

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

Laynaslan Abreu Soares

PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA INFECÇÃO POR *Dirofilaria immitis* EM
CÃES DO MUNICÍPIO DE SOUSA, SEMIÁRIDO DA PARAÍBA

SOUSA – PB

2019

Laynaslan Abreu Soares

PREVALÊNCIA E FATORES DE RISCO PARA INFECÇÃO POR *Dirofilaria immitis* EM
CÃES DO MUNICÍPIO 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.^a Dr.^a Lisanka Ângelo Maia

Coorientador: Prof.^a Dr. Vinicius Longo Ribeiro Vilela

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

S676p Soares, Laynaslan Abreu.
Prevalência e fatores de risco para infecção por *Dirofilaria immitis* em cães do município de Sousa, semiárido da Paraíba / Laynaslan Abreu Soares. – Sousa : O Autor, 2019.
39 p.
Orientadora: Dra. Lisanka Ângelo Maia.
Coorientador : Dr. Vinicius Longo Ribeiro Vilela.

Trabalho de Conclusão de Curso, apresentado ao Curso Superior de bacharelado em Medicina Veterinária do IFPB – Sousa.
– Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba.

1 Epidemiologia. 2 Verme do coração. 3 Zoonose. I Título.



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

CURSO SUPERIOR DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

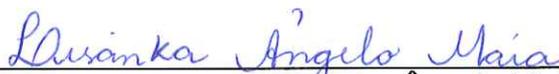
CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

Título: *Prevalência e fatores de risco de Dirofilaria immitis em cães do município de Sousa, semiárido da Paraíba*

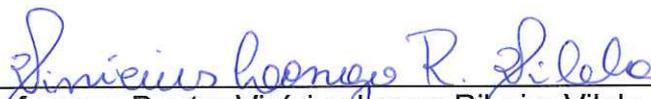
Autora: Laynaslan Abreu Soares

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.

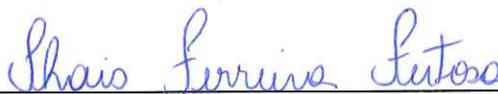
Aprovado pela Comissão Examinadora em: 28 / 02 /2019.



Professora Doutora Lisanka Ângelo Maia
IFPB – Campus Sousa
Professor Orientadora



Professora Doutor Vinicius Longo Ribeiro Vilela
IFPB – Campus Sousa
Examinador 1



Professor Doutora Thaís Ferreira Feitosa
IFPB – Campus Sousa
Examinadora 2

AGRADECIMENTOS

A Deus primeiramente por ter me dado forças e coragem para batalhar por essa grande conquista em minha vida, por ter me guiado nas escolhas e caminhos que segui nesses cinco anos de curso.

Aos meus pais, Maria do Céu e Stenio, por terem me apoiado e contribuído com toda ajuda e esforços para minha formação. A minha mãe em especial, por me inspirar com sua garra e força para lutar pelas coisas que almeja, e por toda sabedoria e valores ensinados. A minha irmã, avós e tios (as) por todos os momentos compartilhados, de carinho, atenção e incentivo. Amo todos vocês.

A minha orientadora, Professora Dra. Lisanka Ângelo Maia, por ter acreditado na minha capacidade de realizar esta pesquisa, pelo tempo dedicado em me ensinar e orientar, sempre com muita sabedoria e paciência, pelos momentos de alegria, correria e descontração, por todas as oportunidades conquistadas e presenteadas, que me trouxeram até essa conquista. Pela sua amizade, meu eterno obrigado!

A todos os professores que ensinaram por todos esses cinco anos do curso, por aqueles que passaram, os que seguiram outros caminhos, os que nos deixaram e aos que continuam me incentivando da sua forma, sempre. Em especial, a Professora Roseane de Araújo Portela, por todos os momentos e orientações compartilhadas, onde sempre me apoio nos meus objetivos e trajetória acadêmica, sempre abrindo novas portas para mim. Ao Professor Dr. Vinicius Longo Ribeiro Vilela, por toda orientação nesta pesquisa, paciência e esclarecimentos nas dúvidas que surgiram na elaboração deste trabalho e no acolhimento no Laboratório de Parasitologia Veterinária (LPV) para desenvolvimento desse estudo. A Professora Dra. Thaís Ferreira Feitosa, pela participação e contribuição para aperfeiçoar este trabalho.

As minhas grandes amigas, Samara, Aline, Isabela e Juliana, que sem dúvida nenhuma foram as pessoas mais importantes e especiais que conheci durante o curso, que com vocês eu aprendi o verdadeiro sentido da amizade, cada uma ensinando com seu jeito e personalidade única. A Samara e Isabela, fico muito feliz e anseio por continuar com essa parceria, amizade e loucura nas próximas etapas que virão para nós. A Aline, por toda atenção, suporte, lealdade, micos e alegrias que passamos por todo esse tempo. A Juliana, pela as aventuras loucas, presença e apoio sempre. Aos demais amigos da turma que tive o prazer de conviver durante todo esse tempo e que quero levar para vida, Francicarla, Evelaine, Mikaelly, Natália, Verinha e Naianne. Aos amigos que conheci durante o estágio supervisionado obrigatório em

Patos e Areia, principalmente o pessoal do Laboratório de Patologia Animal (LPA) da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), onde pude passar mais momentos de alegria e aprendizagem.

Aos amigos que trabalhei durante o projeto que fizeram possível este trabalho, Isabela, Samara, Aline, Verinha, Hodias, Carol, Paula e Higor. A Suzana, pela parceria, vivência e conhecimentos passados. Ao Professor Dr. Arthur Willian de Lima Brasil, por toda ajuda e pelos dados da estatística, que foi fundamental para realização deste trabalho. Aos proprietários e até mesmo os cães que participaram, tornando possível esse estudo.

Ao IFPB Campus de Sousa – Paraíba, por disponibilizar recursos e permitir a minha formação acadêmica. Ao programa Interconecta por toda ajuda financeira, essencial para desenvolvimento deste projeto.

Enfim, a todos aqueles que durante esses cinco anos estiveram presentes em minha vida e me mostraram seu apoio.

Muito obrigado!

RESUMO: *Dirofilaria immitis* é um parasito de coração e de grandes vasos que acomete principalmente cães domésticos, considerada uma infecção e zoonose reemergente nos últimos anos. Objetivou-se determinar a prevalência, fatores de risco e demográficos de *D. immitis* em cães no município de Sousa. Para isso, foram avaliados 320 cães aleatoriamente, sendo 160 domiciliados e 160 errantes, provenientes de 32 bairros do município de Sousa. Foi realizado o exame clínico, coleta de sangue e dados epidemiológicos de cada animal. O ambiente foi observado visualmente quanto as condições de saneamento no momento de avaliação. Para pesquisa de microfilárias, foram realizados três métodos: esfregaço sanguíneo periférico, de sangue fresco e teste de Knott-modificado, associado ao diagnóstico morfológico das microfilárias. Os dados foram submetidos a estatística uni e multivariadas. Obteve-se prevalência de 17,5% (56/320) animais positivos para *D. immitis*, sendo 71,43% (40/56) errantes e 28,57% (16/56) domiciliados. Dos 32 bairros avaliados, em 24 foram encontrados cães positivos, sendo Angelim e Doutor Zezé, os bairros com maior percentual 1,56% (5/320) cada. Somente as categorias de alterações cardíacas (*Odds ratio* 6,231) e cães errantes (*Odds ratio* 2,463) demonstraram potencial fator de risco para infecção. Dos 56 animais positivos, 28 apresentaram positividade nos três testes, e outros 28 demonstraram variância entre métodos e/ou entre lâminas confeccionadas. Não foram observados outros filarídeos. Considerou-se que o município de Sousa apresenta alta prevalência de infecção por *D. immitis*, sendo necessário estabelecer formas de controle e profilaxia, para reduzir os riscos da transmissão para animais, como também para humanos.

Palavras-chave: Epidemiologia. Verme do coração. Zoonose.

ABSTRACT: *Dirofilaria immitis* is a parasite of the heart and large vessels that affects mainly domestic dogs, considered an infection and reemerging zoonosis in recent years. The objective was to determine the prevalence, risk and demographic factors of *D. immitis* in dogs in the municipality of Sousa. For this, 320 dogs were randomly evaluated, 160 domiciled and 160 wandering dogs, from 32 districts of the municipality of Sousa. The clinical examination, blood collection and epidemiological data of each animal were performed. The environment was visually observed regarding the sanitation conditions at the moment of evaluation. For microfilariae research, three methods were performed: peripheral blood smear, fresh blood and Knott-modified test, associated to the morphometric diagnosis of the microfilariae. The data were submitted to uni and multivariate statistics. A prevalence of 17.5% (56/320) animals positive for *D. immitis* was found, with 71.43% (40/56) erring and 28.57% (16/56) domiciled. Of the 32 neighborhoods evaluated, in 24 positive dogs were found, being Angelim and Doutor Zezé, the neighborhoods with the highest percentage (1.53%) (5/320) each. Only categories of cardiac alterations (*odds ratio* 6,231) and stray dogs (*odds ratio* 2,463) showed a potential risk factor for infection. Of the 56 positive animals, 28 presented positivity in the three tests, and another 28 demonstrated variance between methods and / or between ready - made slides. No other filarids were observed. It was considered that the municipality of Sousa presents a high prevalence of infection by *D. immitis*, and it is necessary to establish control and prophylaxis to reduce the risks of transmission to animals, as well as to humans.

