita no lúmen de brônquios.

Fonte: Laboratório de Patologia Animal – HV/IFPB.

Dos 18 cães positivos, 83,33% (15/18) eram SRD, 5,55% (1/18) poodle, 5,55% (1/18) pinscher e 5,55% (1/18) rotwailer. A quantidade de machos positivos (11/18) foi superior às fêmeas (7/18). Os animais afetados apresentavam idade superior a um ano e pelagem predominantemente curta e escura (12/18). Todos os dados sobre o animal e resultado dos testes estão descritos resumidamente na tabela 1.

Tabela 1 - Dados gerais dos cães positivos para *Dirofilaria immitis* do Canil Municipal de Sousa, incluindo bairro, raça, pelagem, sexo e idade, necropsiados no período de abril a dezembro de 2018.

Cão	Bairro	Raça	Pelagem	Sexo	Idade	Esp.	Esv.	Kn.	Necrop./n° dirof.
01	Augusto Braga	SRD	Curta Escura	M	4 anos	-	-	-	4 adultos
02	Sorvilândia II	SRD	Média Escura	F	2 anos	-	-	-	3 adultos

*Continua*

Tabela 1 - Dados gerais dos cães positivos para *Dirofilaria immitis* do Canil Municipal de Sousa, incluindo bairro, raça, pelagem, sexo e idade, necropsiados no período de abril a dezembro de 2018 (continuação).

Cão	Bairro	Raça	Pelagem	Sexo	Idade	Esp.	Esv.	Kn.	Necrop./nº dirof.
03	Alto do Cruzeiro	SRD	Curta Escura	F	4 anos	-	-	-	1 adulto
04	Alto do Cruzeiro	SRD	Longa Escura	M	4 anos	-	-	-	1 adulto
05	Alto do Cruzeiro	SRD	Curta Escura	M	2 anos	-	+	+	2 adultos
06	Alto do Cruzeiro	SRD	Curta Escura	M	3 anos	-	-	-	4 adultos
07	Projeto Mariz	SRD	Curta Escura	M	2 anos	-	+	+	8 adultos
08	Projeto Mariz	SRD	Curta Escura	M	2 anos	-	-	-	112 adultos
09	Angelim	SRD	Curta Escura	M	> 1 ano	-	-	+	4 adultos
10	NI	Poodle	Média Clara	F	> 1 ano	+	-	+	1 adulto
11	Angelim	Pinscher	Curta Escura	M	> 1 ano	-	-	-	1 adulto
12	Alto do Cruzeiro	SRD	Curta Escura	F	5 anos	-	-	-	26 adultos
13	André Gadelha	Rotwailer	Curta Escura	M	3 anos	-	-	-	20 adultos
14	Alto do Cruzeiro	SRD	Curta Escura	M	4 anos	-	-	-	2 adultos
15	Jardim Santana	SRD	Curta Clara	M	> 1 ano	-	+	-	4 adultos
16	NI	SRD	Curta Clara	F	> 1 ano	-	+	+	28 adultos
17	NI	SRD	Curta Escura	F	> 1 ano	-	-	-	1 adulto
18	Angelim	SRD	Curta Clara	F	> 1 ano	-	-	-	1 adulto

Esp. - Esfregaço de sangue periférico; Esv. - Esfregaço de sangue de venoso; Kn – Teste de Knott modificado; Necrop./nº dirof. – Necropsia e número de dirofilarias encontradas; SRD – Sem raça definida; NI – Não informado.

Entre os 18 animais que apresentaram parasitas adultos, em apenas seis foram observadas microfilárias nos exames de sangue, demonstrando que nesse trabalho a infecção oculta pelo parasita ocorreu de forma predominante (Figura 7). Acredita-se que, nos animais que apresentaram um adulto do parasita, a não detecção de microfilárias pode estar atribuída a presença de apenas um dos sexos no ventrículo direito, impossibilitando a reprodução sexuada e eliminação das larvas de primeiro estágio na corrente sanguínea. Almeida (2010) acredita que o tempo de infecção também pode ser um fator relevante, considerando que mesmo com dois ou mais parasitas adultos ainda não é possível a observação de microfilárias, pois somente 6 a 7 meses após a infecção pela L3 os adultos estão sexualmente maduros para liberação da L1.

