



UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

ESTUDO RETROSPECTIVO DA DIROFILARIOSE CARDIOPULMONAR NUMA  
POPULAÇÃO DE CANÍDEOS DO LITORAL ALENTEJANO, PORTUGAL

SÉRGIO HENRIQUE DE FARIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Fernando Jorge Sillvano Boinas  
Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho  
Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

ORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2015  
LISBOA

---





UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

ESTUDO RETROSPECTIVO DA DIROFILARIOSE CARDIOPULMONAR NUMA  
POPULAÇÃO DE CANÍDEOS DO LITORAL ALENTEJANO, PORTUGAL

SÉRGIO HENRIQUE DE FARIA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Fernando Jorge Sillvano Boinas  
Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho  
Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

ORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho

2015  
LISBOA

---

## **Agradecimentos**

Ao Professor Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho, que gentilmente aceitou ser o meu orientador sem nos conhecermos bem e que gradualmente me impressionou com o seu exemplo do que é ser um cientista e um professor de corpo e alma. Agradeço também ao Professor Luís Carvalho, pelo privilégio de ter escolhido a sua brilhante Cadeira Opcional “Medicina dos Animais Silvestres e da Conservação” e pelo carinho e apoio nos momentos difíceis que tive durante este MIMV.

Quero também agradecer ao Dr. Telmo Nunes, que pacientemente me auxiliou em partes da execução deste trabalho que exigiam conhecimentos que eu não dominava e aqui manifesto a minha opinião de que a Medicina Veterinária tem sorte em possuir profissionais como o Dr. Telmo Nunes, que gostam e dominam conhecimentos de valor crucial para o andamento do mundo científico e que uma parcela considerável dos Veterinários não tem aptidão para tal.

Aos meus pais, que sofrem com a distância e a falta do filho, que desejavam que eu morasse mais perto, mas aceitam a minha opção de vida e esforçam-se para me oferecerem, na medida do possível, o seu apoio.

Aos meus sogros pela longa hospedagem e enorme ajuda nos cuidados com os meus filhos. À minha irmã, companheira de decisão em deixar o Brasil e vir para a Europa há dez anos atrás. Pelo estímulo em seguir adiante, não desistir e esperança de que em breve, se for da vontade dos Céus, que nós possamos morar mais próximo um do outro e presenciarmos os nossos filhos a crescerem juntos.

Ao meu cunhado Eduardo Cesari, por dividir comigo e ajudar-me com seu companheirismo, a superar as dificuldades de morarmos longe do nosso país e também pela ajuda na elaboração desta dissertação.

Ao meu irmão Ju e a Maria, pelas orações e apoio incondicional.

Ao Tio Claret, meu amado tio e padrinho. Por todo apoio e estímulo durante todos os anos de minha vida, em especial nestes últimos dez anos.

Ao Peter Culpin BSc MA VetMB MRCVS que nestes meus dez anos longe do Brasil, foi um anjo da guarda em minha vida, com esforços enormes a ajudar-me a vencer difíceis obstáculos, tornando-se para mim um exemplo de que o ser humano tem um imenso potencial para deixar este mundo melhor e de uma pessoa que serei grato pelo resto de minha vida. *“Thank you Peter! Thank you for all of your kind support in my difficult time. Thank you for everything you did for me. You can be sure that if I have been reaching my goals, you have a crucial role in it. I will always be grateful for everything you did for me. You are a star”*

Ao Zé, a Cristininha e a sua maravilhosa família. Pelo carinho, simpatia e acolhimento durante as semanas das Cadeiras Opcionais do MIMV e pelas divertidas, barulhentas e inesquecíveis jantaras diárias.

À Clínica Veterinária de Santo André, pela autorização do uso de seus dados para elaboração desta dissertação e pela flexibilidade da gerência durante a elaboração da mesma, ciente de meu trabalho a tempo inteiro e as dificuldades intrínsecas a isto.

À colega e amiga Marta Horta, pela paciência, boa vontade e simpatia em ajudar-me a nas incompatibilidades do Português abrigado e do original.

### **Agradecimentos especiais**

O meu agradecimento mais profundo, só poderia ser para uma pessoa: a minha esposa Andréa Nascimento de Faria. Minha fiel companheira de luta, meu alicerce emocional, coluna principal de sustentação de todo o peso que foi escrever esta dissertação e apoiar-me incondicionalmente. Ela para mim é a prova definitiva da importância da unidade familiar, do companheirismo e do papel que uma mulher tem na vida de um homem. Obrigado meu amor.

Aos meus filhos, que pela pouca idade, ainda não têm noção de que eles foram os maiores estímulos a todo o meu empenho para a execução deste trabalho. Um agradecimento especial a eles que tiveram que aceitar a nossa separação por sofridos meses para que fosse possível a elaboração deste trabalho e que um dia eles saibam que a saudade e a ansia pelo reencontro, foram fundamentais para que cada segundo do meu tempo disponível fosse dedicado a esta dissertação.

## Resumo

Faria, S. (2015) **ESTUDO RETROSPECTIVO DA DIROFILARIOSE CARDIOPULMONAR NUMA POPULAÇÃO DE CANÍDEOS DO LITORAL ALENTEJANO, PORTUGAL**

A Dirofilariose Cardiopulmonar Canina (DCC) é uma zoonose de distribuição global, causada pelo nemátode *Dirofilaria immitis* e transmitida pela picada de mosquitos hematófagos. Os hospedeiros definitivos mais comuns são os membros da Ordem Carnívora, em especial os cães. Nesta dissertação procurou-se fazer uma análise retrospectiva de 364 cães testados para DCC numa Clínica Veterinária no Alentejo Litoral, em Portugal, durante um período de 10 anos.

Foi encontrado um agregado espacial (*cluster*) e também foram colhidos dados para serem efectuadas observações sobre os tipos de ocupação do solo nas áreas de maiores prevalências.

A prevalência da DCC na zona do estudo foi de 22,8% e em algumas localidades chegou até 47,6%. Foi sugerida a possibilidade de as lagoas, os arrozais e alguns outros tipos de ocupação do solo da zona do trabalho poderem desempenhar papéis importantes na epidemiologia local da doença em estudo.

O perfil do cão doente com DCC esteve em conformidade com outros trabalhos, que referem que, apesar de cães machos e de maior porte serem os mais prevalentes, estas características podem dever-se mais ao estilo de vida, do que ao tamanho e ao sexo do canídeo. O mesmo foi sugerido com relação às raças, ou seja, as aptidões das mesmas podem desempenhar papéis mais relevantes nas prevalências. As raças com maiores prevalências foram Cão de Pastor Alemão, Perdigueiro Português, Podengo Português Anão e Cão da Serra da Estrela. Entre os cães de raça cruzada, a prevalência dos cães de porte pequeno tiveram destaque sobre os demais tamanhos. Também se observou que os cães mais velhos foram mais acometidos.

Os sinais clínicos mais frequentemente encontrados nos cães doentes com suspeita de DCC foram cansaço, inapetência, sopro cardíaco e tosse. Nos cães sem suspeita de DCC os sinais clínicos mais observados foram diarreia, conjuntivite e dermatite.

**Palavras-chave:** Dirofilariose cardiopulmonar canina, *Dirofilaria immitis*, prevalência, GIS, Vila Nova de Santo André, Portugal

## Abstract

### Faria, S. (2015) **RETROSPECTIVE STUDY OF CARDIOPULMONARY DIROFILARIASIS IN A DOG POPULATION IN THE ALENTEJO COASTAL REGION OF PORTUGAL**

Canine cardiopulmonary dirofilariasis caused by the nematode *Dirofilaria immitis*, is a zoonosis transmitted by the bite from hematophagous mosquitoes. It is a disease of worldwide distribution and the definitive hosts are the members of the Carnivore family, particularly the dog. This thesis is a retrospective analysis of 364 dogs tested for CCD over a ten year period in a veterinary clinic in Alentejo, on the Portuguese coast.

In the area studied, a cluster of cases was identified and information collected on the types of land use in which the highest numbers of diseased dogs were found.

The prevalence of CCD in the region studied was 22.8 per cent and in some areas was as high as 47.6 per cent. It is suggested that lakes, rice crops and other types of land use could play an important role in the epidemiology of CCD in this region.

The profile of the 'sick' dog was in compliance with other studies, and the suggestion was that although larger male dogs show the highest prevalence, this could be as a result of lifestyle rather than gender and/or size. Breeds that were most affected were the German Shepherd, Portuguese Pointer, Small Portuguese Podengo, and Estrela Mountain Dog. Of the crossbreed dogs, smaller dogs showed a higher prevalence than larger ones.

The study also showed a higher prevalence of the disease in older dogs.

The most important clinical signs shown in symptomatic dogs were lethargy, inappetence, heart murmur and coughing. In the asymptomatic dogs, the most important clinical signs shown were diarrhea, conjunctivitis and dermatitis.

**Keywords:** Canine cardiopulmonar dirofilariasis, *Dirofilaria immitis*, prevalence, GIS, Vila Nova de Santo Andre, Portugal

## Índice

1. Introdução.....	1
2. Revisão Bibliográfica .....	2
2.2. <i>Wolbachia pipientis</i> .....	5
2.3. Epidemiologia.....	5
2.4. Prevalência da Dirofilariose Cardiopulmonar Canina.....	7
2.5. Fisiopatologia/sintomatologia .....	7
2.6. Diagnóstico .....	9
2.6.1. Exames laboratoriais .....	9
2.6.1.1. Detecção das microfilárias .....	9
2.6.1.1.1. Exame da gota fresca .....	9
2.6.1.1.2. Técnicas de enriquecimento .....	9
2.6.1.2. Teste de antigénio .....	10
2.6.1.3. Teste de anticorpos .....	11
2.6.1.4. <i>Polymerase Chain Reaction (PCR)</i> .....	11
2.6.2. Exames complementares.....	12
2.6.2.1. Avaliação radiológica.....	12
2.6.2.2. Avaliação ecocardiográfica.....	12
2.6.2.3. Biomarcadores .....	13
2.6.2.4. Hemograma e análises bioquímicas.....	13
2.7. Tratamento.....	14
2.7.1. Tratamento médico .....	14
2.7.1.1. A medicação adulticida.....	15
2.7.1.2. A doxiciclina .....	15
2.7.1.3. Os corticosteróides.....	15
2.7.1.4. A medicação microfilaricida .....	16
2.7.2. Tratamento cirúrgico .....	16
2.8. Profilaxia .....	16
2.9. Novas linhas de investigação .....	18
3. Objectivos.....	18
4. Material e Métodos .....	18
4.1. Área Geográfica de Estudo .....	18
4.2. Amostragem.....	20
4.3. Testes de microfilarémia e <i>kits</i> comerciais usados no diagnóstico dos cães positivos para a DCC .....	22
4.4. Georreferenciação dos casos e pesquisa de zonas de maior prevalência da doença. ....	22
5. Resultados.....	24

5.1. Resultados obtidos na totalidade dos cães testados, negativos e positivos para a DCC .....	24
5.2. Resultados obtidos nos cães positivos para a DCC.....	25
5.2.1. Distribuição geográfica dos cães.....	25
5.2.2. Resultados das características morfométricas e clínicas da população canina amostrada.....	31
6. Discussão .....	36
6.1. Aspectos gerais .....	36
6.2. Zonas afectadas.....	37
6.3. Características morfométricas e clínicas da população canina amostrada .....	39
6.3.1. Sexo .....	39
6.3.2. Peso .....	39
6.3.3. Sexo x peso .....	40
6.3.4. Idade.....	40
6.3.5. Sexo x idade .....	40
6.3.6. Raças.....	40
6.3.6.1. Cães de raças puras.....	40
6.3.6.2. Cães de raça cruzada.....	41
6.3.7. Sintomas.....	42
6.3.7.1. Considerações iniciais .....	42
6.3.7.2. Sintomas nos cães positivos para DCC do grupo “positivos com suspeita” ..	43
6.3.7.3. Sintomas nos cães positivos para DCC do grupo “positivos sem suspeita” ..	44
7. Conclusão.....	45
Referências Bibliográficas.....	46

## Índice de Figuras

Figura 1 - <i>D. immitis</i> adultas. ....	2
Figura 2 - Radiografia torácica de um humano adulto com um nódulo pulmonar – “ <i>coin lesion</i> ” causada por <i>D. immitis</i> .....	3
Figura 3 - Tomografia computadorizada de um humano adulto com um nódulo pulmonar causado por <i>D. immitis</i> . ....	3
Figura 4 - Larva de <i>D. immitis</i> no interior do globo ocular de um humano adulto. ....	3
Figura 5 - Ciclo de vida do <i>D. immitis</i> .....	4
Figura 6 - Mosquito hematófago fêmea <i>Culex pipiens</i> transmissor de <i>D. immitis</i> .....	6
Figura 7 - Cão com ascite, um dos sintomas da DCC.....	8
Figura 8 - Microfilária de <i>D. immitis</i> num esfregaço de sangue fresco de um cão. Aumento de 100x .....	9
Figura 9 - Padrões de manchas ácido-fosfatase positivas em microfilárias de diferentes espécies. ....	10
Figura 10 – Radiografia torácica ( projecção laterolateral direita) de um cão com DCC.....	12
Figura 11 – Radiografia torácica ( projecção dorsoventral) de um cão com DCC. Note-se o aumento do coração direito com silhueta cardíaca em D invertido. ....	12
Figura 12 - Imagem ecocardiográfica de <i>D. immitis</i> no coração de um cão. ....	13
Figuras 13 e 14 – Lagoa de Santo André. ....	19
Figura 15 – Lagoa de Melides. I.....	19
Figuras 16 e 17 – Mapas da área geográfica com as localidades abrangida pelo estudo. O primeiro, uma visualização da área mais aproximada. No segundo, mais distante. ....	20
Figura 18 – Testes comerciais usados nos cães do trabalho. À esquerda o Witness® Dirofilaria e à direita o DFV Test® Dirofilaria. ....	22
Figura 19 - <i>Cluster</i> encontrado na avaliação realizada pelo programa <i>Spatial Scan Statistics</i> com valores positivos para DCC acima do esperado.....	26
Figura 20 - Carta <i>Corine Land Cover</i> 2006 (CLC) da parte norte da região em estudo.....	27
Figura 21 - Carta CLC da parte central da região em estudo. ....	28
Figura 22 - Carta CLC da parte este da região em estudo. ....	29
Figura 23 - Carta CLC da parte sul da região em estudo. ....	30

## Índice de Tabelas

Tabela 1 - Tempos de maturação larvar durante o ciclo de vida do <i>D. immitis</i> .....	5
Tabela 2 - Classificação de animais quanto ao risco de ocorrência de complicações secundárias à terapêutica da DCC. ....	14
Tabela 3 - Protocolo terapêutico recomendado pela AHS.....	17
Tabela 4 - Número e percentagem de localidades com os tipos de ocupação do solo nas proximidades das localidades dentro do cluster.....	24
Tabela 5 - Localidades e seus respectivos Concelhos envolvidos no estudo, número de cães estudados por localidade e número de cães positivos por localidade. ....	24
Tabela 6 - Prevalência da DCC nos três Concelhos envolvidos no estudo. ....	25
Tabela 7 - Localidades envolvidas no estudo onde houveram cães positivos, número de testes realizados, número e percentagem de cães positivos. ....	25
Tabela 8 - Prevalência da DCC nos grupos de animais de acordo com a classe de peso. ...	31
Tabela 9 - Prevalência da DCC nos grupos de cães de acordo com a faixa etária. ....	31
Tabela 10 - Prevalência da DCC nos grupos de cães de acordo com o sexo. ....	31
Tabela 11 - Prevalência da DCC nos grupos de cães de acordo com o sexo e peso.....	32
Tabela 12 - Prevalência da DCC nos grupos de cães de acordo com o sexo e faixa etária. ...	33
Tabela 13 - Raças dos cães positivos para DCC do estudo.....	33
Tabela 14 - Prevalência da DCC nos cães do estudo de acordo com a sua classe de peso e o facto de serem de raça pura ou raça cruzada. ....	34
Tabela 15 - Prevalência da DCC nos grupos de cães positivos com suspeita, positivos sem suspeita e positivos sem dados. O grupo dos positivos sem dados, com cães positivos para a DCC, porém sem história clínica nos arquivos da CVSA.....	34
Tabela 16 – Sinais clínicos observados nos cães positivos para a DCC nos grupos positivos com suspeita, positivos sem suspeita e positivos sem dados. ....	35