Keywords: Epidemiology. Heartworm. Zoonosis.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 – Esquema ilustrativo do ciclo de vida de <i>D. immitis</i>	16
Figura 02 – Espaço geográfico através de imagem de satélite do município de Sousa, Paraíba.....	20
Figura 03 – Auscultação cardíaca em animal errante.....	21
Figura 04 – Contenção mecânica e coleta de sangue em cão errante.....	21
Figura 05 – Coleta de sangue periférico em errante.....	21
Figura 06 – Lâminas confeccionadas dos três exames avaliados.....	21
Figura 07 – Realização do teste de Knott-modificado.....	22
Figura 08 – Leitura das lâminas em microscópio óptico.....	22
Figura 09 – Canal principal de esgoto a céu aberto que atravessa o município de Sousa.....	25
Figura 10 – Microfilária de <i>D. immitis</i> em esfregaço sanguíneo. Obj40x. Panótico rápido.....	28
Figura 11 – Microfilária de <i>D. immitis</i> distendida em lâmina do teste de Knott-modificado. Obj40x. Azul de metileno.....	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 01 – Número de cães domiciliados e errantes positivos para <i>D. immitis</i> distribuídos por bairros do município de Sousa, Paraíba.....	24
Tabela 02 – Análise univariada de fatores de risco associados à infecção por <i>D. immitis</i> em cães do município de Sousa, Paraíba. ($P \leq 0,2$).....	26
Tabela 03 – Fatores de risco da análise multivariada para infecção por <i>D. immitis</i> em cães do município de Sousa, Paraíba. ($P \leq 0,2$).....	26
Tabela 04 – Variação de positividade em exames de pesquisa de microfilárias em 28 animais positivos (50%).....	27

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

Cm - Centímetro

CDC - Center for Disease Control and Prevention

CVBD - Companion Vector-borne Diseases

EDTA - Sal Sódico do Ácido Etilenodiaminotetracético

ELISA - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

HV - Hospital Veterinário

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

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

INMET - Instituto Nacional de Meteorologia

Km² - Quilômetro quadrado

LPA - Laboratório de Patologia Animal

LPV - Laboratório de Parasitologia Veterinária

Mm - Milímetros

PB - Paraíba

UFMG - Universidade Federal de Campina Grande

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	13
	2.1. Histórico e etiopatogenia.....	13
	2.2. Epidemiologia e distribuição.....	13
	2.3. Transmissão.....	15
	2.4. Sinais clínicos.....	15
	2.5. Diagnóstico e diferencial.....	16
	2.6. Controle e Profilaxia.....	17
3	MATERIAL E MÉTODOS	18
	3.1. Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA).....	18
	3.2. Área de estudo, população alvo, amostras e método de coleta.....	18
	3.3. Pesquisa de microfilárias.....	19
	3.4. Inquérito epidemiológico.....	22
	3.5. Análise estatística.....	22
4	RESULTADOS	24
5	DISCUSSÃO	29
6	CONCLUSÃO	33
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	34
8	APÊNDICE	39

1. INTRODUÇÃO

Dirofilaria immitis (LEIDY, 1856) é um nematódeo filarídeo que afeta principalmente o cão doméstico, e cuja transmissão é realizada através de culicídeos (SILVA et al., 2008; TAYLOR et al., 2017). Cães portadores podem servir como fonte de infecção para outros animais e até pessoas, fator considerado de extrema importância para saúde pública (SILVA & LANGONI, 2009).

Desde seu reconhecimento como zoonose pela Organização Mundial da Saúde em 1979, a ocorrência desta parasitose aumentou consideravelmente em todo o mundo, influenciando pesquisas a fim de determinar parâmetros que possam estabelecer formas de profilaxia e reduzir os riscos da transmissão para os hospedeiros definitivos (ACHA & SZYFRES, 2003; BARBOSA & ALVES, 2006).

De ocorrência cosmopolita e endêmicas em várias regiões do Brasil, a infecção por *D. immitis* é mais observada em áreas litorâneas e costeiras, onde o clima quente e úmido fornece condições favoráveis a proliferação dos hospedeiros intermediários, os culicídeos. No entanto, a infecção vem reemergindo nos últimos anos em locais onde já existiam e surgindo em lugares antes não relatados (LABARTHE, 2014), a exemplo da região semiárida da Paraíba (ALMEIDA, 2014).

Matias et al. (2016) relataram um caso de *D. immitis* como achado de necropsia em um cão. Adicionalmente, em um intervalo de dois anos foram diagnosticados no Laboratório de Patologia Animal (LPA) do Hospital Veterinário do Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia da Paraíba, do campus Sousa IFPB (HV-IFPB) 16 casos de *D. immitis* no ventrículo direito do coração de cães no município de Sousa (Dados ainda não publicados). Em estudo retrospectivo realizado no Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Patos, no período de 2003 a 2012, foram encontrados dois casos de *D. immitis* (parasita adulto) como achado de necropsia em cães (ALMEIDA, 2014). Não há trabalhos que retratem a prevalência dessa parasitose no município de Sousa.

Devido à grande quantidade de casos de *D. immitis* diagnosticados em cães no município de Sousa em curto período de tempo, faz-se necessário estudos sobre essa parasitose em cães domésticos através de diferentes exames complementares, a fim de estabelecer novas formas de diagnóstico, terapêuticas e controle, tendo em vista que essa parasitose possui potencial zoonótico.

Objetivou-se com este trabalho determinar a prevalência e fatores de risco para infecção por *D. immitis* em cães no município de Sousa, Paraíba, associado a identificação de fatores epidemiológicos e demográficos que favorecem a ocorrência dessa parasitose no município.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Histórico e etiopatogenia

Em 1626 ao norte da Itália, Francesco Birago relatou o primeiro caso de infecção por filarídeo em cães (GENCHI; VENCO; GENCHI, 2007; OGAWA, 2013), no entanto, somente 1856 foi descrito morfológicamente o parasito, através de Leidy, nomeando de *Dirofilaria immitis*. (ALHO et al., 2014).

Dirofilaria immitis (LEIDY, 1856) é um parasito de coração e de grandes vasos que acomete principalmente cães domésticos e canídeos silvestres, e ocasionalmente outros mamíferos, como gato e humano (ACHA; SZYFRES, 2003).

Pertencente ao filo *Nematoda*, classe *Secernentea*, da superfamília *Filaroidea*, família *Onchocercidae*, e do gênero e subgênero *Dirofilaria*, que se assemelham a vermes longos e delgados, branco a acinzentados, possuindo uma cutícula resistente, e que medem de 15 a 30cm de comprimento, sendo as fêmeas de 25 a 30cm e os machos em torno da metade. No macho, a cauda tem formato espiral frouxa com pequenas asas laterais, espícula esquerda longa e pontuda, com a direita menor, apresentando extremidade romba (TAYLOR et al., 2017).

Os cães domésticos intensamente parasitados pelo parasito desenvolvem a dirofilariose, antropozoonose de caráter cosmopolita (SANTOS; ALESSI, 2016), de curso crônico, progressivo e potencialmente fatal, onde as lesões primárias ocorrem nas artérias pulmonares e no parênquima pulmonar, provocando conseqüentemente a insuficiência cardíaca congestiva (MCCALL et al., 2008; MONTOYA-ALONSO et al., 2015).

2.2 Epidemiologia e distribuição

Em regiões litorâneas, brejos tropicais, mangues e outros locais de clima quente e úmido, é onde se destacam o maior número de casos de infecções em cães pelo parasita, tornando esses animais uma fonte de infecção para animais silvestres e uma importante causa de mortalidade e morbidade (LABARTHE, 2014).

Para os hospedeiros definitivos, alguns fatores individuais são apontados e relacionados como possíveis condições favoráveis para infecção por *D. immitis*, como sexo, raça, idade, cor da pelagem, tamanho do pelo, peso/porte e situação de moradia do animal (BRITO et al., 2001; LEITE et al., 2007; SILVA et al., 2008; ALMEIDA; FEITAS, 2012; OGAWA et al., 2013; LABARTHE et al., 2014). Labarthe et al. (2014) demonstrou que os animais com pelagem curta e escura, errantes, com idade acima de dois anos e de grande porte foram os mais afetados pelo parasito, indicando possíveis susceptibilidades.

No Brasil, foi identificado a parasitemia por *D. immitis* em todas as regiões, a partir de estudos de prevalência nas regiões Nordeste (BRITO et al., 2001), Sul (LEITE et al., 2007; FRONDANA et al., 2015), Sudeste (SOUZA; LARSSON, 2001; SILVA; ABOUD, 2017), Norte (SILVA et al., 2008; OGAWA et al., 2013) e centro oeste (FERNANDES et al., 1999).

Labarthe et al. (2014) realizou um estudo sobre a incidência da infecção canina por *D. immitis* em estados litorâneos, Santa Catarina, Paraná, São Paulo, Rio de Janeiro, Bahia e Pernambuco e foram consideradas áreas de alta ocorrência. Observou-se que 23,1% das amostras coletadas dos estados apresentaram antígenos circulantes, sendo 13,2% (64/485) para a região Sul, 26,3% (160/609) para região Sudeste e 29,7% (130/437) para região Nordeste, sugerindo que este último teve maior prevalência, em razão das condições climáticas favoráveis para proliferação e desenvolvimento dos culicídeos.