Não houveram cães negativos no exame de necropsia que foram positivos nos outros testes. Destaca-se a ocorrência de casos com grande número de estágios adultos do parasito encontrados durante a necropsia no ventrículo direito e artérias e brônquios pulmonares, entretanto, alguns desses animais foram negativos para a pesquisa de microfilárias nos outros exames realizados. Supõe-se que, nestes casos, que houve o uso de lactonas macrocíclicas por parte dos tutores dos animais visando a vermifugação para outras parasitoses, ocasionado a morte não intencional das microfilárias (MEIRELES et al., 2014). Além disso, esse fato confirma mais uma vez que os métodos de esfregaço sanguíneo e concentração não possuem uma sensibilidade confiável para confirmar verdadeiramente negativos.

Entre os animais positivos na necropsia, um foi positivo somente no teste de Knott e negativo nos esfregaços sanguíneos. Em dois cães houveram divergências no padrão dos resultados em relação aos outros animais, apresentando microfilárias apenas no esfregaço de sangue periférico e de sangue de veia cefálica, cada um. Acredita-se que essa diferença se deve a um possível erro na técnica de concentração elaborada, ou a amostra sanguínea utilizada para a realização do exame não havia microfilárias suficientes para detecção.

A maioria dos animais positivos apresentavam pelo curto (15/18), e apenas dois possuíam pelo médio e um pelo longo. É notável que esses animais estão mais expostos aos vetores por não apresentarem uma camada de pelo excessiva protegendo a pele, mas deve-se levar em consideração que dos 45 cães estudados, 33 apresentavam pelo curto, compondo a grande maioria das amostras.

A causa da eutanásia dos 18 cães positivos para *D. immitis* foi predominantemente devido a leishmaniose visceral canina, com um total de 13 casos reagentes positivamente através de ELISA. A baixa de imunidade consequente a leishmaniose pode ter favorecido a instalação e rápida reprodução do nematódeo nesses animais, explicando a alta carga parasitária encontrada em alguns dos cães. A concomitância de animais positivos para leishmaniose e *D. immitis* deve

chamar a atenção dos órgãos públicos de saúde da cidade para que estabeleçam medidas de controle e prevenção, considerando que as duas doenças são zoonoses e talvez estejam sendo subdiagnosticadas também em humanos. A eliminação dos vetores é a principal forma de se controlar a ocorrência das doenças, diminuindo o número de casos.

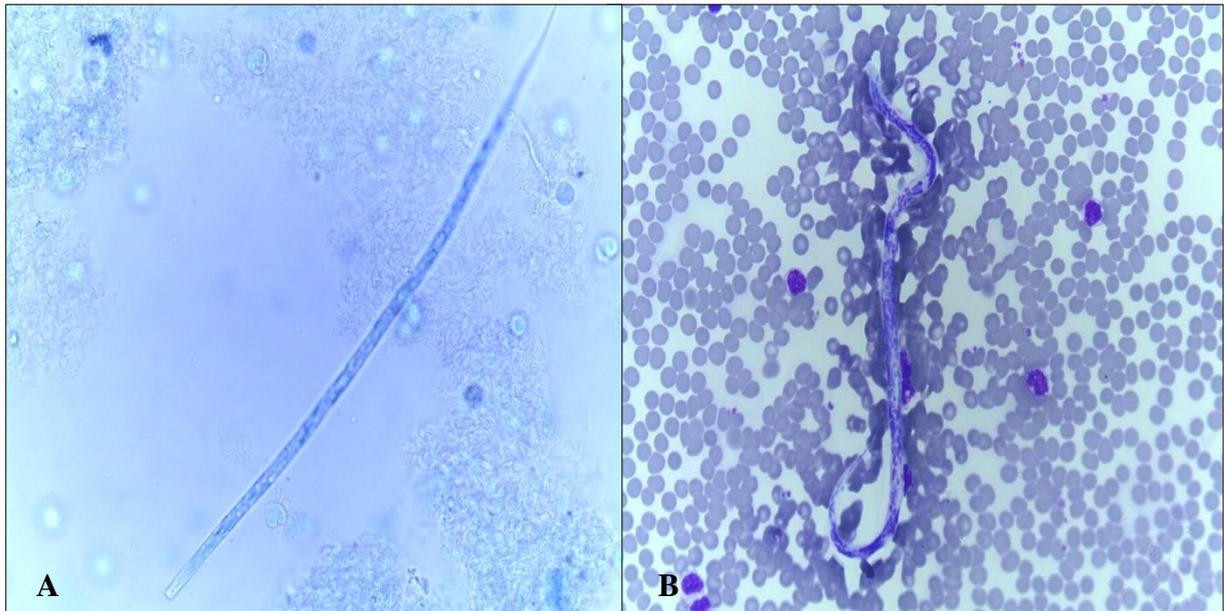


Figura 7 – Microfilárias de *Dirofilaria immitis* observadas em exames sanguíneos dos cães positivos. Obj. 40x. A: Microfilária distendida e corada em azul em teste de Knott modificado; B: Microfilária corada basofilicamente em esfregaço de sangue venoso