## Lista de Abreviaturas

+ – Mais  
> – Maior que  
< – Menor que  
≤ – Menor ou igual a  
% – Percentagem  
µg – Micrograma  
AHS - *America Heartworm Society*  
ATP - Adenosina Trifosfato  
BID - *bis in die*, duas vezes ao dia  
CLC - *Corine Land Cover*  
CVSA - Clínica Veterinária de Santo André  
VNSA - Vila Nova de Santo André  
DC - Dirofilariose Cardiopulmonar  
DCC - Dirofilariose Cardiopulmonar Canina  
DFV - (*Group*) *Divisa Farmacovic*  
DV - Dorso ventral  
ELISA - Ensaio imuno enzimático (*enzyme linked immunosorbent assay*)  
EOD - dia sim dia não (*every other day*)  
EUA - Estados Unidos da América  
FMV-UL – Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa  
IC - intervalo de confiança  
ICNF - Instituto de Conservação da Natureza e Florestas  
IM - Intramuscular  
IV - Intravenosa  
kg - Quilograma  
LA - Longa Acção  
LM - Lactona Macroclícica  
L1 - primeiro estágio larvar  
L2 - segundo estágio larvar  
L3 - terceiro estágio larvar  
L4 - quarto estágio larvar  
L5 - quinto estágio larvar  
Mg - Miligrama  
Nº - número  
P - valor de probabilidade  
PCR - Reacção em cadeia da polimerase (do inglês, “*polymerase chain reaction*”)  
PO - *Per os*  
R - Marca Registada  
SC - Subcutânea/o  
SVC – Síndrome da veia cava  
TKM -Técnica de *Knott* Modificada  
TFA- Técnica da Fosfatase Ácida  
TM - Marca registada (*Trade Mark*)  
TP - Tromboembolismo Pulmonar  
USA - Estados Unidos da América (*United States of America*)  
VNSA - Vila Nova de Santo André



## **1. Introdução**

O estágio foi desenvolvido na Clínica Veterinária de Santo André (CVSA), na Vila Nova de Santo André (VNSA), no Baixo Alentejo, em Portugal, no período de 1 de Outubro de 2014 a 31 de Março de 2015. O estagiário e autor desta dissertação é funcionário na mesma clínica onde o estágio foi desenvolvido. Ele foi admitido como Médico Veterinário em Março de 2010, assumindo a responsabilidade pelos atendimentos em horário normal e de urgência, continuando a ser funcionário da mesma até ao presente momento.

A escolha do tema da dissertação aconteceu gradualmente, antes mesmo da decisão do autor deste trabalho em fazer o Mestrado Integrado em Medicina Veterinária (MIMV) na FMV-UL. A ideia iniciou-se com a percepção de uma aparentemente elevada casuística de Dirofilariose Cardiopulmonar Canina (DCC) na clínica e também um aparente aumento do conhecimento da população local com relação a esta doença. Isso despertou o interesse do autor por esta patologia no seu dia-a-dia, visto que ele já vinha a trabalhar em clínica de pequenos animais há aproximadamente vinte anos, mas nunca numa zona com tantos casos de DCC. Além do interesse pela doença presente no seu quotidiano, o autor acredita na importância da DCC como sendo um possível indicador do referido aumento das doenças transmitidas por vectores nos últimos tempos (Githeko, Lindsay, Confalonieri, & Patz, n.d.; Fernando Simón et al., 2012) e também na sua importância como uma zoonose emergente (Silva & Langoni, 2009; Fernando Simón et al., 2012; Theis, 2005) a ser levada em consideração nos atendimentos de saúde da população local.

Quando o autor decidiu fazer o MIMV, a DCC já estava escolhida como a doença a ser estudada e algumas ideias surgiram sobre o que poderia ser feito. Entre algumas possibilidades, com novas ideias a surgir e outras a serem descartadas, o autor verificou que no sistema informático da clínica havia o registo de todos os pacientes testados para DCC. E assim o tema foi escolhido com a ideia de ser realizado um estudo retrospectivo da prevalência da doença nos cães testados na clínica e que fossem moradores na proximidade da mesma.

Estabeleceu-se um período compreendido por 10 anos – Janeiro de 2004 e Dezembro de 2013 – e o trabalho foi, então, desenvolvido, compreendendo a análise da população canina consultada e do seu local de origem para uma melhor caracterização epidemiológica da mesma.

Com este trabalho pretende-se realizar uma caracterização local e regional da DCC, assim como permitir que mais trabalhos com esta metodologia possam ajudar à sua melhor prevenção a nível nacional.

## 2. Revisão Bibliográfica

### 2.1. Morfologia e ciclo biológico

O nemátode *Dirofilaria immitis* é um helminte transmitido pela picada de mosquitos e teve o seu primeiro relato em 1847, pelo médico Osborne, no periódico *The Western Journal of Medicine and Surgery* (Silva & Langoni, 2009), sendo vulgarmente conhecido como "Verme do Coração". Apesar deste nome, a principal localização dos nemátodes adultos, onde os primeiros danos são causados pela doença no cão, são as artérias pulmonares. Desta forma, a doença que é designada como "Verme do Coração", deveria na verdade ser considerada uma doença pulmonar, pois somente nos seus estágios mais adiantados envolvem adicionalmente o coração (Figura 1) (Montoya-Alonso & Gómez, 2012).

Os hospedeiros definitivos são animais da Ordem Carnívora, especialmente os da família Canidae. Outras famílias também

podem ser afectadas, como, por exemplo, os Felidae, Mustelidae, Phocidae e Otariidae, mas nestes animais o período de microfilarémia (período em que o parasita no seu estágio de transmissibilidade ao mosquito persiste no hospedeiro definitivo), é transitório e curto, se comparado com o dos Canídeos, pelo que a sua importância epidemiológica é bem menor (C Atkins, 2010; Bautista, Rojo Vásquez, & Guerrero, 1998; McCall & Guerrero, 2010).

No homem, pode haver transmissão dos parasitas, porém, pelo facto de ser um hospedeiro aberrante, as fases larvares não conseguem alcançar o seu alvo e morrem, podendo causar nódulos pulmonares benignos (Figuras 2 e 3) (Silva & Langoni, 2009). Há também relatos de larvas de *D. immitis* noutros tecidos, como, por exemplo, o interior do globo ocular, podendo alcançar dimensões consideráveis, causando dor, desconforto e danos de gravidade variada no olho afectado, tanto por trauma físico, como por reacções inflamatórias (Figura 4).

O *D. immitis* é um helminte Nematóide pertencente à classe Secernentea, ordem Spirurida, superfamília Filarioidea e família Onchocercidae (Bowman & Atkins, 2009).

É um parasita delgado e de corpo filiforme. O dimorfismo sexual pode ser caracterizado pela maior dimensão da fêmea relativamente ao macho, podendo a fêmea adulta medir entre 250 e 310 mm de comprimento e 1 a 1,3 mm de largura e o macho entre 120 e 200 mm de comprimento e 0,7 a 0,9 mm de largura (Manfredi, Cerbo, & Genchi, 2007).

Figura 1 - *D. immitis* adultas. Foto original.

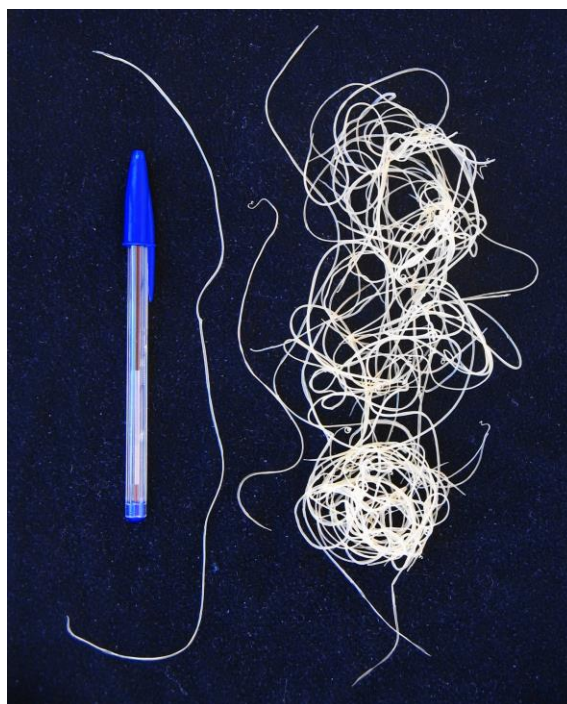
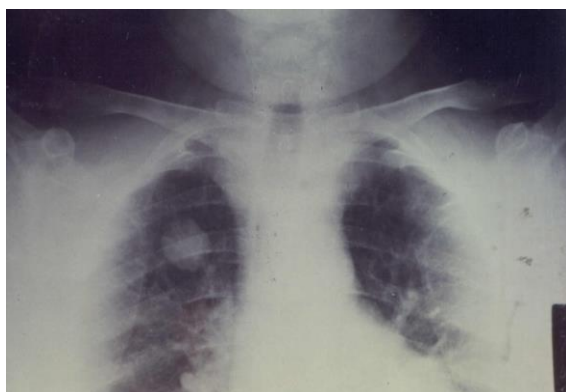


Figura 2 - Radiografia torácica de um humano adulto com um nódulo pulmonar – “coin lesion” causada por *D. immitis*.



Fonte: adaptado de <https://web.stanford.edu/class/humbio103/ParaSites2001/dirofilariasis/Clinical.html>; acessado em Fev 02, 2015.

Figura 3 - Tomografia computadorizada de um humano adulto com um nódulo pulmonar causado por *D. immitis*.



Fonte: adaptado de <https://web.stanford.edu/class/humbio103/ParaSites2001/dirofilariasis/Clinical.html>; acessado em Fev 02, 2015.

Figura 4 - Larva de *D. immitis* no interior do globo ocular de um humano adulto.



Fonte: adaptado de <https://www.youtube.com/watch?v=ZBdLnAkFjJA>; acessado em Fev 02, 2015.

Também a extremidade caudal é diferente, sendo espiralada nos machos e arredondada nas fêmeas.

As fêmeas são ovovivíparas e eliminam para a circulação sanguínea do hospedeiro pré-larvas L1, chamadas microfírias. As L1 medem 218-340 x 4.5-7.3  $\mu\text{m}$ , não possuem bainha e são fusiformes, com a extremidade cefálica mais estreita que o corpo e a cauda longa, pontiaguda e recta (K.-H. Song, Tanaka, & Hayasaki, 2009).

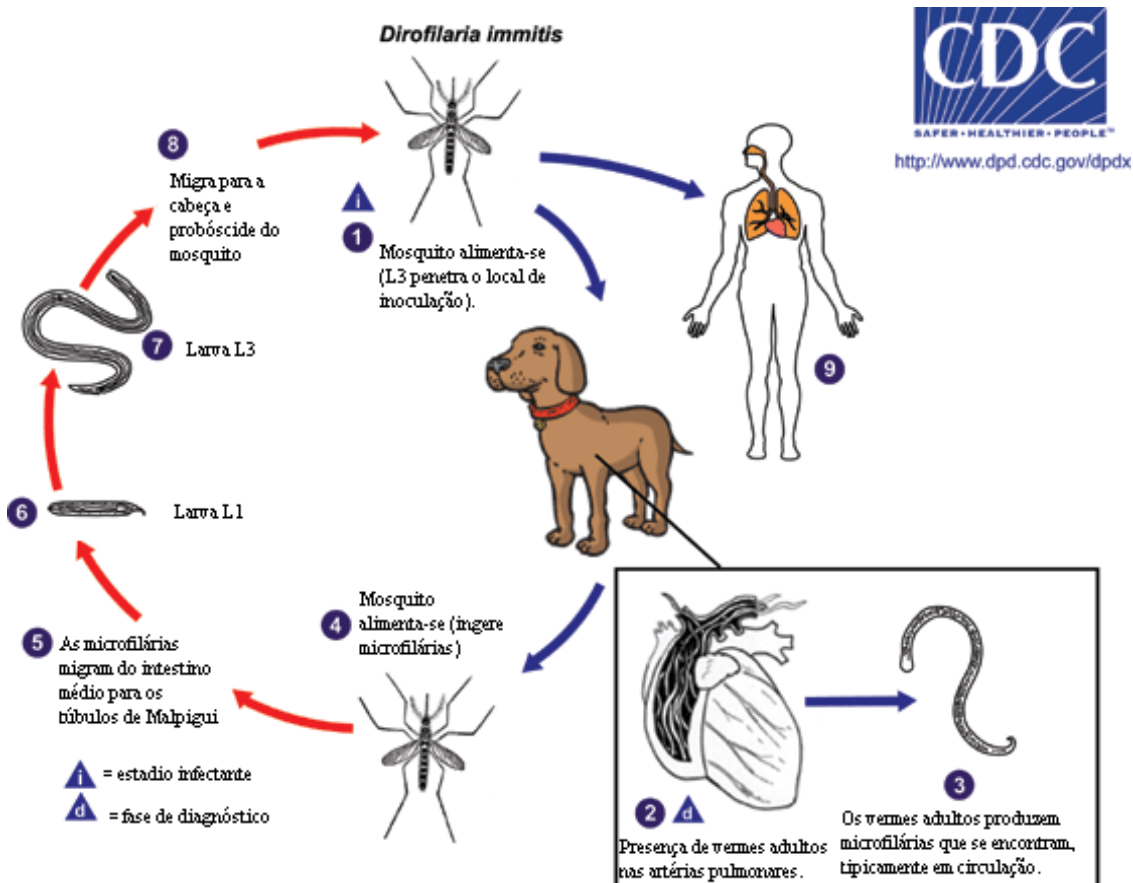
O *D. immitis* é um parasita de ciclo heteroxeno, cujos hospedeiros intermediários são insectos da ordem Diptera e da família Culicidae.

O ciclo biológico nos cães (figura 5) dura cerca de seis meses e meio (está desenvolvido mais abaixo) e as larvas passam por cinco estádios até chegarem à forma adulta (Claudio Genchi, Rinaldi, Cascone, Mortarino, & Cringoli, 2005).

O mosquito infecta-se ao sugar o sangue de um animal com DCC, ingerindo as pré-larvas L1, que foram libertadas para a circulação sanguínea do cão doente durante o processo reprodutivo dos vermes adultos presentes no coração/pulmões do mesmo. Estas

microfilárias, uma vez dentro do mosquito, desenvolvem-se nos seus túbulos de Malpighi até alcançarem o estágio L3, altura em que migram para o aparelho bucal do insecto (C Atkins, 2010; Knight & Lok, 1998).

Figura 5 - Ciclo de vida do *D. immitis*.



Fonte: adaptado de [http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Filariasis\\_il.htm](http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/HTML/ImageLibrary/Filariasis_il.htm); aceso em Fev 02, 2015.

A L3 é a forma de transmissão do mosquito para o hospedeiro definitivo através da sua picada, embora a sua transmissão possa não ser activa, pois as L3 têm a capacidade de migrar do probóscide do mosquito para a pele do hospedeiro e aí penetrarem na ferida provocada pelo insecto (Bautista et al., 1998). Após a picada, as larvas iniciam uma migração subcutânea em direcção ao tórax, durante a qual passam do estágio L3 para o L4, um processo que dura entre 2 a 12 dias. Ao fim de 50 a 60 dias após a infecção, as larvas sofrem a sua última muda, passando para o estágio L5, em que também são chamadas de adultos imaturos (C Atkins, 2010; McCall & Guerrero, 2010).