Na região Nordeste, estudos sobre prevalência de *D. immitis* em cães foram realizados principalmente em regiões litorâneas, incluindo os estados Alagoas 1,3% (15/1.097) (BRITO et al., 2001), Bahia 0% (0/200) (CARLOS et al., 2007), Maranhão 15% (224/1.495) (AHID et al., 1999), Paraíba 0,33% (1/301) (VIDAL, 2014), Pernambuco 1% (6/611) (ALVES et al., 1999), Rio Grande do Norte 47,7% (51/107) (FERREIRA et al., 2004) e Sergipe 1,6% (06/128) (SILVA et al., 2017). A variação evidente das prevalências nos estados pode estar relacionada aos tipos de exames de diagnósticos utilizados nos estudos, seja parasitológico, sorológico e/ou molecular (SILVA et al., 2017).

Estudos sobre prevalência da parasitose por *D. immitis* na Paraíba são escassos. Vidal (2014) avaliou a presença de microfilárias no sangue de 301 cães dos bairros dos municípios de João Pessoa, Cabedelo e Conde, obtendo uma prevalência de 0,33% (1/301) cães positivos. Esse percentual foi considerado baixo, por se tratar de região costeira. Trabalho semelhante foi desenvolvido por Arcoverde et al. (1994) no município de Patos, que determinou prevalência de 12,4% de cães positivos para microfilárias, enquanto que Ramos & Souza (2018), em 2018 em Patos, obteve-se uma prevalência de 1,43% (2/140), através do exame da gota espessa e teste imunocromatográfico rápido.

Adicionalmente, na região semiárida da Paraíba, em estudo retrospectivo realizado no Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário da UFCG, Patos, no período de 2003 a 2012, foram encontrados dois casos de *D. immitis* (parasita adulto) como achado de necropsia em cães (ALMEIDA, 2014). No ano de 2016 foi diagnosticado pelo LPA do HV – IFPB, através de necropsia, o primeiro caso de *D. immitis* em um cão (MATIAS et al., 2016).

2.3 Transmissão

A forma de transmissão do parasita para os cães domésticos e demais mamíferos, considerados como hospedeiros definitivos, se dá através dos hospedeiros intermediários, os culicídeos dos gêneros *Aedes*, *Anopheles* e *Culex* (TAYLOR et al., 2017).

O ciclo biológico de *D. immitis* inicia com a picada do mosquito no hospedeiro definitivo infectado, que através do repasto sanguíneo ingerem as microfilárias (L1). As larvas de primeiro estágio, no vetor, seguem para os túbulos de Malpighi e após 5 dias tornam-se L2 e após 10 dias L3, migrando por todo corpo do mosquito até os espaços cefálicos. Durante o repasto sanguíneo em um animal não infectado, a L3 penetra na ferida e se instala na pele durante 3 dias, até se transformar em L4, permanecendo durante 2 a 3 meses após a infecção nos tecidos conjuntivos subcutâneos e músculos. Após aproximadamente 70 dias, as larvas L4 se transformam em L5 e migram para as artérias pulmonares e coração, em 85 a 120 dias atingem em torno de 3,2 a 11cm de comprimento. No 6º mês de infecção, as fêmeas fertilizadas possuem as microfilárias já desenvolvidas no útero, e posteriormente liberadas na circulação sanguínea do hospedeiro definitivo, para assim ser ingeridas pelo mosquito, reiniciando o ciclo (Figura 01.). Assim, o período pré-patente da infecção é de 6 a 9 meses (BOWMAN et al., 2010). Segundo Taylor et al. (2007), há descrição do período latência ser maior que 5 anos, podendo os vermes adultos sobreviverem ao longo de anos.

No Brasil, estudos sobre as espécies de mosquitos capturados em armadilhas luminosas em áreas de possível fator de risco para população animal e humana, foram realizadas por Brito et al., (2001) e Ogawa et al., (2013), relatando a presença da microfilária em *Culex quinquefasciatus*, mas também em menor ocorrência no *Culex pipiens*, *Aedes aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. coquillettii* *richiardii* e *Anopheles maculipennis*.

2.4 Sinais clínicos

Normalmente os cães com carga parasitária baixa ou infecção recente, demonstram assintomatologia, e por esta razão o diagnóstico deve ser laboratorial. Nos cães que apresentarem amicrofilaremia ou infecção oculta, comumente podem apresentar alterações arteriais pulmonares avançadas com sintomatologia de hipertensão pulmonar. Cães com alta carga parasitária desenvolvem dirofilariose, manifestando alterações cardíacas como arritmias e sopros, os sinais clínicos mais observados em casos com *D. immitis*. Dependendo da carga parasitária podem ser observadas, dificuldade respiratória, síncope, tosse, perda de peso, intolerância ao exercício e por vezes ascite (NELSON; COUTO, 2015).

Das demais espécies de *Dirofilaria* spp. com importância zoonótica, *D. repens* também demonstra alta prevalência no continente europeu e asiático, sendo parasitos delgados que medem de 5 até 17cm de comprimento, com machos de 5 a 7 cm e fêmeas com 13 a 17cm (ALHO et al., 2014). No entanto, diferentemente de *D. immitis*, *D. repens* se aloja em nódulos subcutâneos pós migração da L3, onde, no tecido subcutâneo ou subserosa se desenvolvem até o estágio final (L5), levando a dirofilariose subcutânea nos canídeos e felídeos, e a forma subcutânea e ocular nos humanos. O período pré-patente varia de 27 a 34 semanas (TAYLOR et al., 2007).

2.6 Controle e profilaxia

A profilaxia do verme do coração é recomendada em áreas de ocorrência da parasitose, principalmente em locais com microclimas favoráveis para desenvolvimento larval do mosquito. A Sociedade Americana do “Verme do Coração” indica vermifugação com um fármaco durante todo o ano, como prevenção. Os filhotes de seis a oito semanas de idade devem receber o vermífugo nos períodos de maior taxa de infecção. As principais drogas preventivas utilizadas nos cães são as lactonas macrocíclicas, incluindo principalmente as avermectinas (ivermectina, selamectina) e as milbemicinas (milbemicinaoxima, moxidectina); e a dietilcarbazona (NELSON; COUTO, 2015).

Adicionalmente, sabe-se que o uso de antibióticos do grupo das tetraciclina, como a doxiciclina, associado a administração de ivermectina é efetivo como ação adulticida do parasito (NELSON, 2015). A doxiciclina tem ação contra bactérias intracelulares do gênero *Wolbachia*, estas responsáveis pela síntese de moléculas atuantes na embriogênese do parasito, que estão presentes em todos os estágios larvares e adultos. A terapia com este antibiótico promove o bloqueio da produção de microfírias e reduz riscos de efeitos colaterais (SÍMON et al., 2012; ALHO et al., 2014).

Recentemente, medicamentos à base de moxidectina como ProHeart SR12®, propõe prevenir a infecção por *D. immitis* anualmente substituindo outros vermífugos mensais. Destaca-se a indicação em cães de seis a nove meses a aplicação de duas doses e reforço anual, enquanto que em cães acima de nove meses, a aplicação é única e com reforço anual. (ZOETIS, 2012). McTier et al. (2017) avaliou a utilização de medicamentos à base de moxidectina, observando que foi 100% eficaz naqueles parasitos sem resistência anti-helmínticos. O uso de medicamentos como ProHeart SR12® em cães nas áreas endêmicas, sugere fornecer uma garantia preventiva mais prática e confortável para proprietários e veterinários, em comparação a medicamentos mensais.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)

Esta pesquisa foi avaliada e aprovada pela CEUA sob cadastro de nº 01.0462.2017 e registro de nº 23000.000549.2018-37, após adequação ao parecer entregue a comissão em 25/05/2018.

3.2 Área de estudo, população alvo, amostras e método de coleta

O estudo foi realizado no município de Sousa, Paraíba, que possui uma área de 738,547 km², população estimada em 69.554 habitantes, densidade demográfica de 89,10 hab/km² (IBGE, 2017), média anual de temperatura de 27°C e pluviometria de 900 mm no ano de 2018 (INMET, 2019).

O número de animais participantes do estudo levou em consideração o tamanho da população humana do município de Sousa. Foi utilizada a proporção recomendada por Canatto et al. (2012), de 4,3 pessoas por animal. Sendo assim, estimou-se a população de cães em 16.175 animais. Em seguida para determinar o número de animais mínimo a serem avaliados foi realizada uma amostragem aleatória simples de acordo com a fórmula (THRUSFIELD, 2004):

$$n = \frac{Z^2 \times P(1 - P)}{d^2}$$

Onde:

n = número de animais amostrados

Z = valor da distribuição normal para o nível de confiança de 95%

P = prevalência esperada 23,1% (LABARTHE et al. 2014)

d = erro absoluto de 5%

Para o ajuste para populações finitas, foi utilizada a seguinte fórmula (THRUSFIELD, 2004):

$$N_{ajus} = \frac{N \times n}{N + n}$$

Onde:

n_{ajus} = tamanho da amostra ajustado

N = tamanho da população total

n = tamanho inicial da amostra

O número mínimo de animais que deveriam ser avaliados eram de 268, contudo para melhor distribuição geográfica, considerando que o município tem 32 bairros, optou-se pela coleta de 10 animais por bairro, totalizando 320 animais, sendo 160 errantes e 160 cães domiciliados. O critério de inclusão adotado foi que os animais apresentassem idade igual ou superior a 8 meses que é justificado em razão do baixo parasitismo, relacionado ao período pré-patente de *D. immitis*.