Fonte: Laboratório de Parasitologia Veterinária – HV/IFPB

A análise dos resultados dos testes de diagnóstico através do índice de concordância Kappa, sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo, estão descritos na tabela 2.

A análise dos resultados negativos e positivos pela medida de Kappa, resultou em uma concordância baixa ( $k=0,316$ ;  $p= 0,004$ ) entre os exames de necropsia e Knott modificado. Entretanto, o valor de sensibilidade (27,77%) e VPN (67,50%) ainda foram maiores quando comparados aos esfregaços sanguíneos, demonstrando dessa forma que o método de concentração de microfilarías ainda é o mais preciso e indicado para realização do diagnóstico, pela pouca utilização de materiais, além de ser padronizada e de rápida execução (BOWMAN et al., 2006). A capacidade superior do teste de Knott modificado para detecção de microfilarías, quando comparados a outros exames sanguíneos, também foi descrito em pesquisas realizadas na Bahia (ALMEIDA et al., 2001) e Paraná (LIRA et al., 2012).

Tabela 2 – Estatística Kappa entre os resultados da necropsia e dos demais exames sanguíneos, segundo a classificação entre positivo e negativos dos cães do Canil Municipal de Sousa, necropsiados no período de abril a dezembro de 2018.

	Resultado da necropsia		
	Positivos	Negativos	
Resultado do Knott			Sensib. = 27,77% / Espec. = 100%
Positivo	5	0	VPP = 100% / VPN = 67,50%
Negativo	13	27	k = 0,316; p = 0,004
Resultado Esf. Ven.			Sensib. = 22,22% / Espec. = 100%
Positivo	4	0	VPP = 100% / VPN = 65,85%
Negativo	14	27	k = 0,255; p = 0,010
Resultado Esf. Perif.			Sensib. = 5,55% / Espec. = 100%
Positivo	1	0	VPP = 100% / VPN = 38,63%
Negativo	17	27	k = 0,06; p = 0,215

Esf. Ven. - esfregaço de sangue venoso; Esf. Perif. – esfregaço de sangue periférico; Sensib. – sensibilidade; Espec. – especificidade; VPP – valor preditivo positivo; VPN – valor preditivo negativo; k = coeficiente Kappa.

O valor de Kappa para o exame de esfregaço de sangue venoso também foi considerado baixo ( $k=0,255$ ;  $p=0,010$ ) e para o esfregaço de sangue periférico obteve concordância pobre ( $k=0,06$ ;  $p=0,215$ ). Esses valores revelam que o esfregaço, apesar de ser utilizado como exame de rotina para detecção de microfilárias, não é aconselhado para a realização de diagnósticos definitivos, pois pode acusar falsos-negativos por conter um percentual de sensibilidade muito baixo. Essa característica foi demonstrada pelo VPN, onde para esfregaço de sangue venoso obteve valor de 65,85% e esfregaço de sangue periférico de 38,63%, ou seja, quando comparados ao exame de Knott modificado, ambos possuem uma baixa porcentagem para identificação de animais verdadeiramente negativos.

O valor de VPP calculado em todos os testes foi considerado 100%, pois a observação de apenas uma microfilária já classificou o animal como positivo, ou seja, ambos têm capacidade de diagnosticar precisamente os verdadeiramente positivos.

Dos 14 bairros estudados, sete apresentaram cães positivos para *D. immitis*. Os bairros com maior prevalência foram Alto do Cruzeiro e Angelim, com 13,34% (6/45) e 6,67% (3/45) respectivamente. Os outros bairros foram Projeto Mariz com 4,45% (2/45) Jardim Sorrilândia II, Jardim Santana, Augusto Braga e André Gadelha com 2,23% (1/45). Uma porcentagem de

6,67% (3/45) de cães não teve seus bairros identificados. Os aspectos demográficos dos bairros estão descritos na tabela 3.