Neste estágio, as L5 chegam ao coração através da circulação venosa e crescem principalmente nas artérias pulmonares e secundariamente no ventrículo direito até atingirem a maturidade sexual, aproximadamente 120 dias pós-infecção (*American Heartworm Society*, 2012; Manfredi et al., 2007). Se estiverem presentes no hospedeiro

definitivo nemátodes machos e fêmeas, iniciar-se-á a sua reprodução e o período pré-patente mínimo é de aproximadamente seis meses e meio, após o qual já poderão ser encontradas as L1 na circulação do cão, completando-se assim o ciclo biológico (Figura 5) (Manfredi et al., 2007). Os vermes adultos podem viver até cinco anos e as microfírias podem permanecer viáveis na circulação sanguínea até 30 meses (Tabela 1) (Hock & Strickland, 2008).

Tabela 1 - Tempos de maturação larvar durante o ciclo de vida do *D. immitis*

Hospedeiro	Dias após ingestão	Dias após a infecção
<b>MOSQUITO</b>		
L1 a L3	10 a 14 em condições ideais	
<b>CÃO</b>		
L3 a L4 (tecido conjuntivo subcutâneo e intermuscular)		2-12
L4 a L5 (tecido conjuntivo subcutâneo e intermuscular)		50-70
L5 (artéria pulmonar)		70-110
Pré-L1 (microfírias produzidas)		190 (mínimo)

## 2.2. *Wolbachia pipientis*

Nos anos 1970, estudos efectuados por microscopia electrónica em algumas espécies de filárias revelaram a presença de bactérias no seu interior. Em estudos posteriores, no início dos anos 1990, foi notado que em animais infectados por parasitas filarióides, quando tratados com Tetraciclina, ocorria uma interrupção do desenvolvimento destes helmintos. Em 1995, a bactéria descoberta nos anos 1970 foi classificada como sendo do género *Wolbachia*. No final dos anos 1990 estabeleceu-se a teoria da endossimbiose entre essa bactéria e *D. immitis* e o tema tornou-se de interesse mundial. Estudos posteriores, com o objectivo de descobrir a função destas bactérias no interior de *D. immitis* e outras filárias, concluíram que as bactérias do género *Wolbachia* têm um papel semelhante ao das mitocôndrias, gerando ATP para as filárias, fornecendo proteínas para o seu metabolismo e ainda neutralizando o sistema imunitário do hospedeiro contra os nematodes. Em contrapartida, estes produzem alguns dos nutrientes necessários ao metabolismo da bactéria, ficando desta forma mais claro o mecanismo da endossimbiose entre os dois tipos de organismo (American Heartworm Society, 2013; Landum et al., 2014).

## 2.3. Epidemiologia

Os hospedeiros intermediários de *D. immitis* são mosquitos da família Culicidae, dos quais são conhecidas cerca de 70 espécies dos géneros *Aedes*, *Anopheles* e *Culex* que podem

ser vectores potenciais do parasita. (Figura 6) Porém a capacidade de transmissão vectorial foi comprovada apenas em 12 espécies (Bautista et al., 1998). O mosquito, para ter competência vectorial, deve ter a capacidade de suportar o parasita até ao estágio larvar L3 e a presença somente dos estádios larvares L1 e L2 não significa necessariamente que ele tenha a capacidade de transmitir o nematode (Araújo, 1996).

Figura 6 - Mosquito hematófago fêmea *Culex pipiens* transmissor do *D. immitis*.



Fonte: adaptado de <http://www.biolib.cz/en/image/id30406/>; aceso em Fev 02, 2015.

Em Portugal, as espécies transmissoras do *D. immitis* mais frequentes são *Culex theileri*, *Culex pipiens*, *Aedes caspius* e *Anopheles atroparvus* (Alho & Carvalho, 2012; Araújo, 1996).

A população canina que apresenta o maior risco de infecção é composta pelos cães que estão mais expostos à picada dos mosquitos transmissores, que incluem os que não possuem um abrigo permanente, os cães de caça, os que vivem em zonas rurais, os cães de pastoreio, os de competição ao ar livre e os cães que são transportados para zonas endémicas (Carmo et al., 2008; Tzipory, Crawford, & Levy, 2010).

O sexo e a raça podem estar associados à prevalência da infecção, pois estes factores podem ser relevantes na exposição do cão à picada do mosquito. Existem raças de cães mais usadas no trabalho de campo que outras (Byeon et al., 2007; Leite et al., 2007) e há trabalhos que referem uma maior probabilidade de infecção nos cães machos por serem mais usados na defesa de propriedades (Montoya, Morales, Ferrer, Molina, & Corbera, 1998).

A idade também é um importante factor de risco devido ao tempo de exposição às picadas dos mosquitos, fazendo com que os cães mais novos tenham uma menor prevalência de infecção por *D. immitis* do que os cães mais idosos (Cringoli, Rinaldi, Veneziano, & Capelli, 2001; Montoya et al., 1998).

A DCC é uma doença sazonal, dependente da temperatura ambiente, sendo que em condições climáticas abaixo dos 14°C o desenvolvimento da L3 infectante no interior do mosquito não ocorre, ficando a maturação larvar temporariamente suspensa nos meses mais frios do ano, até que ocorra um aumento da temperatura (Claudio Genchi et al., 2005; Knight & Lok, 1998). Julho e Agosto são os meses de maior importância no Hemisfério Norte para a transmissão da DCC, mesmo em latitudes elevadas, e o aquecimento global tem colaborado para a extensão deste período (Borrego, Lopes, Ribeiro, Carvalho, & Miranda,

2010; Claudio Genchi, Rinaldi, Mortarino, Genchi, & Cringoli, 2009; Santos, 2002; Vezzani & Carbajo, 2006).

#### **2.4. Prevalência da Dirofilariose Cardiopulmonar Canina**

A DCC tem uma distribuição mundial, sendo mais prevalente nas Américas do Norte, Central e do Sul, nos países Mediterrânicos, na Polinésia, na Austrália e no Japão (Alves et al.; Aranda, Panyella, Eritja, & Castellà, 1998; Bolio-Gonzalez et al., 2007; Labarthe & Guerrero, 2005; Montoya et al., 1998; Vezzani & Carbajo, 2006).

Na Europa, os países com uma prevalência mais elevada, devido ao clima, são Espanha, Portugal, França (Sul), Itália e Grécia, com alguns relatos também na Turquia e alguns países Europeus Orientais (Cancrini et al., 2000; Civelek, Yildirim, Ica, & Duzlu, 2007; Claudio Genchi et al., 2005; Rosa et al., 2002; K. H. Song et al., 2003; Traversa et al., 2010).

A DCC tem sido também diagnosticada em países do Norte e Centro Europeu, como, por exemplo, Suíça, Áustria, Alemanha, Reino Unido, Holanda, Suécia e Hungria, em cães importados ou que passaram algum tempo em áreas endêmicas (Claudio Genchi et al., 2005, 2009; Svobodova & Misonova, 2005).

Em Portugal, foram descritas prevalências para DCC de 16,7% no Ribatejo, 16,5% no Alentejo, 12% no Algarve e 30% na ilha da Madeira (Araújo, 1996). Mais recentemente foram encontradas prevalências de 11.7% na Ilha da Madeira (Pereira, 2011), 9.3% em Águeda, Baixo Vouga (Rocha, 2010) e Setúbal 24.8%, Coimbra 13.8% e Santarém 13.2% (Alho & Carvalho, 2012; Alho et al., 2014).

#### **2.5. Fisiopatologia/sintomatologia**

O problema mais relevante, mas não o mais grave, causado pelos vermes adultos de *D. immitis* no cão é o traumatismo da parede dos vasos sanguíneos onde se alojam, devido à reação inflamatória desenvolvida pelo hospedeiro na tentativa de os eliminar. As lesões endoteliais causam descamação do epitélio e aderência de leucócitos e plaquetas, progredindo para uma diminuição da resistência da parede arterial e do diâmetro do lúmen vascular. Também ocorre edema das células endoteliais com alargamento das junções entre elas, aumento da permeabilidade vascular e conseqüente edema periarterial com extravasamento celular. Tais alterações podem ser notadas três a quatro semanas após a chegada dos parasitas às artérias pulmonares (Bowman & Atkins, 2009). O cão também pode apresentar reacções devido às toxinas produzidas pelos nematodes, tais como tromboembolismo (TP) e hipertensão pulmonar, pneumonia eosinofílica, insuficiência cardíaca congestiva (Figura 7) (Fernando Simón et al., 2012) e insuficiência renal devido aos danos causados por deposição de imunocomplexos nos rins (Grauer et al., 1987; Vezzoni & Venco, 1998). Apesar de o cão com DCC poder apresentar sintomas conseqüentes da obstrução mecânica do fluxo sanguíneo, isto só ocorre quando a carga

parasitária é elevada e, conforme relatado no parágrafo anterior, os problemas mais relevantes da doença não são de ordem obstrutiva. Ainda assim, a consequência mais grave no cão infectado por *D. immitis* é um problema desta natureza, a Síndrome da Veia Cava (SVC). Ela ocorre quando a carga parasitária é tão grande que, por uma competição por espaço dentro das artérias pulmonares, os nematodes migram para o ventrículo direito, causando, por consequência, um aumento de pressão no átrio direito e na veia cava, com consequência na circulação a montante, podendo levar à morte do hospedeiro por hemólise e coagulação intravascular disseminada (American Heartworm Society, 2013; Grauer et al., 1987; Vezzoni & Venco, 1998)

Figura 7 - Cão com ascite, um dos sintomas da DCC.



Fonte: Fotos originais.

Os cães com DCC podem permanecer assintomáticos durante anos ou apresentarem-se à consulta com uma história progressiva de tosse, perda de peso, intolerância ao exercício, fraqueza, desmaios ou aumento do volume abdominal. Durante o exame clínico, podem ser encontradas mucosas pálidas ou cianóticas, ascite, sopros cardíacos mais perceptíveis no lado direito do tórax (válvula tricúspide), ritmo cardíaco de galope, distensão venosa, pulso jugular e outros sinais comuns de insuficiência cardíaca, em especial insuficiência cardíaca direita (Hock & Strickland, 2008).

A migração errática de vermes pode também levar a lesões em outros órgãos, como, por exemplo, o cérebro, os olhos e o fígado (Fernando Simón et al., 2012), e menos frequentemente os animais podem apresentar hemoptise e morte súbita (A. L. Litster & Atwell, 2008; McCall, Genchi, Kramer, Guerrero, & Venco, 2008; Fernando Simón et al., 2012).

## 2.6. Diagnóstico

### 2.6.1. Exames laboratoriais

#### 2.6.1.1. Detecção das microfilárias

##### 2.6.1.1.1. Exame da gota fresca

Esta técnica baseia-se na observação directa de microfilárias vivas no sangue através do microscópio óptico. Após a colheita de uma amostra de sangue periférico, é colocada uma pequena gota sobre uma lâmina de microscópio, coberta por uma lamela, e é prontamente observada (Figura 8). Este é um procedimento que pode ser realizado na prática clínica numa questão de minutos, podendo constituir a primeira abordagem ao diagnóstico de Dirofilariose num cão.

O exame da gota fresca pode ser realizado antes de qualquer outro teste laboratorial, pela sua simplicidade e custos praticamente nulos. Caso sejam encontradas microfilárias, é preciso levar-se em consideração que estão classificados, até ao momento, cinco parasitas

que produzem microfilárias detectáveis em sangue periférico e com diferentes graus de patogenicidade. São eles *D. immitis*, com alta patogenicidade, *D. repens*, com média patogenicidade, *Acanthocheilonema reconditum*, *Acanthocheilonema dracunculoides* e *Cercopithifilaria grassii*, sendo estes três últimos considerados apatogénicos (Schrey & Trautvetter, 1998). Desta forma, a simples detecção de microfilárias numa gota fresca de sangue periférico necessita de mais investigações.

A não detecção de microfilárias no exame da gota fresca de um animal com DCC pode dever-se a uma baixa concentração das mesmas e isto não significa a presença de uma pequena quantidade de nematodes adultos. Aliás, geralmente a presença de muitas microfilárias pode estar associada a um pequeno número de helmintes adultos (Venco, 2007).

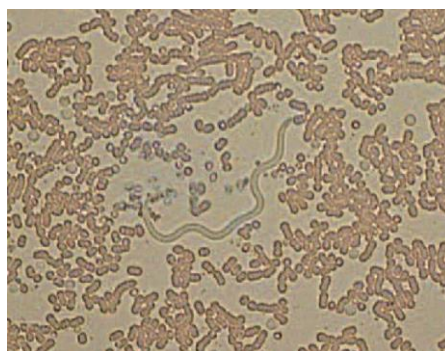
##### 2.6.1.1.2. Técnicas de enriquecimento

Se a pesquisa de microfilárias num exame de gota fresca for negativa, pode fazer-se uso das chamadas técnicas de enriquecimento, que são basicamente duas: a técnica de Knott modificada (TKM) e a técnica da fosfatase ácida (TFA).

A TKM permite diferenciar pequenas alterações morfológicas existentes nas diferentes espécies de microfilárias, porém a observação de tais diferenças requer treino (Venco, 2007).

Figura 8 - Microfilária de *D. immitis* num esfregaço de sangue fresco de um cão.

Aumento de 100x.

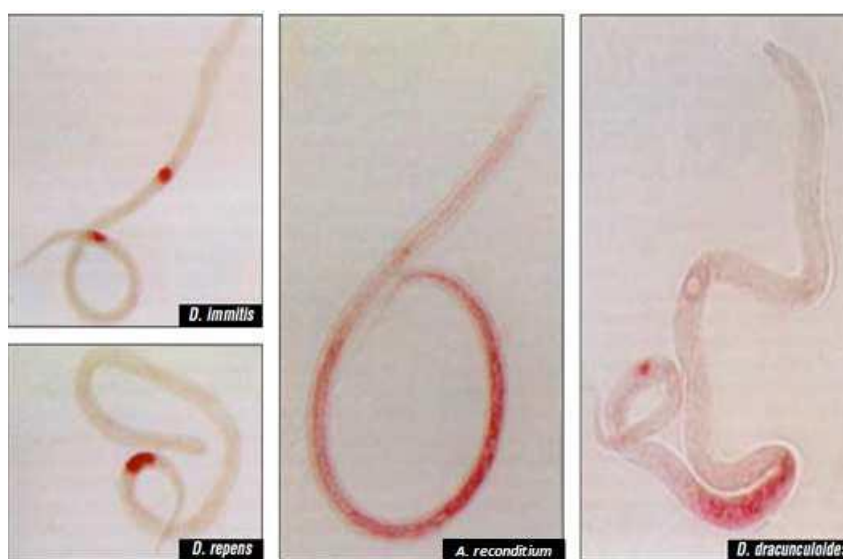


Fonte: Datz, 2003.

A TFA é hoje considerada a mais fiável para a diferenciação das microfilárias (Chalifoux & Hunt, 1971). Porém, a preparação do teste é complexa e o tempo de vida útil dos reagentes é reduzido.

Em 2001, Peribáñez experimentou um teste rápido de diagnóstico de Leucemia com técnicas similares à TFA e obteve excelentes resultados. O teste chama-se Leucognost-SP® e pode ser encontrado comercialmente no mercado português. Basicamente, este teste coloca em evidência a actividade fosfatásica ácida nas microfilárias, cujo padrão da sua distribuição é variável consoante as espécies (Figura 9) (Schrey & Trautvetter, 1998).

Figura 9 - Padrões de manchas ácido-fosfatase positivas em microfilárias de diferentes espécies.



Fonte: Adaptado de: Schrey e Trautvetter, 1998.

### 2.6.1.2. Teste de antigénio

Os testes serológicos para a detecção de antigénios de *D. immitis* em cães usam o sistema de Imunocromatografia ou o ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). A maioria deles pesquisa antigénios oriundos de uma proteína sintetizada exclusivamente pela fêmea adulta.

Os testes de Imunocromatografia são testes qualitativos e são os mais utilizados no dia-a-dia das clínicas veterinárias de pequenos animais por serem rápidos, de fácil execução, fiáveis e de baixo custo. Porém, eles apresentam limitações; podem surgir falsos negativos se a carga parasitária for muito pequena, se existirem apenas machos (quando o teste detecta somente a presença de antigénios oriundos das fêmeas), ou se a infecção for recente (Datz, 2003), uma vez que a detecção dos antigénios só é possível cinco a seis meses e meio após a infeção (C. Genchi, Venco, & Genchi, 2007).