Os bairros avaliados foram: Alto Capanema, Alto do Cruzeiro, André Gadelha, Angelim, Areias, Augusto Braga (Multirão), Bancários, Boa Vista, Centro, Doutor Zezé, Estação, Estreito, Frei Damião, Gato Preto, Guanabara, Jardim Bela Vista, Jardim Brasília, Jardim Iracema, Jardim Santana, Jardins, José Lins do Rêgo, Lagoa de Patos, Nossa Senhora de Fátima, Projeto Mariz, Raquel Gadelha, São José, Sorrilândia 1, Sorrilândia 2, Sorrilândia 3, Sousa 1, Várzea da Cruz e Zú Silva (Figura 02.). Para cada bairro foram utilizados cinco cães errantes e cinco cães domiciliados, da mesma área, escolhidos de forma aleatória e por disponibilidade dos tutores para participar da pesquisa, respectivamente.

Os animais foram submetidos a avaliação clínica geral, para análise de estado nutricional, coloração das mucosas, palpação de linfonodos, grau de hidratação, pulso periférico, auscultação cardíaca e respiratória (Figura 03.). Posteriormente, foi realizada a contenção mecânica e coletados 3 a 5 ml de sangue da veia cefálica ou jugular (Figura 04.). A coleta das amostras de sangue sucedeu-se das 08:00 ou 18:00, pois o período da microfilaremia é maior, devido ao fator de adaptação das filárias aos hábitos alimentares do vetor (ACHA; SZYFRES, 2003). Após as coletas, os sangues foram transferidos para tubos estéreis previamente identificados contendo anticoagulante EDTA (Sal Sódico do Ácido Etilenodiaminotetracético), acondicionadas e encaminhadas para o Laboratório de Parasitologia Veterinária (LPV) do HV- IFPB, para realização dos testes sanguíneos.

Os esfregaços de sangue periférico foram obtidos da ponta da orelha (Figura 05.). As lâminas dos esfregaços sanguíneos eram fixadas e coradas através de Panótico Rápido®, acondicionadas em caixas próprias e encaminhadas para o LPV para posterior visualização microscópica.

3.3 Pesquisa de microfilárias

Para a pesquisa de microfilárias foram realizados três métodos: esfregaço sanguíneo periférico, esfregaço sanguíneo de sangue fresco e teste de Knott-modificado (NEWTON; WRIGHT, 1956). Foram confeccionadas duas lâminas para cada técnica (Figura 06.).

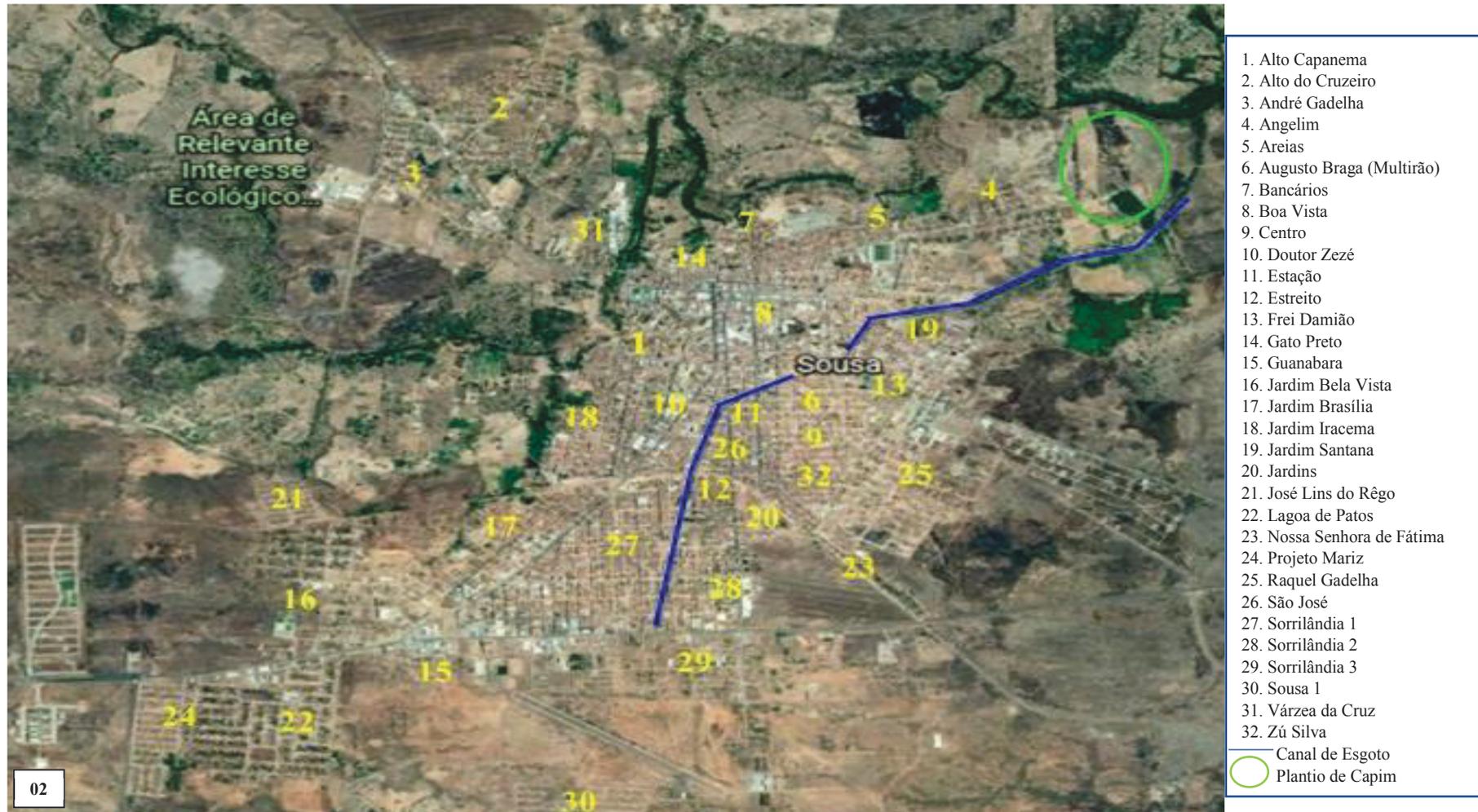


Figura 02. Espaço geográfico através de imagem de satélite do município de Sousa, Paraíba.

Fonte: Google Earth – Mapas, 2014.



Figura 03 – Auscultação cardíaca em animal errante. Figura 04 – Contenção mecânica e coleta de sangue em cão errante. Figura 05 – Coleta de sangue periférico em errante. Figura 06 – Lâminas confeccionadas dos três exames avaliados.

O Knott-modificado foi realizado de acordo com a descrição de Bowman et al. (2006). Foi utilizado sangue com EDTA, armazenado por um período de até 24 horas. O método consistiu em misturar 1 ml de sangue com 10 ml de formol a 2% em um tubo Falcon, que foi homogeneizado por inversão e agitação com o objetivo de obter a lise dos eritrócitos e conservação das microfilárias em formato distendido. O tubo com a amostra foi centrifugado à 1500 rpm por 5 minutos. Após a centrifugação, desprezou-se o sobrenadante por inversão do tubo e em seguida foi colocado uma gota de azul de metileno a 0,1% na parte decantada, homogeneizando. Em seguida, coletou-se com auxílio de uma micropipeta uma parte do sedimento, que foi colocado em uma lâmina e recoberto com lamínula (Figura 07.) para visualização em microscópio óptico em busca de microfilárias distendidas coradas em azul (Figura 08.).



Figura 07 – Realização do teste de Knott Modificado. Figura 08 – Leitura das lâminas em microscópio óptico.

Associado ao teste de Knott modificado, realizou-se o diagnóstico morfológico das microfilárias dos animais positivos com base nos valores mencionados por CVBD (2006), onde as microfilárias de *D. immitis* são maiores, medem 205 a 283 μ m de comprimento, 5 a 6,5 μ m de largura, cabeça cônica e cauda em linha reta. Enquanto que outros filarídeos, como *A. reconditum*, que são menores e que possuem 213 a 240 μ m de comprimento, 4 a 5 μ m de largura, cabeça contudente e cauda em forma de gancho dobrado.

3.4 Inquérito epidemiológico

Durante o período de visitas para a coleta de sangue dos cães, foi aplicado um questionário epidemiológico a fim de obter dados relacionados aos hábitos cotidianos dos animais, manejo sanitário, localização, alimentação e descrição demográfica dos locais (Apêndice A.).