Tabela 3 - Aspectos demográficos de bairros do município de Sousa que apresentaram cães do Canil Municipal de Sousa, positivos para *Dirofilaria immitis*, necropsiados no período de abril a dezembro de 2018.

Bairros	Aspectos demográficos		
	Acúmulo de água	Vegetação excessiva	Saneamento básico inadequado
Alto do Cruzeiro	x	x	x
Angelim	x	x	x
Projeto Mariz	-	x	x
Jardim Santana	-	x	x
Jardim Sorrilândia II	-	-	x
André Gadelha	x	x	x
Augusto Braga	-	-	x

Os dados das variáveis consideradas estatisticamente relevantes, como dados dos animais e aspectos demográficos dos bairros estão descritos na tabela 4.

Tabela 4 – Resultado da análise estatística dos dados epidemiológicos coletados dos cães do Canil Municipal de Sousa e dos bairros onde foram capturados, entre o período de abril a dezembro de 2018.

Variável	Categoria	Nº de total de animais	Nº de positivos (%)	p*
Idade	6 a 12 meses	4	0 (0)	0.138
	mais de 12 meses	41	18 (43.9)	
Acúmulo de lixo	Não	5	0 (0)	0.073
	Sim	40	18 (45.0)	
Esgoto a céu aberto	Não	16	4 (25.0)	0.127
	Sim	29	14 (48.3)	

\*  $p \leq 0,2$

A idade foi um dos fatores considerados relevantes estatisticamente ( $p=0,138$ ), onde todos os animais positivos apresentavam faixa etária acima de 12 meses (43,9%), confirmando assim que a parasitose ocorre predominantemente em animais mais velhos devido ao tempo necessário para a realização do ciclo completo pelo parasita, como já antes descrito na literatura (ALMEIDA, et al., 2001; LIRA et al., 2012, LABARTHE et al., 2014).

As variáveis de acúmulo de lixo e esgoto a céu aberto nos bairros onde os cães positivos foram capturados, apresentaram diferença estatística de  $p=0,073$  e  $p=0,127$ , respectivamente. Os bairros onde a maioria dos animais positivos foram resgatados foram Alto do Cruzeiro (6/18) e Angelim (6/18), estes considerados bairros periféricos da cidade e com grande quantidade de animais errantes. Por serem periféricos, possuem grande espaços abertos, onde pessoas de toda a cidade despejam lixo, favorecendo o desenvolvimento dos culicídeos vetores.

No bairro Angelim, também periférico, existe pelas proximidades uma lagoa de estabilização, para onde todo o esgoto da cidade é encaminhado através de canais expostos ao ar livre (Figura 8). No mesmo bairro ainda há plantações de capim cultivadas por pequenos criadores de animais da região, que, ao ser irrigada, aumenta consideravelmente o número de vetores.



Figura 8 – Canal que recebe esgoto doméstico e que desemboca na lagoa de estabilização, localizada próxima ao bairro Angelim, Sousa, Paraíba.

Almeida et al. (2001), concluíram que fatores associados ao ambiente e a exposição do animal ao vetor predispõe mais a infecção por *D. immitis*, quando comparados a características próprias dos cães, como raça, porte, cor e tamanho da pelagem. Labarthe et al. (2014),

confirmaram esse fato quando observaram em seu trabalho que a prevalência de cães positivos para *D. immitis* eram provenientes de locais onde a natureza era mais conservada, com pouca influência humana e modificação da paisagem, contribuindo para uma maior proliferação dos mosquitos vetores. Sendo assim, as cidades consideradas polos industriais obtiveram uma menor prevalência para a parasitose quando comparadas a cidades menores, onde prevalecem o turismo e atividades de pesca artesanal.

O número elevado de casos positivos indica que o município possui animais subdiagnosticados, devido não ser uma doença que ocorria na região, e a não apresentação de sinais clínicos aparentes mesmo quando as vezes a infecção já é crônica, dificultando a clínica veterinária. Desta forma, a orientação de veterinários e tutores deve ser realizada a fim de atender sobre essa ocorrência, para que assim, formas preventivas sejam estabelecidas no município, seja com o uso de coleiras repelentes, vermifugação com fármacos que agem contra *D. immitis*, o uso de telas em janelas e evitar passeios entre os horários de maior pico do vetor.

Além disso, torna-se necessário a realização de estudos na área da medicina humana, a fim de determinar se existem casos em pessoas. Por ser uma zoonose incomum na região, a falta de conhecimento por parte dos médicos pode estar levando a diagnósticos errôneos.