É importante salientar que, em 2012, Schnyder e Deplazes observaram diferenças nas sensibilidades entre testes serológicos de diferentes marcas em cães, inclusive relataram a

ocorrência de reacções cruzadas com nematóides cardiopulmonares *Angiostrongylus vasorum*. Desta forma, antes de se adquirirem testes serológicos para *D. immitis*, é indicado conferir a especificidade dos mesmos (Schnyder & Deplazes, 2012). Também a *American Heartworm Society* sugere que, perante a positividade de um teste serológico e na ausência de microfilarémia, deve ser realizado um segundo teste de outra marca (*American Heartworm Society*, 2012).

Os testes de ELISA, por sua vez, são testes quantitativos, ou seja, permitem avaliar a quantidade de parasitas fêmeas de acordo com a quantidade de antígenos detectada no teste. Porém, também podem ocorrer erros, nomeadamente devido à morte de fêmeas, o que causa a libertação de uma grande quantidade de antígeno na corrente sanguínea, ou na presença de muitos machos e poucas fêmeas, em que a quantidade de antígeno é baixa relativamente à carga parasitária (C. Genchi et al., 2007; Guerrero et al., 2004).

Apesar de os testes de antígeno serem bons métodos de diagnóstico, desde que se tenham em conta as suas limitações, um resultado positivo deve ser complementado com um teste de microfilarémia para se identificarem reservatórios de infecção e também para alertar o médico veterinário para possíveis reacções adversas na aplicação de um medicamento microfilaricida (McCall & Guerrero, 2010).

#### **2.6.1.3. Teste de anticorpos**

Os anticorpos contra *D. immitis* começam a estar presentes no sangue de um cão infectado 2 a 5 meses após a infecção (C Atkins, 2010), porém a resposta imunitária é variável e pode mesmo ser negativa na presença de muitas microfilárias (Goodwin, 1998). Além disso, pode haver reacções cruzadas com ascarídeos (por exemplo *Toxocara canis*) e com *Acanthocheilonema* spp (Klotins, Martin, Bonnett, & Peregrine, 2000; K.-H. Song, Hayasaki, Cho, Lee, & Kim, 2002). Desta forma, os testes para a detecção de anticorpos não são recomendados para o diagnóstico da infecção em cães pela sua baixa especificidade (Goodwin, 1998; Yoshida et al., 1997).

#### **2.6.1.4. Polymerase Chain Reaction (PCR)**

O teste PCR para diagnóstico do *D. immitis* pode ter a sua utilidade quando, por algum motivo, os testes relatados acima apresentem incompatibilidade de resultados com os sintomas e historial clínico, pois tem alta especificidade e sensibilidade. Além disso, ele diferencia *D. immitis* de outras espécies de dirofilárias, como *D. repens*, assim como de outros vermes produtores de microfilárias (Aonuma et al., 2009; Latrofa et al., 2012; Rishniw et al., 2006).

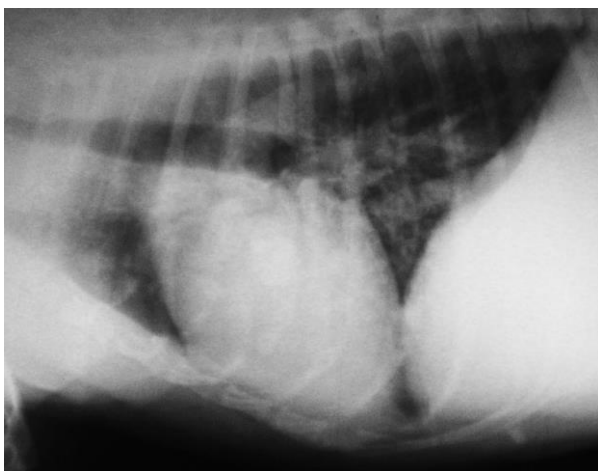
## 2.6.2. Exames complementares

Após o diagnóstico da DCC num cão, é necessário obter-se dados sobre a gravidade do problema no paciente para ponderar as melhores directrizes terapêuticas a serem seguidas.

### 2.6.2.1. Avaliação radiológica

O exame radiológico é o meio mais valioso para se avaliar a gravidade da doença no sistema cardiorrespiratório do cão (A. Litster, Atkins, Atwell, & Buchanan, 2005; McCall & Guerrero, 2010). As alterações radiográficas podem estar presentes com relativa precocidade em 85% dos cães doentes (C Atkins, 2010). Pode observar-se um aumento do calibre e tortuosidade de ramos das artérias pulmonares e alterações no parênquima pulmonar, inicialmente nos lobos pulmonares diafragmáticos. Em casos mais avançados e com sintomas de doença cardíaca congestiva, pode-se evidenciar um espessamento da veia cava, dilatação do coração direito e sinais consequentes da diminuição do fluxo sanguíneo na circulação venosa com espleno-hepatomegália (Figuras 10 e 11).

Figura 10 – Radiografia torácica ( projecção laterolateral esquerda) de um cão com DCC.



Fonte: Foto original

Figura 11 – Radiografia torácica (projecção dorsoventral) de um cão com DCC. Note-se o aumento do coração direito com silhueta cardíaca em D invertido.



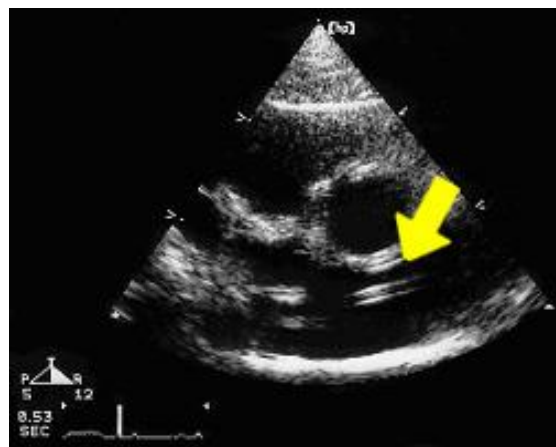
Fonte: Foto original

### 2.6.2.2. Avaliação ecocardiográfica

A ecocardiografia pode também ser útil para detectar e quantificar dilatações do ventrículo direito, regurgitação da válvula tricúspide e hipertensão pulmonar, permitindo o rápido diagnóstico da SVC (Hock & Strickland, 2008; Ware, 2009). A ecocardiografia por vezes também permite a identificação de parasitas na artéria pulmonar e/ou no coração direito.

Os vermes adultos são bastante ecogénicos e podem ser vistos como estruturas lineares duplas e paralelas a flutuar no ventrículo direito ou no lúmen de grandes vasos (Figura 12). Porém, a não visualização dos vermes na ecografia não exclui o diagnóstico da doença (*American Heartworm Society, 2012*).

Figura 12 - Imagem ecocardiográfica de *D. immitis* (seta) no coração de um cão.



Fonte: adaptado de <http://cal.vet.upenn.edu/projects/dxendopar/quizcases/felinequiz/case3/case3t2/c3tier2e.html>; aceso em Fev 02, 2015.

### 2.6.2.3. Biomarcadores

A Troponina I e a Mioglobina foram propostas por Carretón et al. (2011) como marcadores biológicos sanguíneos de lesão cardíaca, bem como o Dímero D para a confirmação de Tromboembolismo Pulmonar em cães com Dirofilariose.

### 2.6.2.4. Hemograma e análises bioquímicas

Apesar de o hemograma e os exames de bioquímica sanguínea não contribuírem directamente para o diagnóstico da DCC em cães, eles podem ser úteis na avaliação do estado geral do paciente e de doenças concomitantes que possam estar relacionadas com a DCC (C Atkins, 2010).

A anemia ligeira e não regenerativa é comum na DCC crónica (Niwetpathomwat, Kaewthamasorn, Tiawsirisup, Techangamsuwan, & Suvarnvibhaja, 2007). A anemia mais severa e regenerativa pode ser encontrada em cães com SVC e doença pulmonar arterial grave. A regeneração dos eritrócitos ocorre após hemólise intravascular e é geralmente acompanhada de hemoglobinúria (Calvert & Thomason, 2008).

A trombocitopenia é mais frequente durante as primeiras duas semanas após o tratamento adulticida e pode ainda estar presente na DCC crónica e SVC (C Atkins, 2010).

A hipoalbuminémia pode estar presente por manifestação directa de doença cardíaca congestiva, por insuficiência hepática secundária à doença cardíaca congestiva ou por perdas proteicas pela urina em glomerulopatias (Calvert & Thomason, 2008).

Eosinofilia e basofilia são comuns e juntas podem indicar a presença de DCC oculta ou então doença alérgica pulmonar. A eosinofilia sozinha surge quando as L5 chegam às artérias pulmonares (Aiello & Mays, 1998).

## 2.7. Tratamento

### 2.7.1. Tratamento médico

O tratamento de um cão com DCC é arriscado devido aos vários efeitos secundários da morte dos nematodes adultos. Deve levar-se em consideração a melhor estratégia terapêutica a nível individual, ponderando a idade do cão, as lesões pulmonares e a possibilidade de restrição prolongada de exercício físico. O risco de complicações, em especial de TP e SVC, deve ser estimado e classificado através dos critérios descritos na Tabela 2 (Fernando Simón et al., 2012; Venco, Genchi, & Simón, 2012).

Tabela 2 - Classificação de animais quanto ao risco de ocorrência de complicações secundárias à terapêutica da DCC.

Baixo Risco de Complicações	Elevado Risco de Complicações
Assintomático	Sintomático
Radiografia torácica normal	Radiografia torácica com alterações
Baixo nível de antígenos circulantes e amicrofilarémia	Elevado nível de antígenos circulantes ou microfilarémia
Ausência de filarídeos visíveis na ecocardiografia	Filarídeos visíveis na ecocardiografia
Ausência de doenças concomitantes	Presença de doenças concomitantes
Possibilidade de restrição prolongada de exercício físico (durante e após o tratamento)	Impossibilidade de restrição prolongada de exercício físico

Fonte: adaptado de Simón et al. (2012).

O objectivo do tratamento é a eliminação de todas as fases de vida do parasita no cão, com o mínimo de complicações durante e após o tratamento (McCall & Guerrero, 2010). A restrição de exercício físico por um período de 4 a 8 semanas após a administração do medicamento adulticida é um ponto fundamental para a redução do risco de complicações tromboembólicas (Bowman & Atkins, 2009).

A terapêutica médica assenta em três pontos básicos:

- a eliminação do simbionte *Wolbachia pipientis* e esterilização das fêmeas adultas de *D. immitis*, através do uso do antibiótico Doxiciclina;
- a eliminação dos vermes adultos;
- e a eliminação das microfilárias da circulação sanguínea, utilizando uma Lactona Macroscíclica (American Heartworm Society, 2012; ESCCAP, 2012; Fernando Simón et al., 2012).

A AHS, no seu *website*, apresenta um guia de tratamento baseado nas últimas informações apresentadas no *Triennial Symposium of the American Heartworm Society* em 2013 e revisto em Julho de 2014 (*American Heartworm Society*, 2014).

### **2.7.1.1. A medicação adulticida**

O Dihidroclorato de Melarsomina (Immiticide®) é o único fármaco aprovado pela *Food and Drug Administration* como medicação adulticida para a infecção por *D. immitis* nos cães (Baneth et al., 2002). É um derivado do Arsénico mais eficaz e seguro que o adulticida antigamente usado, a Tiacetarsamina Sódica (Guerrero et al., 2004; M. Miller, 2005). Deve ser administrado por injeção intramuscular profunda entre a 3ª e a 5ª vértebras lombares, usando agulhas de 23G em cães com peso vivo até 10kg e de 22G em cães com peso vivo superior (Laboratório Merial), na dose de 2,5 mg/kg. É efetuada uma administração e, após 30 dias, mais duas com 24 horas de intervalo. O uso da Melarsomina seguindo o protocolo actual da *AHS* elimina em média 98% dos parasitas (McCall & Guerrero, 2010) mas, como já foi mencionado antes, apesar de ela ser mais segura que a Tiacetarsamina, o risco de tromboembolias existe (C Atkins, 2010) e por isso a restrição severa do exercício físico após as injeções é de extrema importância (M. Miller, 2005).

Como a eliminação total dos vermes adultos pode eventualmente não ocorrer, é recomendada a realização de um teste de antigénio 6 meses após o final do tratamento. A sobrevivência de uma a três fêmeas poderá, então, levar a um resultado positivo, comprovando a ineficácia do tratamento e, conseqüentemente, a necessidade da sua repetição (Clarke Atkins, 2005).

### **2.7.1.2. A doxiciclina**

O uso da Doxiciclina na dose de 10 mg/kg PO BID durante 4 semanas tem como um dos objectivos a morte do endossimbionte *Wolbachia pipientis* e reduzir a possibilidade de ocorrência de reacções posteriores à administração da medicação adulticida (*American Heartworm Society*, 2012; Fernando Simón et al., 2012). Além disso, a Doxiciclina leva ao enfraquecimento dos vermes adultos e à permanente esterilização das fêmeas, aumentando, assim, a eficácia da medicação adulticida (*American Heartworm Society*, 2013).

### **2.7.1.3. Os corticosteróides**

O uso dos glucocorticóides ajuda a reduzir a arterite pulmonar e a pneumonia eosinofílica causadas pela presença dos vermes adultos e seus catabólitos, minimiza os tromboembolismos que possam ocorrer após a administração da medicação adulticida e diminui as reacções no local de administração do medicamento (Clarke Atkins, 2005).

O fármaco normalmente usado é a Prednisona nas doses de 0.5 mg/kg PO BID na 1ª semana do tratamento, 0.5 mg/kg SID na 2ª semana e 0.5 mg/kg EOD na 3ª e 4ª semanas.

#### **2.7.1.4. A medicação microfilaricida**

Os medicamentos microfilaricidas pertencem à classe das Lactonas Macroclínicas (LM) e não há nenhum fármaco deste grupo aprovado pela FDA (McCall & Guerrero, 2010). As LM são consideradas seguras como microfilaricidas, apesar de que nos cães que iniciam o tratamento, aquando a primeira administração da medicação, pode haver reacções pela morte maciça das L1 na circulação sanguínea. Montoya (2012) sugere, para evitar tais reacções, a administração de Dexametasona na dose de 0.25 mg/kg IV ou Prednisona na dose de 1 mg/kg PO e Difenidramina na dose de 2.2 mg/kg IM uma hora antes e seis horas depois da administração do microfilaricida (Montoya-Alonso & Gómez, 2012).

As LM devem ser administradas mensalmente até à data propícia para a administração da medicação adulticida, por volta de 60 dias após a primeira toma do microfilaricida (tabela 3). Esta espera é necessária devido à existência de uma fase no desenvolvimento dos vermes em que não há medicação que os elimine, pois os microfilaricidas eliminam vermes até aos 80 dias de vida e a medicação adulticida elimina vermes a partir dos 120 dias de vida. Assim, aguarda-se que os vermes nesta fase cheguem à idade de sensibilidade ao tratamento adulticida, impedindo-se ao mesmo tempo, o desenvolvimento das microfilárias que irão ser adquiridas pelas picadas dos mosquitos (American Heartworm Society, 2012).

#### **2.7.2. Tratamento cirúrgico**

O tratamento cirúrgico da DC em cães está indicado nos casos de SVC ou quando a doença já esteja avançada a tal ponto que a terapia médica seja demasiado arriscada. O acesso cirúrgico é feito pela veia jugular direita, com o paciente acordado e apenas usando uma infiltração local de anestésico (Montoya-Alonso & Gómez, 2012). Pode-se usar para isso uma pinça crocodilo, um fórceps flexível ou um laço intravascular e, se possível, fluoroscopia. O risco de mortalidade trans-operatória é baixo e a taxa de sobrevivência está relacionada com o número de parasitas removido (Morini, Venco, Fagioli, & Genchi, 1998). Após o procedimento cirúrgico, o paciente deve ser submetido ao tratamento médico.