3.5 Análise estatística

Com base nos questionários epidemiológicos foi possível realizar uma análise para verificação de uma possível associação entre os dados do questionário (variável independente) e o resultado exames (variável dependente). As variáveis avaliadas foram: situação do animal; sexo; idade; raça; cor e comprimento da pelagem; vacinação; vermifugação; sinais clínicos; histórico de doenças e tratamentos anteriores; histórico de viagens; contato com outros

animais, lixões/entulhos, esgotos, vegetação próximos; controle de mosquitos, bairro de avaliação; e horário de coleta.

A avaliação foi feita em dois momentos, inicialmente foi realizada 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. No segundo momento as variáveis que foram selecionadas foram submetidas a uma análise multivariada através da regressão logística múltipla ao nível de significância de 5% (HOSMER E LEMESHOW, 2000).

O ajuste do modelo final foi feito através do coeficiente de Hosmer e Lemeshow, 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). As análises de dados foram realizadas utilizando o software SPSS 23.0 for Windows.

4. RESULTADOS

A prevalência de cães para *D. immitis* no município de Sousa foi 17,5% (56/320) em pelo menos um dos testes avaliados, sendo 71,43% (40/56) errantes e 28,57% (16/56) domiciliados, onde estes diferiram estatisticamente ($P < 0,0001$).

Dos 32 bairros avaliados, em 24 foram encontrados cães positivos para *D. immitis*. O número de cães errantes e domiciliados positivos em cada bairro estão descritos na Tabela 01. Nos bairros Estação, Jardim Bela Vista, Nossa Senhora de Fátima, Projeto Mariz, Sorrilândia 2, Sorrilândia 3, Sousa 1, Várzea das Cruz não foram identificados cães positivos.

Tabela 01. Número de cães domiciliados e errantes positivos para *D. immitis* distribuídos por bairros do município de Sousa, Paraíba.

Bairros positivos	Nº de cães avaliados	Nº de cães domiciliados	Nº de cães errantes
Alto Capanema	10	0 (0%)	1 (0,31%)
Alto do Cruzeiro	10	1 (0,31%)	1 (0,31%)
André Gadelha	10	1 (0,31%)	3 (0,94%)
Angelim	10	2 (0,63%)	3 (0,94%)
Areias	10	0 (0%)	1 (0,31%)
Bancários	10	1 (0,31%)	2 (0,63%)
Boa Vista	10	2 (0,63%)	2 (0,63%)
Centro	10	0 (0%)	3 (0,94%)
Doutor Zezé	10	0 (0%)	5 (1,56%)
Estreito	10	0 (0%)	2 (0,63%)
Frei Damião	10	0 (0%)	2 (0,63%)
Gato Preto	10	2 (0,63%)	1 (0,31%)
Guanabara	10	1 (0,31%)	0 (0%)
Jardim Brasília	10	0 (0%)	2 (0,63%)
Jardim Iracema	10	0 (0%)	1 (0,31%)
Jardim Santana	10	0 (0%)	2 (0,63%)
Jardins	10	1 (0,31%)	1 (0,31%)
José Lins do Rêgo	10	0 (0%)	1 (0,31%)
Lagoa dos Patos	10	0 (0%)	1 (0,31%)
Multirão	10	1 (0,31%)	0 (0%)
Raquel Gadelha	10	2 (0,63%)	2 (0,63%)
São José	10	1 (0,31%)	1 (0,31%)
Sorrilândia 1	10	0 (0%)	1 (0,31%)
Zú Silva	10	1 (0,31%)	2 (0,63%)
TOTAL	240	16 (5%)	40 (12,5%)

Legenda: N° - Número

Os bairros Angelim e Doutor Zezé apresentaram o maior percentual de 1,56% (5/320), cada. O Angelim é um bairro carente que está situado na periferia da zona norte do município de Sousa, delimitado pelo Rio do Peixe, possuindo uma lagoa de estabilização de suporte do abatedouro que realiza tratamento do canal de esgoto da cidade e uma plantação de capim irrigado, como visto na Figura 02. Neste bairro obteve-se 0,63% (2/16) domiciliados e 0,94% (3/40) errantes. O bairro Doutor Zezé está situado ao centro do município, que tem proximidade com o canal de esgoto que rodeia próximo ao bairro e atravessa a cidade (Figura 09.). Neste bairro obteve-se 5/40 cães errantes positivos, que não se sabe origem e nem lugares de passagem dos mesmos.



Figura 09 – Canal principal de esgoto a céu aberto que atravessa o município de Sousa

As características dos animais e os aspectos demográficos dos ambientes avaliados nos questionários epidemiológicos foram analisados estatisticamente em relação a presença de *D. immitis*. Nesse estudo, apenas as variáveis: situação do animal, raça, idade, vermifugação e exame clínico demonstraram significativa influência na infecção do parasito ($p < 0,2$) (Tabela 02). Adicionalmente, somente as categorias alterações cardíacas (exame clínico) e cães errantes (situação do animal) demonstraram potencial fator de risco para infecção, com alterações cardíacas (*Odds ratio* 6,231 - IC 95%) representando 6 vezes mais chances de probabilidade de manifestação na infecção por *D. immitis*, e animais errantes (*Odds ratio*

2,463 – IC 95%) 2 vezes mais propensos a contaminação do que cães domiciliados (Tabela 03).

Tabela 02. Análise univariada de fatores de risco associados à infecção por *Dirofilaria immitis* em cães do município de Sousa, Paraíba. ($P \leq 0,2$).

Variável	Categoria	Nº de total de animais	Nº de animais positivos (%)	P
Situação do animal				
	Domiciliado	160	16 (10.0)	<0.0001
	Errante	160	40 (25.0)	
Raça				
	SRD	261	53 (20.3)	0.005
	Com raça	59	3 (5.1)	
Idade				
	Até 12 meses	40	3 (7.5)	0.075
	Maior que 12 meses	280	53 (18.9)	
	Ambos	16	0 (0)	
Vermifugação				
	Não	262	52 (19.8)	0.062
	Sim, há 4 meses	34	2 (5.9)	
	Sim, há mais de 4 meses	24	2 (8.3)	
Exame clínico				
	Não	213	33 (15.5)	0.002
	Alterações cardíacas	35	14 (40.0)	
	Sinais de Leishmaniose	42	6 (14.3)	
	Outras alterações	30	3 (10.0)	

Legenda: Nº - Número; SRD – Sem raça definida.

Tabela 3. Fatores de risco da análise multivariada para infecção por *D. immitis* em cães do município de Sousa, Paraíba. ($P \leq 0,2$).

Variável	Odds ratio	IC 95%	P
Situação do animal: Cão errante	2.463	[1.539-25.236]	0.010
Exame clínico: Alterações cardíacas	6.231	[1.281-4.735]	0.007

Legenda: IC – Índice de confiança.

Dos métodos de pesquisa de microfilárias utilizados nos 56 cães positivos, 28 (50%) apresentaram positividade nos três testes, e outros 28 (50%) demonstraram variância entre métodos e/ou entre lâminas confeccionadas conforme mostra a Tabela 04. O método de Knott Modificado apresentou maior número de amostras positivas, sendo positivo, nos 56 animais. Entretanto, 51 (91,07%) foram positivos em duas lâminas e 5 (8,93%) em apenas uma lâmina. No esfregaço sanguíneo de sangue fresco, 36 (64,29%) demonstraram a microfilária em duas lâminas, 12 (21,43%) em uma única lâmina, e 8 (14,28%) foram negativas nas duas lâminas. No esfregaço sanguíneo de sangue periférico observou-se positividade de 32 (57,14%) animais nas duas lâminas, 12 (21,43%) em uma lâmina, e em 12 (21,43%) foram negativas.

Tabela 04. Variação de positividade em exames de pesquisa de microfilárias em 28 animais positivos (50%).

Cão	Testes sanguíneos						Cão	Testes sanguíneos					
	KNOTT		ES - P		ES - F			KNOTT		ES - P		ES - F	
01	+	-	-	+	-	-	15	+	+	+	-	+	+
02	+	+	-	+	-	+	16	+	+	+	+	+	-
03	+	+	-	+	-	+	17	+	-	-	-	-	-
04	+	+	-	-	-	+	18	+	+	-	-	-	+
05	+	+	-	+	+	+	19	+	+	+	-	+	+
06	+	+	-	+	+	+	20	+	+	-	+	+	+
07	+	+	+	-	+	+	21	+	-	-	-	-	-
08	+	-	-	-	-	-	22	+	+	+	-	-	-
09	+	+	+	+	+	-	23	+	+	-	-	+	-
10	+	-	-	-	-	-	24	+	+	+	-	+	-
11	+	+	-	-	+	-	25	+	+	+	-	+	+
12	+	+	+	+	+	-	26	+	+	-	-	-	-
13	+	+	+	+	+	-	27	+	+	-	-	-	-
14	+	+	+	-	+	+	28	+	+	-	-	+	+

Legenda: KNOTT – Teste Knott Modificado; ES-P – Esfregaço sanguíneo de sangue periférico; ES-F – Esfregaço sanguíneo de sangue fresco.

Nos esfregaços sanguíneos positivos, os exemplares de *D. immitis* se caracterizava por uma estrutura vermiforme corada basofilicamente (Figura 10.). Todas as microfilárias observadas no teste de Knott modificado (Figura 11.) estavam entre os valores mencionados por CBVD (2012), como *D. immitis*, não sendo observados outros filarídeos.