Através do exame de necropsia pôde-se determinar infecções ocultas pelo parasita, cujo o diagnóstico não foi possível através dos exames sanguíneos. Novas pesquisas com a realização de exames de diagnóstico mais sensíveis se fazem necessárias para revelar a real situação da parasitose no município.

## 5 CONCLUSÕES

Conclui-se que a prevalência de *D. immitis* nos cães do Canil Municipal de Sousa foi alta e os bairros com maior número de animais positivos foram Alto do Cruzeiro e Angelim. A necropsia foi considerada o exame que mais diagnosticou a infecção, seguida do teste de Knott modificado, esfregaço de sangue venoso e esfregaço de sangue periférico. Variáveis como a idade do animal, acúmulo de água e saneamento básico inadequado foram considerados fatores relevantes para a ocorrência da infecção.

## 6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. (2003). Filariasis zoonóticas. In: ACHA, P.N.; SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 3ª ed. Washington: OPS. v.3, p.284-291. 2003.

AESA - AGÊNCIA EXECUTIVA DE GESTÃO DAS ÁGUAS (AESA). **Precipitação máxima dos municípios no ano de 2018**. Governo da Paraíba. 2018. Disponível em <<http://www.aesa.pb.gov.br/aesa-website/meteorologia-chuvas/?formdate=2019-02-26&produto=municipio&periodo=anual>>. Acesso em 23 de fev. de 2019.

ALMEIDA, M.A.O. et al. Parasitismo de cães por microfilárias de *Dirofilaria immitis*: influência da raça, sexo e idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**. v.2, n.3, p.59-64. 2001.

ALMEIDA, C. **Prevalência de dirofilariose felina na região do Sado**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa, Portugal. 113f. 2010.

ALMEIDA, L.M.M. **Ocorrência de *Dirofilaria immitis* em cães no semiárido da Paraíba**. Trabalho de conclusão de curso. Universidade Federal de Campina Grande. Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos, Paraíba. 30f. 2014.

AMERICAN HEARTWORM SOCIETY (AHS). **Current canine guidelines for the Prevention, Diagnosis, and Management of Heartworm (*Dirofilaria immitis*) Infection in Dogs**. 2014. Disponível em: <<https://www.heartwormsociety.org/veterinary-resources/american-heartworm-society-guidelines>>. Acesso em 15 de fev. de 2019.

BENDAS, A.J.R. et al. Update on *Dirofilaria immitis* epidemiology in South America and Mexico: literature review. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. São Paulo, v.54, n.4, p.319-329. 2017.

BOWMAN, D.D.G. et al. **Parasitologia Veterinária**. Tradução da 8ª Edição. 8º ed. Barueri, SP: Manole. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde – Secretaria de Vigilância em Saúde. Normativa nº.1, de 29 de dezembro de 2011. Esclarecimentos sobre substituição do protocolo de diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC). CGDT-GLAB. **Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis**, Brasília, DF. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. 1ª edição, 5ª reimpressão. **Editora do Ministério da Saúde**, Brasília. 2014.

BRITO, A.C. et al. Prevalência da filariose canina causada por *Dirofilaria immitis* e *Dipetalonema reconditum* em Maceió, Alagoas, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.17, n.6, p.1497-1504. 2001.

CRUZ, N.L.N. **Avaliação das alterações hematológicas e bioquímicas e eficácia das lactonas macrocíclicas em associação com tetraciclina no tratamento de cães**

**naturalmente infectados com *Dirofilaria immitis* (LEIDY, 1856).** Tese (Doutorado em Biociência Animal). Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 80f. 2017.

DA SILVA, A.N.F. & DE SOUZA ABBOUD, L.C. Dirofilariose no município do Rio de Janeiro: uma zoonose emergente e negligenciada. **Academus Revista Científica da Saúde**, v.2, n.2, 2017.

DOHOO, I.R. et al. An overview of techniques for dealing with large numbers of independent variables in epidemiologic studies. **Preventive Veterinary Medicine**. v.29, n.3, p.221-239. 1997.

ETTINGER, S. & FELDMAN, E. **Textbook of veterinary internal medicine**. 6º ed. Saunders Elsevier, v.2, p.1118-1144. 2004.

GENCHI, C. et al. ***Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections**. 1ª ed. Mape parassitologiche: Series Editor, Italy, p.139-144. 2007.