#### **2.8. Profilaxia**

A DC, apesar de ser uma doença grave e potencialmente fatal, é de fácil e segura profilaxia. Esta possui uma eficácia próxima a 100% quando realizada com os produtos existentes no mercado (Hock & Strickland, 2008).

Ela deve iniciar-se o mais cedo possível, preferencialmente antes das 8 semanas de vida do cachorro. Quando se inicia a prevenção num cão adulto, deve-se primeiramente testá-lo para microfilarémia e Ag circulantes. A AHS recomenda que a profilaxia seja efetuada durante todos os meses do ano e que todos os cães sejam retestados anualmente (American Heartworm Society, 2012; L. Glickman et al., 2006).

Tabela 3 - Protocolo terapêutico recomendado pela AHS.

Dia	Tratamento
0	<p>Canídeo com diagnóstico positivo de infecção por <i>Dirofilaria immitis</i>. Confirmar diagnóstico:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Teste Ag positivo confirmado por um segundo teste de Ag ou por microfilarémia</li> <li>• Sinais clínicos de DC e Teste Ag positivo e microfilarémia</li> <li>• Iniciar restrição de exercício físico – quanto mais pronunciados forem os sintomas, mais rigorosa deve ser!</li> </ul> <p>Se o cão for sintomático:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Estabilizar com terapêutica de suporte adequada</li> <li>• Prednisona a 0.5 mg/kg PO BID 1ª semana, 0.5 mg/kg SID 2ª semana, 0.5 mg/kg EOD 3ª e 4ª semanas</li> </ul>
1	<p>Administrar Microfilaricida (Lactonas macrocíclicas)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Se houver microfilarémia, administrar previamente anti-histamínicos (e glucocorticóides se não estiver a ser medicado com prednisolona) para reduzir o risco de choque anafilático.</li> <li>• Vigiar atentamente pelo menos durante as primeiras 8 horas para pesquisa de sinais adversos à medicação</li> </ul>
1-28	<p>Administrar Doxiciclina 10 mg/kg PO BID durante 4 semanas</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Permite reduzir a patologia associada à morte dos vermes adultos</li> <li>• Provoca esterilidade das fêmeas e amicrofilarémia, impedindo a transmissão de Dirofilariose</li> </ul>
30	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Administrar Microfilaricida (Lactonas macrocíclicas)</li> </ul>
60	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Administrar Microfilaricida (Lactonas macrocíclicas) e 1ª injeção de Melarsomina 2.5 mg/kg intramuscular (IM)</li> <li>• Repetir Prednisona a 0.5 mg/kg PO BID 1ª semana, 0.5 mg/kg SID 2ª semana, 0.5 mg/kg EOD 3ª e 4ª semanas</li> <li>• Diminuir ainda mais o nível de actividade física</li> <li>• Restringir o animal a uma jaula/passeio muito curto e sempre à trela</li> </ul>
90	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Administrar Microfilaricida (Lactonas macrocíclicas). 2ª injeção de Melarsomina (2.5 mg/kg IM)</li> </ul>
91	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 3ª injeção de Melarsomina (2.5 mg/kg IM)</li> <li>• Repetir Prednisona a 0.5 mg/kg PO BID 1ª semana, 0.5 mg/kg SID 2ª semana, 0.5 mg/kg EOD 3ª e 4ª semanas</li> <li>• Manter restrição de exercício durante 6 a 8 semanas após a última administração de Melarsomina</li> </ul>
120	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Testar a presença de Microfilárias</li> <li>• Se positivo, repetir o tratamento de 30 dias com Doxiciclina (10 mg/kg PO BID) e após 4 semanas avaliar novamente a presença de microfilárias</li> <li>• Iniciar prevenção da Dirofilariose durante todo o ano</li> </ul>
271	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Testar a presença de antígeno, 6 meses após o fim da terapêutica</li> </ul>

Fonte: adaptado de “AHS canine guidelines” 2014

Os medicamentos profiláticos de eleição são as LM e estão disponíveis no mercado quatro princípios activos: a ivermectina, a milbemicina, a moxidectina e a selamectina. As duas primeiras são de uso PO, as duas últimas de uso tópico e todas elas de uso mensal. A Moxidectina também existe sob a forma injectável de Longa Acção e de uso anual.

A Milbemicina Oxima na dose de 0.5 a 0.9 mg/kg PO é um fármaco potente, com a mais rápida taxa de depuração e permite a eliminação do potencial reservatório do paciente com bastante rapidez (McCall & Guerrero, 2010). Por ser mais potente que as outras LM, a morte

das microfilárias ocorre mais rapidamente e por isso a probabilidade de ocorrerem reacções adversas é maior (C Atkins, 2010).

A Ivermectina é bastante eficaz e é usada na dose de 6 a 12 µg/kg PO. Apesar de os cães de raças “Collie” serem sensíveis a esta molécula, segundo a AHS ela pode ser usada nestes animais com segurança na dose profiláctica recomendada.

A Selamectina demonstrou possuir 100% de eficácia em cães após administração única, na dose de 3 ou 6 mg/kg, 30 a 45 dias após a inoculação do estágio infectante L3 de *D. immitis* (Clemence et al., 2000). Por ser um medicamento de uso tópico, pode ser uma mais-valia para proprietários de cães que tenham dificuldade na administração de medicação PO.

A Moxidectina na sua apresentação para uso tópico é um fármaco seguro e considerado 100% eficaz na dose de 2.5 mg/kg (Claudio Genchi et al., 2002). Na forma injectável e de longa acção, o princípio activo vem sob a forma de microesferas de libertação gradual e a administração SC de 0.17 mg/kg protege o cão durante um ano.

## **2.9. Novas linhas de investigação**

Recentemente os genomas de *D. immitis* e do seu simbiote *Wolbachia pipientis* foram sequenciados (Godel et al., 2012) e isso abre portas para o desenvolvimento de novas terapêuticas e vacinas (Godel et al., 2012; Lee, Montgomery, Theis, Blagburn, & Eberhard, 2010). Aguarda-se o desenvolvimento de uma vacina PO a ser usada sob a forma de isco para o controlo da infecção nos hospedeiros reservatórios silvestres (Lee et al., 2010). Também estão a ser desenvolvidos e aplicados modelos geoespaciais para avaliar a progressão da doença e estimar o risco futuro desta zoonose em diferentes zonas do globo (Mortarino et al., 2008).

## **3. Objectivos**

Atendendo a que a frequência de diagnósticos positivos de DCC na VNSA com base na casuística da CVSA é significativa, os objectivos do presente trabalho, são além de colaborar no panorama epidemiológico da doença em Portugal, efectuar um estudo da prevalência da DCC na zona estudada, identificando-se nas diferentes populações caninas, de acordo com o sexo, as raças, os pesos e as faixas etárias, o tipo de população mais acometido, assim como as áreas de maior e menor risco. Este estudo proporcionará uma base para futuros programas de educação da população sobre os perigos da doença nos seus animais de companhia e a sua importância como uma zoonose;

## **4. Material e Métodos**

### **4.1. Área Geográfica de Estudo**

VNSA, onde está localizada a CVSA, é a cidade mais recente de Portugal. Foi construída na década de 1970 para albergar os trabalhadores do complexo industrial de Sines e hoje

possui cerca de 12.000 habitantes. Está localizada na Freguesia de Santo André, no município de Santiago do Cacém, sub-região do Alentejo Litoral, a cerca de 7 km a Noroeste de Santiago do Cacém e 13 km a Nordeste de Sines<sup>1</sup>.

Nas proximidades da VNSA situa-se a Lagoa de Santo André (figuras 13 e 14), que se estende ao longo de 15 km do litoral, abrangendo uma faixa terrestre de largura variável de 2 a 3 km e uma faixa marítima com 1,5 km de largura (ICNF- Instituto de Conservação da Natureza e Florestas). A lagoa constitui um sistema lagunar costeiro de relevante importância biológica, incluindo interessantes aspectos ictiológicos, botânicos, ornitológicos e ecológicos. Obviamente, como parte deste complexo biológico, a diversidade de insectos de vida adaptada a ambientes húmidos é grande, destacando-se, entre eles, os mosquitos potenciais transmissores de *D. immitis*. A Lagoa de Santo André, também possui sua própria aldeia adjacente a ela e que possui o mesmo nome.

Figuras 13 e 14 – Lagoa de Santo André.



Fonte: Fotos originais.

Melides, apesar de ser relativamente distante da VNSA (12 km de distância da CVSA) e pertencer ao Concelho de Grândola, também foi incluída nos estudos, uma vez que a CVSA tem muitos pacientes oriundos desta pequena povoação, incluindo muitos casos de DCC. Tal como a VNSA, Melides também possui uma lagoa (figura 15), chamada Lagoa de Melides, que se estende para o interior através de alguns quilómetros de arrozais e que se encontra desde 2010 em processo de classificação como área protegida de interesse local. A área geográfica do estudo abrangeu (figuras 16 e 17), além da VNSA e de Melides, outras 14 localidades ao redor da VNSA de onde vieram os cães testados para a DCC no período abrangido pelo trabalho. Estas localidades são: Ademas, Aldeia de Santo André, Azinhal, Brescos, Cruz de João Mendes, Deixa-o-Resto, Foros da Quinta, Foros do Barão, Giz, Lagoa de Santo André, Santiago do Cacém, São Domingos, São Francisco da Serra e Sines. Entre elas, a localidade mais distante da sede da clínica está a 38 km de distância, o que faz com que este seja o raio limite da abrangência do trabalho.

---

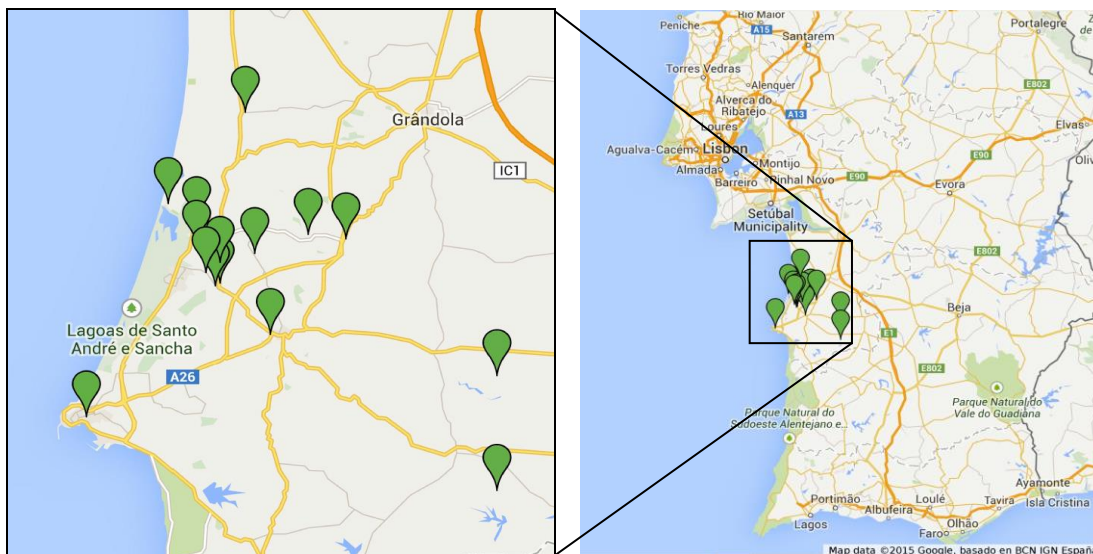
<sup>1</sup> [www.santoandre.pt/](http://www.santoandre.pt/)

Figura 15 – Lagoa de Melides.



Fonte: Foto original.

Figuras 16 e 17 – Mapas da área geográfica com as localidades abrangida pelo estudo. À esquerda, uma imagem mais aproximada. À direita, a mesma área em visualização mais distanciada.



#### 4.2. Amostragem

As informações que serviram de base para este trabalho foram conseguidas delimitando-se no sistema informático Winvet® ([www.winvet.es](http://www.winvet.es)) da CVSA, o período de 1 Janeiro de 2004 a 1 de Janeiro de 2014 e pesquisando-se na secção de facturação/pagamentos os títulos "Witness Dirofilaria" e "DFV Dirofilaria" (Witness® Dirofilaria-Synbiotics, Kansas City, USA e DFV, DIVASA - FARMAVIC (DFV®) Group, respectivamente), que foram os dois únicos testes comerciais para a DCC usados na clínica durante este período. Isto resultou numa

lista de aproximadamente 700 testes realizados em cães, dos quais foram seleccionados apenas os efectuados em animais com idade igual ou superior a 7 meses, pois os testes de antigénio, não são sensíveis para a deteção de infeção inferior a este tempo e oriundos de localidades dentro do raio de abrangência acima mencionado. Os restantes testes não foram considerados, pois foram realizados em animais com idade inferior a 7 meses, ou que pertenciam a moradores de localidades mais distantes ou que estavam com os seus proprietários em férias, visto que a VNSA é uma cidade muito marcada pelo turismo de Verão.

Excluídos os cães que não interessavam ao trabalho, restaram 364 cães, que passaram a ser a população total do presente estudo.

Inicialmente foram reunidos todos os dados dos 364 cães e dos seus proprietários num arquivo Word® 2007 de acesso exclusivo ao autor, de modo a garantir a privacidade dos dados, por respeito aos clientes e à gerência da clínica, que gentilmente permitiu o uso da sua base de dados para esta dissertação.

Numa segunda etapa foi elaborada uma tabela em Excel® 2007 com todos os dados que seriam usados no trabalho, como a morada de cada proprietário, a respectiva georreferenciação e os dados referentes aos cães testados. Para a análise estatística dos dados, os cães foram avaliados de acordo com o sexo, as faixas etárias, as classes de pesos, as raças e os sinais clínicos apresentados. Com relação às classes de peso, eles foram divididos em 0 a  $\leq 10$  kg,  $> 10$  kg a  $\leq 25$  kg,  $> 25$  kg a  $\leq 40$  kg e  $> 40$  kg, e com relação às faixas etárias, eles foram agrupados em  $> 7$  a  $\leq 12$  meses,  $> 12$  a  $\leq 36$  meses,  $> 36$  a  $\leq 72$  meses e  $> 72$  meses. A escolha destes grupos foi baseada em trabalhos de prevalência de DCC feitos em outras zonas de Portugal (Pereira, 2011; Rocha, 2010)

Em relação aos cães positivos, eles foram distribuídos em três grupos: os “positivos com suspeita”, os “positivos sem suspeita” e os “positivos sem dados”. Os “positivos com suspeita” foram cães que compareceram à consulta com sintomas cardiorrespiratórios que poderiam estar relacionados com a DCC, segundo a história clínica realizada pelo Médico Veterinário responsável pelo atendimento. Os “positivos sem suspeita” foram cães que se apresentaram à consulta por motivos que não levantavam a suspeita de DCC, como, por exemplo, uma otite externa, um atropelamento ou uma gastroenterite. Tais cães foram considerados assintomáticos, no que diz respeito a doenças de origem cardiorrespiratória, mas, como a DCC é uma doença comum na zona abrangida pelo estudo, provavelmente por sugestão do Médico Veterinário responsável pelo atendimento, os cães foram testados para a doença e os resultados foram positivos. Finalmente o grupo dos “positivos sem dados”, que foi composto por apenas três cães, em cujos históricos constavam apenas que foram testados para a DCC e que o resultado foi positivo, não sendo, portanto, possível avaliar os seus sinais clínicos.

Com relação aos sinais clínicos que os cães positivos para a DCC do trabalho apresentavam, é necessário realçar alguns pontos. Em primeiro lugar, microfilarémia não é um sintoma clínico, mas é uma característica importante da DCC, pelo que foi incluída entre as manifestações sintomatológicas, não como sendo um sintoma, mas sim uma característica passível de ser verificada ou não no cão doente. Também se encontra na lista dos sintomas a presença ou não de ectoparasitas, que também não é sintoma, mas sim um indicativo de que o cão possivelmente não estivesse a fazer a profilaxia das ectoparasitoses e estivesse, desta forma, mais susceptível à picada do mosquito transmissor da DCC. Finalmente, a dermatite é mencionada como um termo geral neste trabalho, apenas indicando a presença de lesões cutâneas nos cães positivos para a DCC, não tendo sido descritos quaisquer pormenores sobre as mesmas.