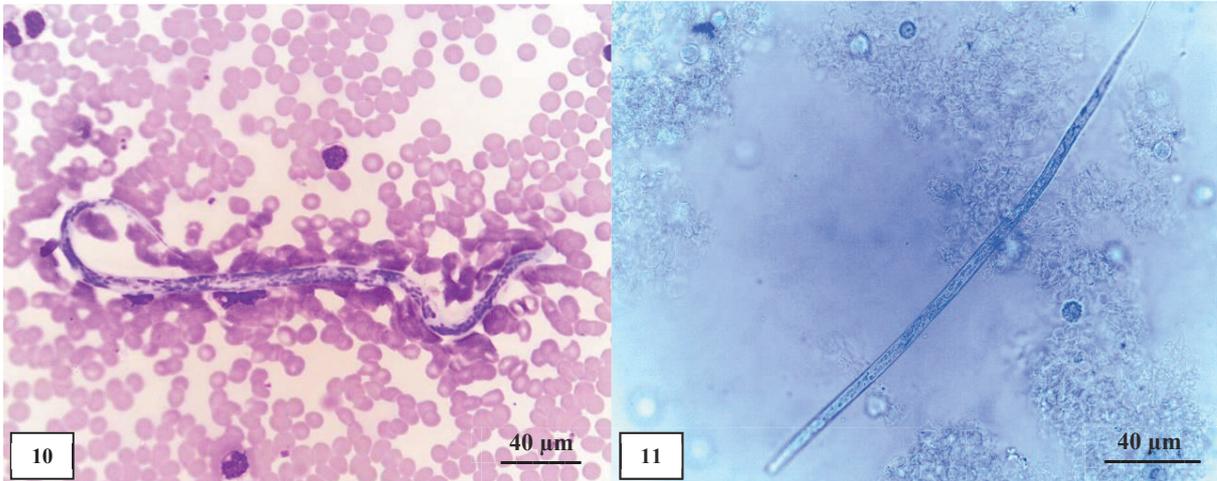


Figura 10. Microfilária de *D. immitis* em esfregaço sanguíneo. Obj40x. Panótico rápido.

Figura 11. Microfilária de *D. immitis* distendida em lâmina do teste de Knott modificado. Obj 40x. Azul de metileno.

5. DISCUSSÃO

A prevalência de *D. immitis* em cães no município de Sousa foi considerada alta, contrapondo a ideia de que a parasitose é mais frequente em regiões costeiras, uma vez que Vidal (2014) avaliou a presença de microfilárias no sangue de 301 cães dos bairros dos municípios de João Pessoa, Cabedelo e Conde, região costeira da Paraíba, obteve uma prevalência de 0,33% (1/301) cães positivos. Arcoverde et al. (1994) no município de Patos, obteve prevalência de 12,4% de cães positivos para microfilárias utilizando testes de esfregaço sanguíneo e Ramos & Souza (2018) que determinaram no mesmo município uma prevalência de 1,43% (2/140) no ano de 2018, através do exame da gota espessa e teste imunocromatográfico rápido. Os resultados do presente trabalho e pesquisas anteriores sugerem que apesar da região costeira apresentar condições epidemiológicas que favorecem a ocorrência dessa parasitose, na Paraíba, a prevalência desse parasito parece ser maior na região semiárida da Paraíba.

Segundo Alho et al. (2014), alguns fatores veem favorecendo o aumento e a ocorrência de infecção por *D. immitis* em regiões endêmicas e interioranas. Dentre esses a globalização, emergência de novas espécies de mosquitos vetores, resistência aos inseticidas, falta de controle dos hospedeiros sentinelas, alterações climáticas e ecológicas artificiais, onde a elevação das temperaturas, ocorrência de chuvas e a formação de “ilhas de calor” através da expansão urbanas, veem promovendo adaptação, desenvolvimento e multiplicação dos vetores, favorecendo assim a transmissão desta parasitose. Nesse estudo, embora as condições demográficas estudadas não apresentaram significância estatística, acredita-se que o município de Sousa apresenta fatores epidemiológicos demográficos que contribuem para a proliferação e manutenção de mosquitos responsáveis pela transmissão da doença, como o clima tropical e a presença de canal de esgoto a céu aberto cortando alguns bairros do município.

Chamou atenção que os bairros Angelim e Dr. Zezé apresentaram maior número de animais positivos. Entretanto, apenas no bairro Angelim foram observadas condições demográficas que provavelmente influenciaram a ocorrência da parasitose. Os cinco cães positivos do bairro Dr. Zezé, eram todos errantes, sugerindo que possivelmente a infecção tenha ocorrido em locais mais favoráveis para contaminação e posteriormente tenha ocorrido a migração para esse bairro.

A variável “situação do animal” foi considerada fator de risco para infecção por *D. immitis*, demonstrando alta prevalência da parasitose em cães errantes em comparação aos domiciliados. Resultados semelhantes foram observados por Labarthe et al. (2014), que

comparou o risco de o risco de infecção entre animais domiciliados e errantes, e observou taxa de positividade de 39,3% para cães errantes e 30,2% para domiciliados.

Leite et al., (2007) sugere que a densidade de população canina influencia na prevalência da *D. immitis*, sendo os cães errantes com maior risco da infecção, pois estes têm livre acesso as localidades do município e não possuem monitoramentos dos órgãos públicos no controle da população de cães de rua. Em razão disto, os resultados do presente tornam-se preocupantes, visto que, os cães errantes atuam como reservatórios da enfermidade com livre acesso aos bairros do município de Sousa, sem controle e tratamento dos portadores e infectando indiretamente outros cães, e possivelmente outros animais e humanos.

Os fatores individuais dos hospedeiros definitivos, como sexo, idade e raça em conjunto com os fatores extrínsecos podem influenciar na ocorrência da infecção (ALMEIDA et al., 2001). Observou-se que 20,3% dos animais positivos eram sem raça definida. Estes valores corroboram com Souza et al. (1997) e Almeida et al. (2001), que também não verificaram diferença estatística significativa entre a prevalência da infecção e as raças. Chamou atenção, que apesar dos resultados indicarem maior chance de infecção em animais SRD, a população canina avaliada foi maior para os mesmos, e possivelmente o município de Sousa tenha maior taxa criação de cães sem raça definida do que raças puras.

A idade não foi considerada um fator de risco, entretanto, apresentou diferença estática na análise univariada, onde 53 dos cães positivos foram considerados acima de 12 meses, condição ideal para período pré patente de desenvolvimento da microfilária.

Atualmente para profilaxia de *D. immitis*, são utilizadas vermífugos a base de dietilcarbamazina e agentes da família das lactonas macrocíclicas, sendo estes, que possuem uma eficácia terapêutica e profilática muito grande, pois interrompem o estágio larvar dois meses pós infecção e causam poucos efeitos adversos nos animais (MEIRELES et al., 2014).

Acredita-se que a utilização e controle de vermifugação em 16,9% (54/320) dos animais, das categorias: “sim, há 4 meses” e “sim, há mais de 4 meses” obteve êxito na prevenção das *D. immitis*, e por esta razão houve negatividade nos testes. No entanto, 4 animais positivos também tinham histórico de vermifugação, e em virtude disso, se questiona a veracidade de utilização de vermífugo pelos tutores destes animais, na utilização de vermífugo eficiente contra o verme ou na carga parasitária desses animais no período de aplicação.

A variável “exame clínico” na categoria de alterações cardíacas, demonstrou-se como um possível fator de risco para infecção por *D. immitis*, onde, arritmia (13/320) e sopro cardíaco (1/320) foram os sinais clínicos observados nos exames, ambos, relacionados com

uma possível fisiopatogenia de *D. immitis*, representando um possível indicador clínico para a infecção.

A arritmia cardíaca foi o sinal clínico observado em maior número de animais, entretanto, nenhum desses cães apresentaram quadro clínico de dirofilariose. Acredita-se que esses animais possuíam infecção leve a moderada, uma vez que, cães portadores de alta carga parasitária, com o tempo e conforme o número de parasitos, pode causar uma falha do ventrículo direito por estenose, bloqueio e lesões vasculares ocasionando uma hipertrofia ventricular direita, que eventualmente pode se tornar insuficiência cardíaca direita (ZACHARY, 2018). Com a evolução do caso, os sinais clínicos inespecíficos são manifestados pelo animal, como tosse, intolerância a exercícios, dispnéia, ruídos cardíacos e pulmonares (ACHA & SZYFRES, 2003).

Em um estudo realizado por Ferreira (2015), que buscava analisar a utilidade de um d-ímero como método de diagnóstico de tromboembolismo pulmonar no tratamento de cães com dirofilariose cardíaca, observou-se avaliando clinicamente 19 animais com dirofilariose canina, que 73,7% (14/19) apresentavam sinais cardíacos ($p=0,120$), sendo especificamente 63,2% (12/19) com sopro cardíaco ($p=0,363$). O cão que apresentou sopro cardíaco (1/320), manifestava durante a avaliação clínica, apatia, emagrecimento e ruídos respiratórios. No entanto, não foi possível afirmar que o mesmo apresentava quadro de dirofilariose, necessitando assim, de realização de um exame clínico minucioso associado a utilização de mais exames complementares, a fim de descartar outras enfermidades com sintomatologia semelhante. Os demais cães que apresentaram alterações cardíacas, não demonstraram outros sinais clínicos que indicasse um possível quadro da enfermidade.