Guia Brasileiro de Boas Práticas em Eutanásia em Animais - Conceitos e Procedimentos Recomendados. **Comissão de Ética, Bioética e Bem-Estar Animal**. Brasília - DF, v.1, p.62, 2013.

HOSMER, D.W & LEMESHOW, S. **Applied logistic regression**. 2ª ed. New York: John Wiley & Sons. 2000.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Panorama – População no último censo**. v.4. 2010. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pb/sousa/panorama>>. Acesso em 15 de jan. de 2019.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Panorama – Território e Ambiente**. v.4. 2017. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pb/sousa/panorama>>. Acesso em 15 de jan. de 2019.

JONES, T.C. et al. **Patologia Veterinária**. 6ª ed. São Paulo: Manole. 2000.

LABARTHE, N.V. et al. Updated canine infection rates for *Dirofilaria immitis* in areas of Brazil previously identified as having a high incidence of heartworm-infected dogs. **Parasites & vectors**, v.7, n.1, p.493. 2014.

LABARTHE, N.V. Zoonoses provocadas por helmintos da região amazônica. In: ANAIS DA REUNIÃO ANUAL DA SBPC, 66, 2014, Rio Branco, AC. **Anais...** Rio Branco, AC: SBPC – Parasitologia. Mesa-Redonda (MR-032). 2014.

LANDIS J.R. & KOCH, G.G. (1977). The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, v.33, p.159-174. 1977.

LEIDY, J. A synopsis of entozoa and some of their ectocongeners observed by the author. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.8, n.42. 1856.

LEITE, L.C. et al. Dirofilariose canina: revisão de uma zoonose emergente. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, Curitiba, v.4, n.4, p.49-56. 2006.

LEITE, L.C. et al. Prevalência de *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) em cães do Canil Municipal de Guaratuba, Paraná, Brasil. **Estudos de Biologia**, v.29, n.66. 2007.

LIRA, R.N. et al. Pesquisa de *Dirofilaria immitis* e *Dipetalonema reconditum* no canil municipal de Itajaí, Santa Catarina, Brasil. **Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, Londrina, ed.204, v.6, n.17. 2012.

MATIAS, I. C. et al. *Dirofilaria immitis* em Cão no Sertão Paraíba: Relato de Caso. In: SEMANA ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA, 4, 2016, Patos, PB. **Anais...** Patos, PB: UFCG, p.20. 2016.

MASCARENHAS, J.C. et al. Ministério de Minas e Energia. Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea, estado da Paraíba. Diagnóstico do município de Sousa. Recife: **Serviço Geológico do Brasil/Programa de Desenvolvimento Energético dos Estados e Municípios**. 10p. 2005.

MEIRELES, J. et al. Dirofilariose canina e felina. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v.109, n.591-592, p.70-78. 2014.

MORENO, V. R. M. **Clínica médica e cirúrgica em animais de companhia: alterações não específicas num esfregaço sanguíneo sugestivas de hemoparasitoses**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade de Évora, Portugal. 116f. 2015.

PINTO, C. **Doenças infecciosas e parasitárias dos animais domésticos, inclusive sua transmissão ao homem**. Rio de Janeiro: Científica, 1944.

VIDAL, I. F. **Dirofilariose Canina no Litoral da Paraíba**. Tese (Doutorado em Medicina veterinária). Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural. Patos, PB. 84f. 2014.

RAMOS, D.G.S. et al. Helminths parasites of stray dogs (*Canis lupus familiaris*) from Cuiabá, Midwestern of Brazil. **Ciências Agrárias**, v.36, n.2, p.889-894. 2015.

RAMOS, R.A. et al. Filarioids infecting dogs in northeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.226, p.26-29. 2016.

ROCHA, J.S.M. **Diferenciação histoquímica em microfilárias de *Dipetalonema reconditum* e *Dirofilaria immitis* em cães (*Canis familiaris*)**. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária). Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Veterinária. 42f. 2006.

ROCHA, R.T. **Padronização da reação de PCR para detecção de *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) e determinação da taxa de infecção em mosquitos coletados na ilha de Santa Catarina**. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia). Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 62f. 2007.

SILVA, R.C. & LANGONI, H. Dirofilariose. Zoonose emergente negligenciada. **Ciência Rural**, v.39, n.5, 2009.

SOARES, H.S. et al. Survey of canine tick-borne diseases in Lábrea, Brazilian Amazon: 'accidental' findings of *Dirofilaria immitis* infection. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, Jaboticabal, v.23, n.4, p.473-480. 2014.