#### **4.3. Testes de microfilarémia e kits comerciais usados no diagnóstico dos cães positivos para a DCC**

Relativamente às microfílarias, não foi efetuado nenhum teste de enriquecimento para a sua detecção nos cães presentes neste estudo. Foi realizado apenas o exame directo por gota fresca, pois era o único tipo de exame para detecção de microfílarias disponível na CVSA. Já com relação aos testes comerciais de antigénio, foram usados apenas dois: o Witness® *Dirofilaria* e o DFV Test® *Dirofilaria* (figura 18). Estes são testes de realização simples e rápida, baseados numa técnica de imunocromatografia através de uma membrana de nitrocelulose. Utilizam anticorpos dirigidos contra epítomos de um antigénio solúvel do ovário das fêmeas de *D. immitis*. No caso do DFV Test®, além de detectar os antigénios da fêmea, também detecta antigénios do macho. Ao colocar a amostra a ser testada (sangue total com anticoagulante, soro ou plasma) no pocinho respectivo da placa do teste, ela passa por um filtro antes de atingir a membrana de nitrocelulose. Entra, então, em contacto com os anticorpos referidos acima, conjugados com ouro coloidal, ligando-se a estes e iniciando a migração. A leitura é feita após 10 minutos. A utilização dos dois kits foi efetuada seguindo as recomendações dos fabricantes.

#### **4.4. Georreferenciação dos casos e pesquisa de zonas de maior prevalência da doença.**

Para avaliação da existência de agregados espaciais (*clusters*), foi utilizada a metodologia *Spatial Scan Statistics* (Kuldorff, 1997) com recurso ao programa Satscan v9.3.1. Foi utilizado um modelo de Bernouli no qual os animais positivos à DCC foram considerados como casos e os negativos como controlos. A georreferenciação foi efectuada por geocodificação das moradas dos donos dos animais com o programa Google Earth. Foram apenas reportados agregados espaciais para um nível de significância de 95% e que ocupassem no máximo 50% da área em estudo.

Figura 18 – Testes comerciais usados nos cães do trabalho. À esquerda o Witness® Dirofilária e à direita o DFV Test® Dirofilária.



Adicionalmente, foi efectuada a localização dos casos positivos para a DCC relativamente à ocupação do solo e para isso foi usada a carta *Corine Land Cover 2006* (CLC) (Néry, 2007) No entanto, os elementos intrínsecos da realidade a ser modelada podem apresentar uma complexidade tão vasta que tornam impossível a modelação de todos eles, sendo apenas possível uma aproximação a esta realidade. Desta forma, apesar de este tipo de análise não fazer parte deste trabalho, foram realizadas algumas observações sobre os tipos de ocupações do solo e a DCC nas localidades dentro do *cluster*. Estas observações poderão eventualmente servir de elementos exploratórios iniciais para um complemento futuro deste mesmo trabalho, utilizando-se, para tal, ferramentas de análise espacial para estudos epidemiológicos.

Os tipos de ocupação de solo nas proximidades das áreas de maior risco podem ser visualizadas na Tabela 4

Tabela 4 - Número e percentagem de localidades com os tipos de ocupação do solo nas proximidades das localidades dentro do cluster.

Ocupação do solo	Nº de Localidades	%
Agricultura com espaços naturais e semi-naturais	7	100
Arrozais	5	71,4
Culturas temporárias de regadio	5	71,4
Culturas temporárias de sequeiro	3	42,8
Florestas abertas, cortes e novas plantações	4	57,1
Florestas de folhosas	3	42,8
Florestas de resinosas	7	100,0
Florestas mistas	5	71,4
Lagoas costeiras	3	42,8
Sistemas culturais e parcelares complexos	7	100,0
Tecido urbano descontínuo	6	85,7

## 5. Resultados

### 5.1. Resultados obtidos na totalidade dos cães testados, negativos e positivos para a DCC

Na primeira fase do trabalho foram analisados os resultados dos testes sanguíneos Wittness® e DFV® para a DCC efectuados na CVSA, na VNSA-Portugal, entre os dias 1 de Janeiro de 2004 e 1 de Janeiro de 2014, nos pacientes residentes nas imediações da CVSA, a partir de 7 meses de idade. Foram efectuados nestes 10 anos e nestas condições, 364 testes.

Entre os três Concelhos mais próximos da CVSA e que foram incluídos no trabalho, 21 cães (5,8%) residiam no Concelho de Grândola, 303 (83,2%) no Concelho de Santiago do Cacém e 40 (11,0%) no Concelho de Sines. A grande maioria estava concentrada no Concelho de Santiago do Cacém pelo facto da VNSA pertencer a este Concelho e ser a cidade onde se encontra a CVSA.

Dentro destes três Concelhos, a distribuição do total de cães estudados e o total de cães positivos para DCC nas cidades, aldeias e vilas abrangidas pelo estudo, encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5 - Localidades e seus respetivos Concelhos envolvidos no estudo, número de cães estudados por localidade e número de cães positivos por localidade.

Localidade (Concelho)	Concelho	Número de cães estudados	Número de cães Positivos
Aldeia de Santo André	Santiago do Cacém	11	3
Azinhal	Santiago do Cacém	3	-
Brescos	Santiago do Cacém	21	8
Cruz de João Mendes	Santiago do Cacém	2	-
Deixa o Resto	Santiago do Cacém	16	6
Foros da Quinta	Santiago do Cacém	8	5
Foros do Barão	Santiago do Cacém	1	-
Giz	Santiago do Cacém	5	2
Lagoa de Santo André	Santiago do Cacém	9	3
Melides	Grândola	21	10
Santiago do Cacém	Santiago do Cacém	5	1
São Domingos	Santiago do Cacém	2	1
São Francisco da Serra	Santiago do Cacém	1	-
Sines	Sines	40	5
Vnsa	Santiago do Cacém	219	39
Total		364	83

## 5.2. Resultados obtidos nos cães positivos para a DCC

### 5.2.1. Distribuição geográfica dos cães

Na Tabela 6 a representatividade dos positivos dentro dos três Concelhos envolvidos na amostragem. A diferença da prevalência da DCC entre os três Concelhos foi estatisticamente significativa ( $\chi^2 = 9,8$ ;  $p < 0.01$ ), com uma prevalência de 22,8% do número total de cães. No Concelho de Santiago do Cacém o valor é semelhante (22,4%) e no Concelho de Grândola quase metade dos cães eram positivos para a DCC.

Tabela 6 - Prevalência da DCC nos três Concelhos envolvidos no estudo.

CONCELHO	N	Positivos - Negativos	Prevalência	IC 95%
Grândola	21	10 - 11	47,6%	26,3 – 69,0
Santiago do Cacém	303	68 - 235	22,4%	17,7 – 27,1
Sines	40	5 – 35	12,5%	2,2 – 22,5
Totais e Médias	364	83 – 281	22,8%	18,5 – 27,1

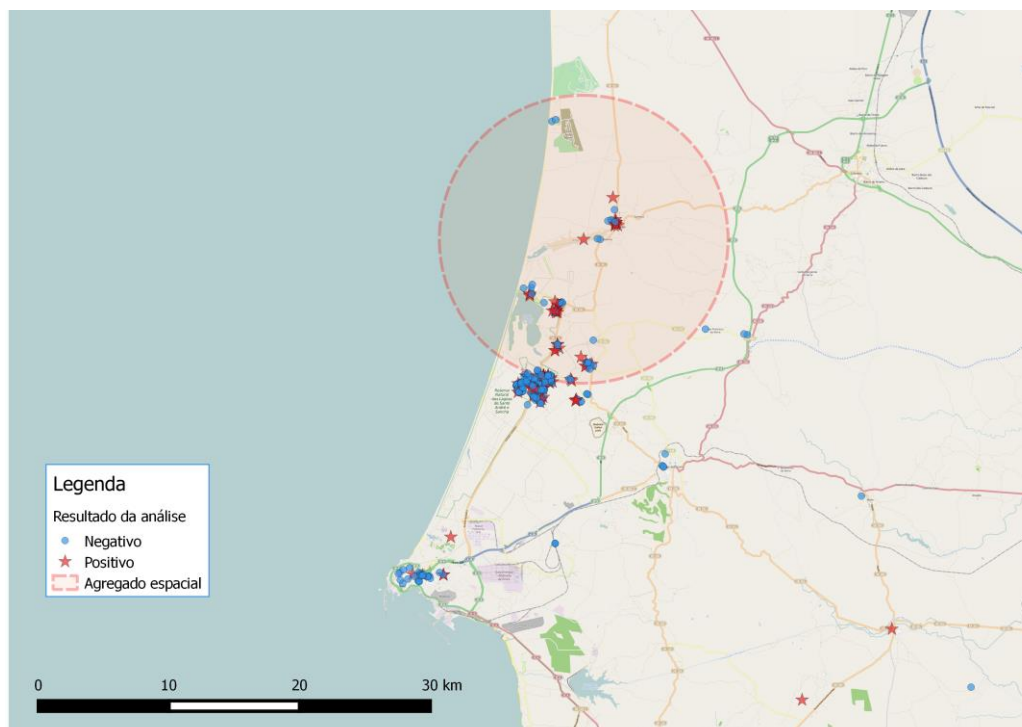
Na Tabela 7 podemos visualizar, dentro de cada localidade, o número de testes realizados e a proporção de resultados positivos. No caso da localidade de São Domingos obteve-se um resultado positivo e um negativo, dando uma percentagem de 50% de positividade, mas que não pode ser considerada como a realidade da localidade devido ao baixo número da amostragem.

Tabela 7 - Localidades envolvidas no estudo onde houveram cães positivos, número de testes realizados, número e percentagem de cães positivos.

Localidade	Total testados	Total positivos	%
Aldeia de Santo André	11	3	27,3
Brescos	21	8	38,1
Deixa o resto	16	6	37,5
Foros da Quinta	8	5	62,5
Giz	5	2	40,0
Lagoa de Santo André	9	3	33,3
Melides	21	10	47,6
Santiago do Cacém	5	1	20,0
São Domingos	2	1	50,0
Sines	40	5	12,5
VNSA	219	39	17,8

A avaliação da existência de agregados espaciais na zona abrangida pelo estudo identificou um *cluster* a norte de VNSA (figura 19), cujo centro é a zona de Melides. Dentro deste *cluster*, encontram-se localidades como a própria Melides, Foros da Quinta, Brescos, Giz, Deixa-o-Resto, a aldeia da Lagoa de Santo André e a parte Nordeste de VNSA, onde se encontra a CVSA. Estas localidades, por apresentarem percentagens de positividade para DCC acima do esperado, são as responsáveis pela existência do *cluster* do estudo.

Figura 19 - *Cluster* encontrado na avaliação realizada pelo programa *Spatial Scan Statistics* com valores positivos para DCC acima do esperado.



Para a melhor visualização dos tipos de ocupação do solo em toda a zona envolvida no estudo, foi feita uma carta CLC, porém esta carta teve que ser dividida em quatro unidades - norte, centro, este e sul (figuras 21 a 24) -. O *cluster* (figura 19) encontra-se somente nas cartas norte e centro.

As quatro figuras seguintes – 20, 21, 22 e 23 – representam toda a zona abrangida pelo estudo, que foi dividida nestas quatro imagens para que se pudesse observar todos os tipos de ocupação do solo da zona estudada. O *cluster* obtido neste estudo está presente somente nas cartas norte e centro onde pode-se observar os 11 tipos de ocupação de solo nos arredores das sete aldeias dentro do mesmo (tabela 4 do Material e Métodos).



Figura 21 - Carta CLC da parte central da região em estudo.

Legenda

Resultados da testagem

- Negativo
- ★ Positivo

Tipo de ocupação do solo

■ Tecido urbano descontínuo

- Culturas temporárias de sequeiro
- Culturas temporárias de regadio
- Arrozaís
- Pomares
- Culturas temporárias e/ou pastagens associadas a culturas permanentes
- Sistemas culturais e parcelares complexos

- Agricultura com espaços naturais e semi-naturais
- Sistemas agro-florestais
- Florestas de folhosas
- Florestas de resinosas
- Florestas mistas
- Matos

- Florestas abertas, cortes e novas plantações
- Praias, dunas e areais
- Paúis
- Lagoas costeiras
- Oceano

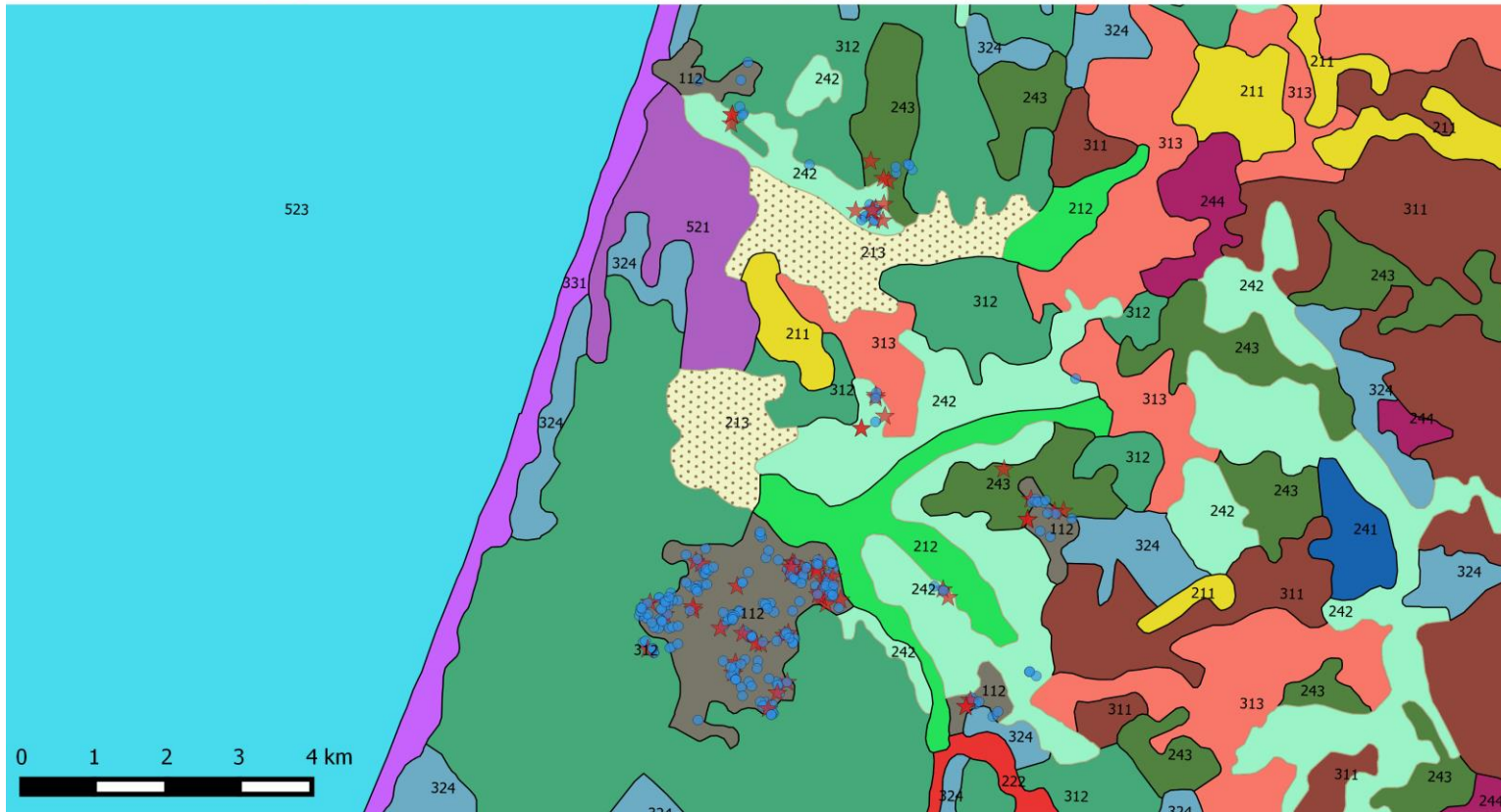


Figura 22 - Carta CLC da parte este da região em estudo.