Os cães 8,10,17 e 21 (Tabela 04.) foram negativos no esfregaço sanguíneo, entretanto, demonstraram positividade em apenas uma lâmina no teste de Knott-modificado. Esse resultado foi esperado, uma vez que, o mecanismo de concentração das hemácias e microfilárias obtidos no teste de Knott, facilita sua pesquisa e identificação (NEWTON; WRIGHT, 1956). O esfregaço sanguíneo quando comparado a um teste de concentração, apresenta baixa sensibilidade (MORENO, 2015). Para identificação de microfilárias através de esfregaço sanguíneo é necessário infecção acima de 20 a 50 microfilárias por ml^{-1} (DILLON, 2007; SILVA & LANGONI, 2008).

Adicionalmente, a baixa carga parasitária circulante no momento da coleta, vermifugação recente e/ou infecção recente, podem também contribuir para a negatividade do teste de esfregaço sanguíneo e apenas uma lâmina positiva no teste de Knott-modificado.

Para o diagnóstico mais efetivo da infecção por *D. immitis* é fundamental o uso de exames sorológicos, como o Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) que demonstra alta sensibilidade (ROTH et al., 1993). O ELISA fornece mais segurança no diagnóstico desta parasitose do que o teste de Knott-modificado, isso porque, o mesmo não apresenta positividade em casos de cães parasitados por vermes adultos do mesmo sexo, em infecções recentes e em animais com sistema imune elevado ocultando a microfilaremia (FERNANDES et al., 1999). Por esta razão, acredita-se que a prevalência desta parasitose no município de Sousa deverá ser maior a partir da avaliação destes exames, complementando com a taxa de infecção oculta nestes animais.

Notou-se que a taxa de ocorrência da enfermidade encontrada não é compatível com a maioria das informações encontradas na literatura, quanto aos fatores ambientais e individuais dos cães, representando um estudo único e importante para região. Com o desenvolvimento desta pesquisa foi possível estabelecer os parâmetros e fatores de risco de ocorrência da infecção, estimulando com estes resultados o desenvolvimento de novas pesquisas na área, a fim de determinar formas de controle e profilaxia da parasitose.

6. CONCLUSÃO

Concluiu-se que o município de Sousa apresenta alta prevalência de *D immitis* em cães, com maior positividade em animais de rua, sendo considerada um fator de risco nesse estudo. Além disso, os sinais clínicos referentes a alterações cardíacas demonstraram também ser um fator de risco da infecção. Os bairros mais prevalentes neste estudo foram o Angelim e Doutor Zezé, sendo locais de maior risco de transmissão da parasitose. O teste de Knott modificado foi o método de maior positividade em comparação aos esfregaços sanguíneos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHA P. N.; SZYFRES B. Filariasis zoonóticas: Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3.ed., **Organización Panamericana de la Salud - OPS**, Washington, D.C., v.3, p. 284-291, 2003.
- AHID, S. M. M.; OLIVEIRA, R. L.; SARAIVA, L. Dirofilariose Canina na Ilha de São Luís, Nordeste do Brasil: zoonose potencial. **Caderno de Saúde Pública**, v.15, n.2, p.405-412, 1999.
- ALHO, A. M.; MEIRELES, J.; BELO, S.; CARVALHO, L. D. Dirofilariose canina e felina, uma parasitose em evolução (I)–etiologia, biologia e epidemiologia. **Clínica Animal**, v.2, p. 20-25, 2014.
- ALMEIDA, J. D. M.; FEITAS, F. L. C. Pesquisa de parasitos cardiovasculares em cães (*Canis familiaris*) no município de Carolina, estado do Maranhão, Brasil. **VIII Seminário de Iniciação Científica**, Universidade Federal de Tocantins – Campus Palmas, Palmas, 2012.
- ALMEIDA, L. M. M. Ocorrência de *Dirofilaria immitis* em cães no semiárido da Paraíba. **Trabalho de conclusão do curso**, Universidade Federal de Campina Grande - Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos, 2014.
- ALMEIDA, M. A. O.; BARROS, M. T. G.; SANTOS, E. P.; AYRES, M. C. C.; GUIMARÃES, J. E.; GONDIM, F. P. 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.
- ALVES, L. C.; SILVA, L. V. A.; FAUSTINO, M. A.; MCCALL, J. W.; SUPAKONDER, J. P.; LABARTHE, N. W.; SANCHEZ, M.; CAIRES, O. Survey of canine heartworm in the city of Recife, Pernambuco, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v.5, n.94, p. 587- 590, 1999.
- ARCOVERDE, M. C. P.; ARCOVERDE, F. A.; QUEIROGA, E.; DE BRITO, L. H. R. Prevalência de microfilária em cães no município de Patos no Estado da Paraíba. **Anais do Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária**, Olinda, p.210, 1994.
- BARBOSA, C.L.; ALVES, L.C. Dirofilariose canina: situação atual no Brasil. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, v.1, p.57-62, 2006.
- BOWMAN, D. D.; LYNN, R. C.; EBERHARD, M. L.; ALCARAZ, A. Parasitologia Veterinária de Georgis. 9 ed. **Elsevier**, 2010.
- BRITO, A. C.; VILA-NOVA, M. C.; ROCHA, D. A. M.; COSTA, L. G.; ALMEIDA, W. A. P.; VIANA, L. S.; LOPES, JR., R. R.; FONTES, G.; ROCHA, E. M. M.; REGIS, L. Prevalência da filariose canina causada por *Dirofilaria immitis* e *Dipetalonema reconditum* em Maceió, Alagoas, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.17, n.6, p.1497-1504, 2001.
- CANATTO, B. D.; SILVA, E. A.; BERNARDI, F.; MENDES, M. C. N. C.; PARANHOS, N. T.; DIAS, R. A. Caracterização demográfica das populações de cães e gatos supervisionados

do município de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 6, p. 1515-1523, 2012.

CARLOS, R. S. A.; MUNIZ-NETA, E. S.; SPAGNOL, F. H.; OLIVEIRA, L. L. S.; BRITO, R. L. L.; ALBUQUERQUE, G. R.; PALMOSNY, N. Frequência de anticorpos anti-*Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* e antígenos de *Dirofilaria immitis* em cães na microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.16, n.3, p.117-120, 2007.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Transmission of Parasitic Diseases**, 2012. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/parasites/transmission/index.html#tabs-2-4>>. Acesso em 16 de jan. 2019.

COMPANION VECTOR-BORNE DISEASES (CVBD). **Heartworm Disease**, 2006. Disponível em: <<http://www.cvbd.org/en/mosquito-borne-diseases/heartworm-disease/diagnosis/>>. Acesso em 07 de jan. 2019.

DILLON, R. Feline heartworm disease. **Cats get heartworms too!**, Auburn University. College of Veterinary Medicine, 2007.

DOHOO, I. R.; DUCROT, C.; FOURICHON, C.; DONALD, A.; HURNIK, D. 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.

FERNANDES, C. G. N.; MOURA, S. T.; DIAS, A. R.; VIEIRA FILHO, W. S. Ocorrência de dirofilariose canina na região da Grande Cuiabá, estado de Mato Grosso – Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.36, n.5, p.258-261, 1999.

FERREIRA, D. R. A.; BARBOSA, T. S.; CASTRO, A. U.; MARIZ, M. A. S.; SOARES, J. G.; TEIXEIRA, D. I. A.; ATHAYDE, A. C. R. Prevalência de infecções por filarídeos em cães de microrregiões de Natal, Brasil. **Ciência Animal**, v.14, n.2, p.111-115, 2004.

FERREIRA, J. P. C. Doseamento do d-dímero como método de diagnóstico de tromboembolismo pulmonar em cães com dirofilariose cardíaca em Portugal. **Tese de Doutorado**, Universidade de Lisboa - Faculdade de Medicina Veterinária, 2015.

FRONDANA, L.; FABRICIO, A. A.; LEITE, L. C.; MILCZEWSKI, V.; MEDEIROS, F. D. Ocorrência de microfilaremia em cães domiciliados de Joinville - Santa Catarina. **Resumo expandido do V Evento de Pesquisa e Extensão - VI MCT**, Araquari, 2015.

GENCHI, C.; VENCO, C.; GENCHI, M. Guideline for the laboratory diagnosis of canine and feline *Dirofilaria*. **Mappe Parassitologiche**, v.8, p. 178-182, 2007.

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

IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 2016. Sousa, Paraíba. **IBGE**, 2017. Disponível em: <<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pb/sousa>>. Acesso em 04 de mar. de 2018.

INMET, Instituto Nacional de Meteorologia, 2019. Sousa, Paraíba. **INMET**, 2019.

Disponível em:

<<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=tempo2/verProximosDias&code=2516201>>.

Acesso em 04 de mar. de 2018.

LABARTHE, N. V.; PAIVA, J. P.; REIFUR, L.; MENDES-DE-ALMEIDA, F.; MERLO, A.; PINTO, C. J. C.; JULIANI, P. S.; ALMEIDA, M. A. O.; ALVES, L. C.. 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. *Dirofilaria immitis*: Um desafio permanente. **Anais da 66ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência**, Sociedade Brasileira para o Progresso Ciência, Rio Branco - Acre, 2014.