Legenda

- |                                 |                                    |   |
|---------------------------------|------------------------------------|---|
| <b>Resultados da testagem</b>   |                                    |   |
| ● Negativo                      | ● Culturas temporárias de sequeiro | ● Culturas temporárias e/ou pastagens associadas a culturas permanentes |
| ★ Positivo                      | ● Culturas temporárias de regadio  | ● Sistemas culturais e parcelares complexos                             |
|                                 | ● Arrozais                         | ● Agricultura com espaços naturais e semi-naturais                      |
| <b>Tipo de ocupação do solo</b> |                                    |   |
| ■ Tecido urbano descontínuo     | ■ Vinhas                           | ■ Sistemas agro-florestais  |
|                                 | ■ Olivais                          | ■ Florestas de folhosas   |
|                                 |                                    | ■ Florestas de resinosas  |
|                                 |                                    | ■ Florestas mistas  |
|                                 |                                    | ■ Vegetação herbácea natural  |
|                                 |                                    | ■ Florestas abertas, cortes e novas plantações                          |
|                                 |                                    | ■ Planos de água  |

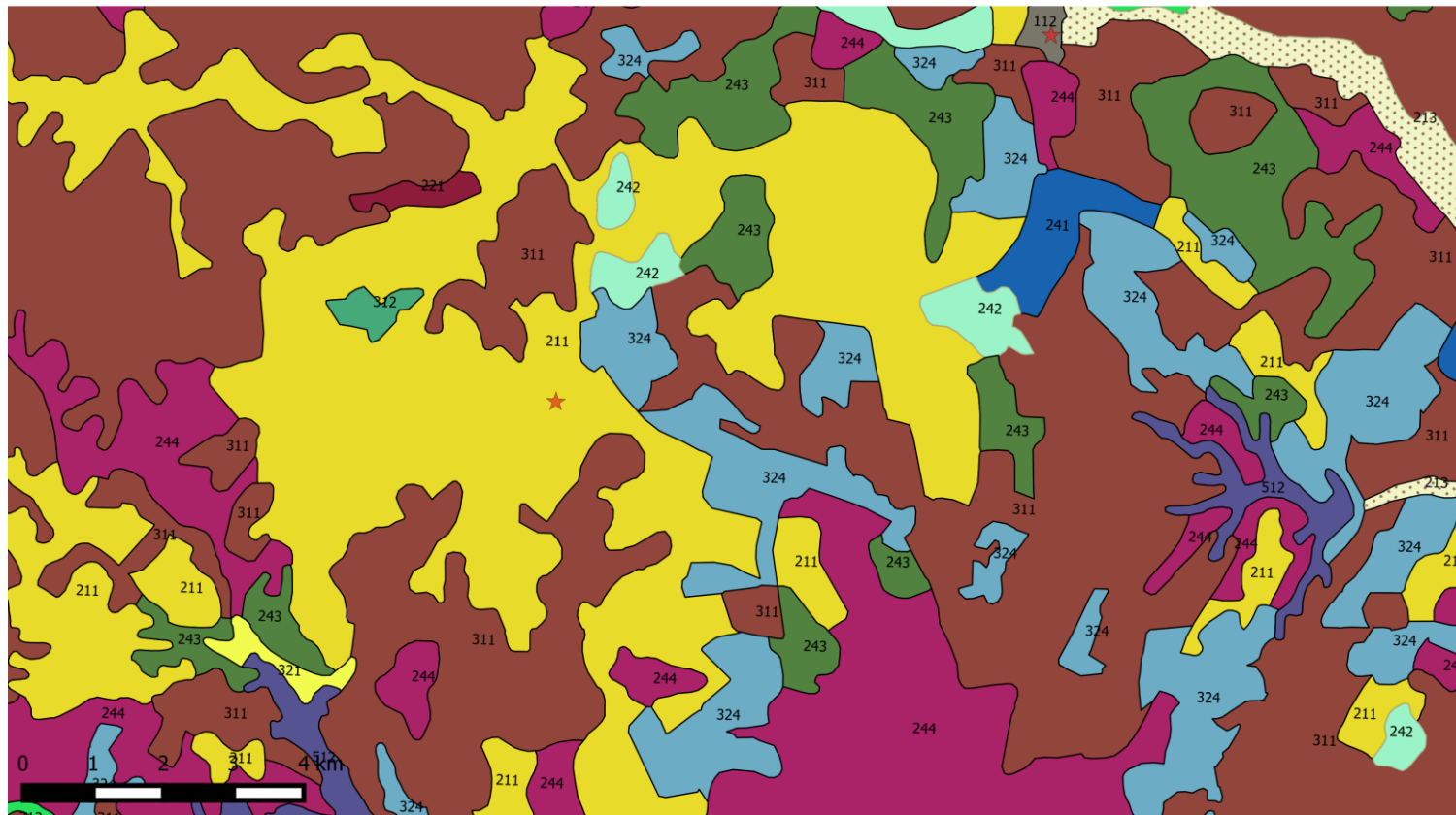


Figura 23 - Carta CLC da parte sul da região em estudo.

Legenda

Resultados da testagem

● Negativo

★ Positivo

Tipo de ocupação do solo

■ Tecido urbano contínuo

■ Tecido urbano descontínuo

■ Indústria, comércio e equipamentos gerais

■ Redes viárias e ferroviárias e espaços associados

■ Áreas portuárias

■ Áreas de extração de inertes

■ Áreas de deposição de resíduos

■ Culturas temporárias de sequeiro

■ Pomares

■ Olivais

■ Culturas temporárias e/ou pastagens associadas a culturas permanentes

■ Sistemas culturais e parcelares complexos

■ Agricultura com espaços naturais e semi-naturais

■ Sistemas agro-florestais

■ Florestas de folhosas

■ Florestas de resinosas

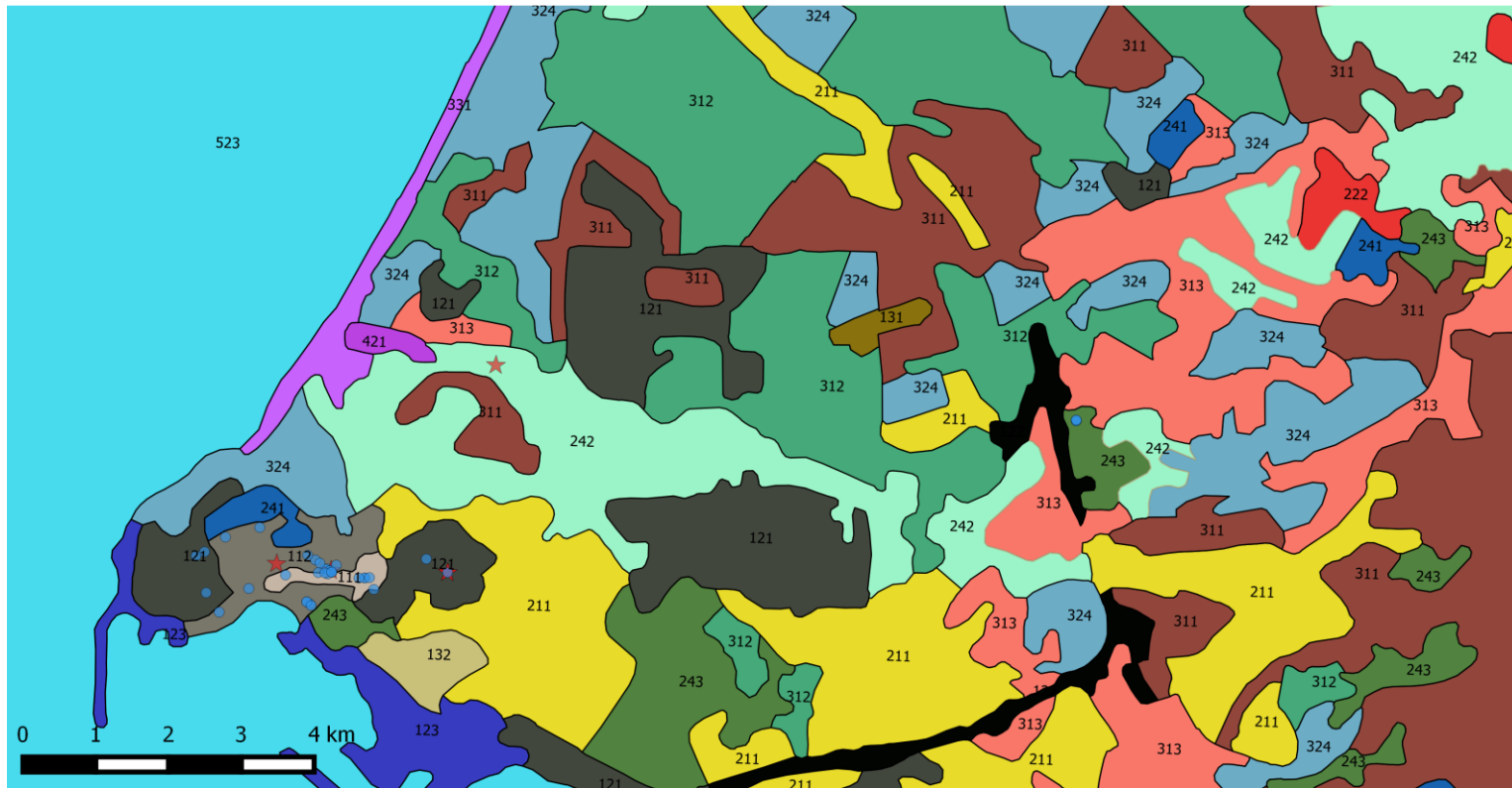
■ Florestas mistas

■ Florestas abertas, cortes e novas plantações

■ Praias, dunas e areais

■ Sapais

■ Oceano



## 5.2.2. Resultados das características morfométricas e clínicas da população canina amostrada

Na Tabela 8 é possível verificar a estimativa da prevalência para os vários grupos consoante as classes de peso dos cães analisados. Apesar de a diferença encontrada entre eles não ser estatisticamente significativa ( $p = 0,178$ ), nota-se que há um aumento nas prevalências consoante o aumento do peso nas classes estabelecidas.

Na Tabela 9 é possível verificar a estimativa da prevalência para os vários grupos consoante a categoria da idade dos cães analisados e a diferença encontrada entre eles foi estatisticamente significativa ( $p < 0,001$ ). Nota-se que existe um aumento significativo da prevalência consoante o aumento do tempo de vida nos cães.

Tabela 8 - Prevalência da DCC nos grupos de animais de acordo com a classe de peso.

Classes de peso (kg)	Cães examinados	Cães positivos N	%	IC 95%
0 aos ≤10 kg	86	18	20,9	12,3-29,5
>10kg a ≤ 25kg	147	28	19,05	12,7-25,4
>25kg a ≤40kg	110	29	26,3	18,1-34,6
>40kg	21	8	38,1	17,3-58,8
Total	364	83	22,8	18,5-27,1

Tabela 9 - Prevalência da DCC nos grupos de cães de acordo com a faixa etária.

Idade (meses)	Cães examinados	Cães positivos N	%	IC 95%
7 aos ≤12	45	2	4,4	0,00-10,5
>12 aos ≤ 36	92	12	13,0	6,2-19,9
>36 a ≤72	103	33	32,0	23,0-41,0
>72	124	36	29,0	21,0-37,0
Total	364	83	22,8	18,5-27,1

O número total de cães machos positivos para a DCC no trabalho (70) é maior que o nº de fêmeas (13) e apesar de haverem mais machos no trabalho (241) do que fêmeas (123), a diferença da prevalência da DCC entre os cães do sexo masculino e feminino é estatisticamente significativa ( $p < 0,001$ ), como se pode verificar na Tabela 10.

Tabela 10 - Prevalência da DCC nos grupos de cães de acordo com o sexo.

Sexo	Total testado	Total positivo	% positivo	IC 95%
Macho	241	70	29,05	23,3-34,8
Fêmea	123	13	10,6	5,1-16,0
Totais e médias	364	83	22,8	18,5-27,1

A Tabela 11 mostra os cães positivos para a DCC do estudo agrupados de modo que possam ser observadas as diferenças das prevalências entre os machos e as fêmeas consoante as suas classes de peso. Os resultados foram crescentes, tanto para os machos como para as fêmeas. Nas fêmeas acima dos 40 kg, apesar de a prevalência ser aparentemente mais elevada, a diferença não é significativa possivelmente pela amostra ser pequena.

Tabela 11 - Prevalência da DCC nos grupos de cães de acordo com o sexo e peso.

PESO (kg)	0 aos ≤10 kg	>10kg a ≤ 25kg	>25kg a ≤40kg	>40kg	TOTAL
Macho positivos/testados	15/54	25/89	24/80	6/18	70/241
Prevalência	27,8%	28,1%	30,0%	33,3%	29,0%
IC 95%	15,8-39,7	18,7-37,4	19,9-40,0	11,5-55,1	23,3-34,8
Fêmea Positivos/testados	3/32	3/58	5/30	2/3	13/123
Prevalência	9,4%	5,17%	16,7%	66,7%	10,5%
IC 95%	0,0-19,4	0,0-10,8	3,3-30,0	13,3-100,0	5,1-16,0

De modo similar à tabela anterior, na tabela 12 são mostrados os cães positivos para a DCC do estudo agrupados para que possam ser observadas as diferenças de prevalência entre os machos e as fêmeas consoante as suas faixas etárias. Os resultados mostraram, tanto para os machos como para as fêmeas, valores crescentes à medida que eles aumentam de idade, com ligeiras quedas nos valores de prevalência nos cães após os 72 meses de idade. No estudo foram analisados cães de 47 raças puras e ainda cães de raça cruzada. Na Tabela 13 pode-se observar a prevalência da DCC estimada em todas as raças e a diferença entre elas não foi estatisticamente significativa ( $p = 0.293$ ). Os cães de raça pura formaram um grupo de 42 animais e os de raça cruzada um grupo de 41. Nas raças puras, algumas apresentaram valores altos de prevalência, porém a amostragem era demasiada pequena, como, por exemplo, o Leão da Rodésia, com 100% de prevalência, mas representado por um único indivíduo. Por outro lado, raças como o Pastor Alemão e o Perdigreiro Português estavam representadas por números maiores de indivíduos e com valores também maiores de prevalência.

Na Tabela 14 é possível observar o padrão da prevalência da DCC nos animais do estudo de acordo com as suas classes de peso e o facto de serem de raça pura ou de raça

cruzada. Porém, as diferenças entre estes grupos, tanto nos cães de raça pura ( $p = 0.2651$ ) como nos cães de raça cruzada ( $p = 0.1213$ ), não são estatisticamente significativas.

Tabela 12 - Prevalência da DCC nos grupos de cães de acordo com o sexo e faixa etária.

Idade(meses)	7 aos ≤12	>12 aos ≤ 36	>36 a ≤72	>72	TOTAL
<b>Macho</b>					
positivos/testados	2/30	11/61	26/67	31/83	70/241
Prevalência	6,7%	18,0%	39,0%	37,3%	29,0%
IC 95%	0,0-15,6	8,4-27,7	27,1-50,4	26,9-47,7	23,3-34,8
<b>Fêmea</b>					
positivos/testados	0/15	1/31	7/36	5/41	13/123
Prevalência	0,0%	3,2%	19,5%	12,2%	10,5%
IC 95%	0,0	0,0-9,4	6,5-32,3	2,2-22,2	5,1-16,0

Tabela 13 - Raças dos cães positivos para DCC do estudo.