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.; NAVARRO, M. A. S.; LUZ, E.; MOLINARI, H. P.; CÍRIO, S. M.; MARINONI, L. P.; DINIZ, J. M. F.; LEITE, S. C.; LUNELLI D.; SCALET, W. R. Prevalência de *Dirofilaria immitis* (LEIDY, 1856) em cães do canil municipal de Guaratuba, Paraná, Brasil. **Estudos de Biologia**, v.29, n.66, p.73-79, 2007.

MATIAS, I. C.; SOARES, L. A.; NASCIMENTO, M. E. L.; MENDONÇA, I. P.; NOGUEIRA, M. R. L.; SILVA, N. A.; MOURA, M. F. N.; RAMOS, M. E. O.; VILELA, V. L. R.; MAIA, L. A. *Dirofilaria immitis* em cão no sertão paraibano: achado de necropsia. **Resumo simples da IV Semana Acadêmica de Medicina Veterinária**, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2016.

MCCALL, J.W.; GENCHI, C.; KRAMER, L.H.; GUERRERO, J.; VENCO, L. Heartworm disease in animals and humans. **Advances in Parasitology**, v. 66, p. 193–285, 2008.

MCTIER, T. L.; SIX, R. H.; PULLINS, A.; CHAPIN, S.; MCALL, J. W.; RUGG, D.; MAEDER, S. J.; WOODS, D. J. Efficacy of oral moxidectin against susceptible and resistant isolates of *Dirofilaria immitis* in dogs. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 482, p. 39-45, 2017.

MEIRELES, J.; PAULOS, F; SERRÃO, I. *Dirofilariose* em cães e gatos. **Revista Portuguesa em Ciência Veterinária**, v.109, n.70-78, p.591-592, 2014.

MONTOYA-ALONSO, J. A.; CARRETÓN, E.; SIMÓN, L.; GONZÁLEZ-MIGUEL, J.; GARCÍA-GUASCH, L.; MORCHÓN, R.; SIMÓN, F. Prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs from Barcelona: validation of a geospatial prediction model. **Veterinary Parasitology**, v. 212, n. 3-4, p. 456-459, 2015.

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

NELSON, C. T. AHS Heartworm Hotline: Canine Heartworm Disease, Principles of Treatment. **Today's Veterinary Practice**, 2015.

- NELSON, R. W.; COUTO, C. G. Medicina Interna de pequenos animais. 4 ed. **Elsevier**, Rio de Janeiro, p. 1504, 2015.
- NEWTON, M.D.; WRIGHT, L.M. The occurrence of a dog filariid other than *Dirofilaria immitis* in the United States. **Journal of Parasitology**, v.42, p.246-58, 1956.
- OGAWA, G. M. Prevalência de *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) em cães e sua ocorrência em mosquitos (*Diptera, Culicidae*) na cidade de Porto Velho, Rondônia, Brasil. **Tese de Doutorado em Biologia da Relação Patógeno-Hospedeiro**. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.
- OGAWA, G. M.; CRUZ, E. N. D.; CUNHA, P. N. A.; CAMARGO, L. M. A. Canine heartworm disease in Porto Velho: first record, distribution map and occurrence of positive mosquitoes. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 4, p. 559-564, 2013.
- RAMOS, L. C.; SOUZA, A. P. Avaliação clínica e laboratorial de cães com dirofilariose no município de Patos – PB. **XV Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Campina Grande**, Campina Grande, 2018.
- ROTH, L.; BROWN, L.; BRUM, S.; FOSTER, L.; NELSON, M.; RECZECK, D.; SHANTZ, D. Comparison of three diagnostic tests for *Dirofilaria immitis* in a low-incidence area. **Journal of Veterinary Diagnosis Investigation**, v.5, p.647-648, 1993.
- SANTOS, R. L.; ALESSI, A. C. Patologia Veterinária. 2 ed. **Editora Roca**, São Paulo, 2016.
- SILVA, A. M. A.; ALMEIDA, K. S.; SOUSA, J. J. N.; FREITAS, F. L. C. Dirofilariose Canina no Município de Coari, Amazonas, Brasil. **Archives of Veterinary Sciences**, v.13, n.2, p.145-150, 2008.
- SILVA, A. N. F.; ABOUD, L. C. S. Dirofilariose no município do Rio de Janeiro: uma zoonose emergente e negligenciada. **Academia Revista Científica da Saúde**, v.2, n.2, 2017.
- SILVA, P. L.; LEE, D. A. B.; NASCIMENTO, Y. S.; CAMPOS, B. L. S.; SANTOS, J. P.; LIMA, V. F. S. Frequência de filarídeos sanguíneos em cães do estado de Sergipe, nordeste do Brasil. **38º Congresso Brasileiro da Anclivepa**, Recife, 2017.
- SILVA, R. C.; LANGONI, H. Dirofilariose. Zoonose emergente negligenciada. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.5, n.39, p. 1614-1623, 2009.
- SIMÓN, F.; SILES-LUCAS, M.; MORCHÓN, R.; GONZÁLEZ-MIGUEL, J.; MELLADO, I.; CAR-RETÓN, E.; MONTOYA-ALONSO, J. A. Human and animal Dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. **Clinical Microbiology Reviews (CMR)**, v. 25, n. 3, p. 507-544, 2012.
- SOUZA, N. F.; BENIGNO, R. N. M.; FIGUEIREDO, M. J. F. M. Prevalência de *Dirofilaria immitis* no município de Belém, Estado do Pará, com base na microfilaria. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.6, n.1, p.83-86, 1997.
- SOUZA, N.F.; LARSSON, M. H. M. A. Frequência de dirofilariose canina (*D. immitis*) em algumas regiões do estado de São Paulo por meio da detecção de antígenos

circulantes. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n.3, p. 321-325, 2001.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. L. Parasitologia Veterinária. 4 ed. **Editora Guanabara Koogan**, Rio Janeiro, 2017.

THRUSFIELD, M. Epidemiologia veterinária. 2. ed. **Roca**, São Paulo, 2004.

VIDAL, I. F. Dirofilariose canina no litoral da Paraíba. **Tese de Doutorado em Medicina Veterinária**, Universidade Federal de Campina Grande - Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Patos, 2014.

ZACHARY, J. F. Bases da Patologia Veterinária. 6. ed. **Elsevier**, Rio de Janeiro, 2018.

ZOETIS. ProHeart SR-12 – Folheto técnico. **Zoetis Brasil**. 2012. Disponível em: < https://www.zoetis.com.br/_locale-assets/arquivos/animais-de-companhia/biblioteca/materiais-tecnicos-de-produtos/proheart-sr-12-folheto-tecnico.pdf >. Acesso em 03 de mar de 2019.

APÊNDICE A – Questionário epidemiológico



Ficha de Identificação de Cães – Sousa PB

Identificação do LPA: _____ / _____

DADOS DO ANIMAL E PROPRIETÁRIO			
ANIMAL DOMICILIADO (<input type="checkbox"/>)		ANIMAL ERRANTE (<input type="checkbox"/>)	
Nome/Identificação do animal:			
Raça:	Sexo:	Idade:	
Cor da pelagem:	Comprimento da pelagem:		
Proprietário:		Telefone:	
Endereço:		Bairro:	
INFORMAÇÕES SOBRE O ANIMAL E AMBIENTE			
Vacinas: (<input type="checkbox"/>) Antivirais (<input type="checkbox"/>) Antirrábica (<input type="checkbox"/>) Leishmaniose		Vermifugação (Qual/Quando):	
FC: bpm	FR: mpm	Hidratação: (<input type="checkbox"/>) H (<input type="checkbox"/>) D	Mucosas:
Pulso:		Linfonodos:	
Outras observações (Alimentação/Achados durante o exame clínico):			
Doenças e tratamentos anteriores:			
Histórico de viagens (Lugar, época e frequência):			
Há outros animais em casa? (<input type="checkbox"/>) Sim (<input type="checkbox"/>) Não		Quantos?	Espécies:
Há outros animais doentes? (<input type="checkbox"/>) Sim (<input type="checkbox"/>) Não			
Ambiente próximo: (<input type="checkbox"/>) Lixo/entulhos (<input type="checkbox"/>) Vegetação (<input type="checkbox"/>) Água acumulada/esgotos a céu aberto (<input type="checkbox"/>) Outros:			
Há possíveis focos de mosquito? (<input type="checkbox"/>) sim (<input type="checkbox"/>) não			
Controle do mosquito: (<input type="checkbox"/>) sim (<input type="checkbox"/>) não			
Quais?			
COLETA E RESULTADO			
Coletado: (<input type="checkbox"/>) Sangue com EDTA (<input type="checkbox"/>) Sangue sem EDTA (<input type="checkbox"/>) Sangue periférico			Hora da coleta:
Exames realizados: (<input type="checkbox"/>) Gota espessa – Ponta de orelha (<input type="checkbox"/>) Esfregaço sanguíneo de sangue fresco (<input type="checkbox"/>) Knott-modificado			
Resultado: (<input type="checkbox"/>) Positivo / Quais? _____		(<input type="checkbox"/>) Negativo	
			Resultado ao Proprietário: (<input type="checkbox"/>) Sim