	Total testado	Total positivo	%	IC 95%
<b>Raça pura</b>	183	42	22,9	16,8-29,0
Boxer	15	1	6,7	0,0-19,3
Cão da Serra da Estrela	6	3	50,0	9,9-90,01
Cão da Serra de Aires	1	1	100,0	
Cão de Pastor Alemão	23	10	43,5	23,2-63,7
Cocker Spaniel	4	2	50,0	1,0-99,0
Dobermann	3	1	33,3	0,0-86,7
Épagneul Bretão	9	2	22,2	0,0-49,4
Perdigueiro Português	12	7	58,3	30,4-86,2
Pinscher	2	1	50,0	0,0-100,0
Podengo Português Anão	5	3	60,0	17,1-100,0
Pointer	2	1	50,0	0,0-100,0
Rafeiro do Alentejo	2	1	50,0	0,0-100,0
Retriever do Labrador	23	4	17,4	1,9-32,9
Rodhesian Ridgeback	1	1	100,0	
Rottweiler	6	2	33,3	0,0-71,05
Siberian Husky	9	2	22,2	0,0-49,4
<b>Raça cruzada</b>	181	41	22,6	16,55-28,7

Tabela 14 - Prevalência da DCC nos cães do estudo de acordo com a sua classe de peso e o facto de serem de raça pura ou raça cruzada.

		0 aos ≤10 kg	>10kg a ≤ 25kg	>25kg a ≤40kg	>40kg	TOTAL
Raças puras	positivos/testados	4/34	13/60	19/72	6/18	42/184
	Prevalência	11,8%	21,6%	26,4%	33,3%	22,8%
	IC 95%	0,93-22,59	11,2-32,1	16,2-36,5	11,5-55,1	16,7-28,9
Raça cruzada	positivos/testados	14/52	15/87	10/38	2/3	41/180
	Prevalência	26,9%	17,2%	26,3%	66,6%	22,7%
	IC 95%	14,8-39,0	9,3-25,2	12,3-40,3	13,3-100,0	16,7-28,9

Com relação aos três grupos em que foram divididos os cães positivos para a DCC do estudo (Tabela 15), 43 (11,8%) foram cães positivos com sintomatologia cardiorrespiratória, inseridos no grupo “positivos com suspeita”; 37 (10,1%) foram cães positivos que se apresentaram na clínica com algum problema de saúde não directamente relacionado com o sistema cardiorrespiratório ou que não apresentavam sinais clínicos de doença cardiopulmonar, formando o grupo dos “positivos sem suspeita”; e 3 (0,9%) foram cães positivos chamados de “positivos sem dados” que eram cães que não havia nada escrito no historial clínico, além de que foram testados e foram positivos para DCC.

Tabela 15 - Prevalência da DCC nos grupos de cães positivos com suspeita, positivos sem suspeita e positivos sem dados. O grupo dos positivos sem dados, com cães positivos para a DCC, porém sem história clínica nos arquivos da CVSA.

	Total	%	IC 95%
Total Testados	364	100	
Total de Positivos	83	22,8	
Positivos com Suspeita	43	11,8	8,5-15,2
Positivos sem Suspeita	37	10,1	7,5-13,7
Positivos sem Dados	3	0,9	0,3-2,4

Na Tabela 16 abaixo estão os sinais clínicos que os cães do estudo apresentaram nos seus exames clínicos e anamnese no dia em que foram diagnosticados com DCC. Eles foram distribuídos nos grupos em que os cães positivos foram agrupados – os positivos com sintomas e os positivos sem sintomas. Os sintomas que foram estatisticamente significantes foram: cansaço ( $p<0,01$ ), conjuntivite ( $p<0,05$ ), dermatite ( $p<0,05$ ), diarreia ( $p<0,05$ ), inapetência ( $p<0,01$ ), sopro cardíaco ( $p<0,01$ ) e tosse ( $p<0,001$ ).

Tabela 16 – Sinais clínicos observados nos cães positivos para a DCC nos grupos positivos com suspeita, positivos sem suspeita e positivos sem dados.

Sinais Clínicos	Positivos com suspeita (n=43)		Positivos sem suspeita (n=37)		Positivos sem dados (n=3)	
	N	%	N	%	N	%
Apatia	6	14,0	1	2,7	0	-
Arritmia	5	11,6	0	-	0	-
Ascite	6	14,0	0	-	0	-
Cansaço	11	25,6	0	-	0	-
Caquexia	9	20,9	4	10,8	0	-
Cianose	1	2,3	0	-	0	-
Conjuntivite	0	-	3	8,1	0	-
Convulsão	2	4,7	1	2,7	0	-
Corrimento nasal	4	9,3	0	-	0	-
Dermatite	4	9,3	7	18,9	0	-
Desidratação	2	4,7	1	2,7	0	-
Desmaio	3	7,0	0	-	0	-
Diarreia	1	2,3	4	10,8	0	-
Dispneia	4	9,3	2	5,4	0	-
Ectoparasitas	3	7,0	1	2,7	0	-
Edema de membros	1	2,3	0	-	0	-
Edema pulmonar	6	14,0	1	2,7	0	-
Febre	1	2,3	1	2,7	0	-
Hematuria	0	-	2	5,4	0	-
Hemoptise	2	4,7	0	-	0	-
Inapetência	13	30,2	2	5,4	0	-
Lifadenomegalia	1	2,3	0	-	0	-
Microfilaremia	11	25,6	3	8,1	0	-
Mucosas palidas	11	25,6	3	8,1	0	-
Próstata hipert.	0	-	1	2,7	0	-
Prostração	6	14,0	4	10,8	0	-
Pulso_forte	2	4,7	0	-	0	-
Pulso fraco	5	11,6	0	-	0	-
Pulso irregular	2	4,7	0	-	0	-
Polidipsia	2	4,7	0	-	0	-
Sialorreia	2	4,7	1	2,7	0	-
Sopro	14	32,5	1	2,7	0	-
Taquicardia	8	18,6	1	2,7	0	-
Taquipneia	5	11,6	0	-	0	-
Tempo de refluxo capilar aumentado	3	7,0	0	-	0	-
Tosse	16	37,2	0	-	0	-
Vômito	2	4,7	2	5,4	0	-

## 6. Discussão

### 6.1. Aspectos gerais

A Dirofilariose Cardiopulmonar Canina (DCC) tem sido objecto de interesse pela comunidade científica Portuguesa e de outros países (Alho et al., 2014; Pereira, 2011; Rocha, 2010; Sarquis & Neto, 2012). No presente estudo, realizado nos cães atendidos na zona do litoral alentejano próxima da CVSA durante o período compreendido entre 1 de Janeiro de 2004 e 1 de janeiro de 2014, a prevalência da DCC foi alta (22,8%) e no Concelho de Grândola quase metade dos cães do trabalho (47,6%) foram positivos. Este valor pode estar longe de ser a prevalência verdadeira, visto que os dados foram obtidos somente de cães cujos proprietários procuraram assistência veterinária, havendo um número indeterminado de cães que podem ser positivos, sejam cães com proprietários, sejam cães errantes, e todos eles serviriam como reservatórios naturais de infecção.

No início deste trabalho, foi levantada a hipótese de estar a ocorrer a nível global um aumento das doenças infecto-contagiosas e parasitárias devido ao aumento da temperatura global (Githeko et al., n.d.; Fernando Simón et al., 2012). Na zona da VNSA também se nota empiricamente um aumento do número de casos de DCC. Este aumento pode não significar necessariamente um aumento no número de casos da doença e sim um aumento no número de diagnósticos devido a uma campanha profiláctica mais eficaz e intensa e a uma maior conscientização da população local em relação a esta doença dos cães. Porém, a zona estudada possui algumas características que podem ser propícias à procriação natural de mosquitos transmissores da DCC, como a Lagoa de Santo André, a Lagoa de Melides, alguns arrozais adjacentes a elas e outros tipos de ocupações do solo que poderiam eventualmente interagir entre si, concorrendo para que os valores de prevalência da DCC na zona do estudo sejam superiores ao esperado e possam até mesmo estar a aumentar.

Desta forma, o presente trabalho poderia eventualmente vir a contribuir para programas de conscientização da classe Médica e de Enfermagem nos postos de saúde e no único hospital da região, para alertarem a população sobre os aspectos zoonóticos da doença. Ter em consideração a Dirofilariose causada por *D. immitis* no atendimento Médico da população humana pode, entre outras coisas, incluir a doença no diagnóstico diferencial de nódulos pulmonares encontrados em radiografias torácicas de pacientes com suspeitas de neoplasias (Silva & Langoni, 2009; Fernando Simón et al., 2012; Theis, 2005). Pode também levar-se em consideração a possibilidade do crescimento larvar de *D. immitis* em tecidos nobres e delicados como os oculares, cerebrais e medulares (Theis, 2005).

Embora a probabilidade do envolvimento zoonótico da doença não seja, de forma geral, comum, em zonas endémicas o cenário pode ser diferente, podendo a doença estar presente na população humana sem que o diagnóstico esteja a ser feito (Alho et al., 2014; Pereira, 2011; Rocha, 2010).

## 6.2. Zonas afectadas

Tendo em consideração que as seguintes observações não foram efectuadas com base na mensuração dos elementos intrínsecos contidos no *cluster* do estudo, mas sim empiricamente, a visualização das ocupações territoriais presentes próximas das 7 localidades com prevalências de DCC acima do esperado, mostra alguns mosaicos de ocupação do solo comuns em estudos epidemiológicos das doenças transmitidas por mosquitos hematófagos, como, por exemplo, as lagoas costeiras, os arrozais e o tecido urbano descontínuo (Brown et al., 2012; Institute, 1987; Mouchet & Brengues, 1990).

As lagoas costeiras, segundo a nomenclatura da versão Portuguesa do CLC, “são extensões de água salobra ou salgada em zonas costeiras, separadas do mar por uma língua de terra ou similar. Estes corpos de água podem encontrar-se ligados ao mar em determinados pontos, seja permanentemente, seja em alguns períodos do ano.” (Néry, 2007).

Regiões lacustres, como a zona do *cluster* deste estudo, que inclui a Lagoa de Santo André e a Lagoa de Melides, são tipos de ambiente propícios à propagação de mosquitos transmissores da DCC, de modo similar a outros locais de importância epidemiológica da doença no mundo, como, por exemplo, o Delta do Rio Mississippi nos Estados Unidos da América (EUA), o Vale do Pó na Itália e a Ilha da Madeira em Portugal (Mckay, Bianco, Rhodes, & Barnett, 2013; Morchón, Carretón, González-Miguel, & Mellado-Hernández, 2012; Poglayen, Martini, Bomben, & Roda, 1996).

Um segundo tipo de ocupação do solo que pode ter um papel relevante na epidemiologia da DCC na zona em estudo é constituído pelos arrozais. Estes são definidos na nomenclatura da versão Portuguesa do CLC como “terras preparadas para o cultivo de arroz. Zonas planas com canais de irrigação. Zonas periodicamente alagadas. Arrozais abandonados não são incluídos nesta classe e quando exista um regime de rotação de um a dois anos, a classificação como arrozais é determinada pela ocupação actual do solo à data da aquisição da imagem de satélite” (Néry, 2007). Este tipo de ambiente também é importante nos estudos epidemiológicos das doenças transmitidas pelos mosquitos hematófagos (Brown et al., 2012; Institute, 1987; Mouchet & Brengues, 1990).

O tecido urbano descontínuo, um terceiro tipo de ocupação do solo considerado possivelmente pelo autor como de maior relevância na epidemiologia da DCC na zona do estudo, é, segundo a nomenclatura da versão Portuguesa do CLC, “um tipo de ocupação territorial onde a maior parte do solo é ocupada por construções. Os edifícios, estradas e superfícies artificializadas estão associados a zonas com vegetação e de solo nu, as quais ocupam uma área significativa, embora descontínua e a superfície impermeabilizada deverá ocupar entre 30 e 80% da área total” (Néry, 2007).

A relação existente entre aglomerados urbanos e a presença de mosquitos transmissores de doenças é tema comum nos estudos epidemiológicos por todo o mundo (Almeida, 2011;

Boratne et al., 2010; Claudio Genchi et al., 2009; Patel, Rathod, & Shah, 2011). Entre os tipos de ocupação do solo presentes na zona do estudo, o tecido urbano descontínuo, por ser onde se concentra a grande maioria da população humana e seus animais domésticos, entre eles o cão, possui a maior concentração de fontes alimentares para os mosquitos hematófagos. Possui também o maior número de abrigos com temperatura média superior nos meses frios do ano, ou seja, o interior das casas das pessoas. Desta forma, na realidade epidemiológica da DCC na zona do estudo poder-se-ia levar em consideração em estudos complementares deste trabalho a possibilidade de o tecido urbano descontínuo, além de ser uma base reprodutiva dos mosquitos transmissores da DCC, ser também uma base alimentar e de abrigo dos mosquitos oriundos principalmente dos outros dois tipos de ocupação do solo adjacentes, ou seja, a Lagoa de Santo André, a Lagoa de Melides e os dois arrozais próximos a elas. Assim, o autor levanta a possibilidade da existência de uma espécie de tríade entre os elementos importantes para justificar a existência do *cluster* encontrado neste estudo. Adicionalmente, é interessante notar que nas cartas CLC norte e centro (figuras 21 e 22), que abrangem respectivamente as zonas de Melides e VNSA e onde se encontra o *cluster*, vê-se a proximidade entre as lagoas costeiras, os arrozais e o tecido urbano descontínuo, ao passo que esta associação de ocupações do solo não existe na carta CLC sul (figura 24), onde está Sines, cujos valores de prevalência não foram superiores ao esperado.

A possível interacção de outros tipos de ocupação do solo na realidade epidemiológica que leva à existência do *cluster* encontrado no estudo, poderia também eventualmente ser objecto de estudos futuros, como, por exemplo, as florestas de resinosas, popularmente conhecidas em Portugal como pinhais. As florestas de resinosas, segundo a nomenclatura da versão Portuguesa do CLC, “são ocupações de solo constituídas principalmente por árvores, incluindo estratos arbustivos com predomínio de espécies de coníferas que podem representar mais de 75% do total da vegetação” (Néry, 2007). Este tipo de floresta, além de ser um tipo de ocupação do solo visualmente de grande importância dentro do *cluster* encontrado no estudo, está presente em 100% dos raios de 2 quilómetros das 7 localidades em discussão e é sabido que os pinhais são abrigos naturais de várias espécies de invertebrados, entre eles os mosquitos (Duarte, 2013).

Apesar de haver 11 tipos de ocupações do solo próximos as 7 localidades do *cluster*, apenas um último tipo será mencionado, pois, juntamente com as florestas de resinosas, é o único presente em 100% daquelas localidades, sendo constituído pelos sistemas culturais e parcelares complexos. Estes, segundo a nomenclatura da versão Portuguesa do CLC, “são mosaicos de pequenas parcelas com diversas culturas anuais, pastagens e/ou culturas permanentes, jardins urbanos, terras incultas/em pousio e/ou culturas permanentes, eventualmente com edifícios dispersos ou jardins” (Néry, 2007). Conforme se nota na definição deste tipo de ocupação do solo, ele é composto por uma série de características

bastante distintas umas das outras. Ele contem ambientes como plantações e jardins que necessitam de regas periódicas e superfícies impermeáveis expostas ao ambiente, passíveis de reterem a água da chuva, podendo desta forma, tornarem-se focos de procriação de mosquitos. Isso poderia eventualmente fazer parte do complexo epidemiológico responsável pelos maiores valores de prevalência da DCC deste estudo, porém os elementos intrínsecos presentes num tipo de ocupação tão diversificado como este podem ter uma modelação bastante complexa.

### **6.3. Características morfométricas e clínicas da população canina amostrada**

#### **6.3.1. Sexo**

Em relação ao sexo dos cães do estudo, dos 83 animais positivos, 70 eram machos e 13 eram fêmeas. Porém, perante este número mais alto de machos positivos, há que ter em consideração que, dos 364 cães que compõem a totalidade da amostragem do trabalho, 241 (66,2%) eram do sexo masculino e apenas 123 (33,8%) do sexo feminino. Mas, mesmo assim, analisando a percentagem de machos positivos em relação ao número total de machos da amostra e fazendo o mesmo com relação às fêmeas, obtêm-se os números reais da prevalência no estudo entre os dois sexos, notando-se, de facto, uma tendência para uma maior positividade nos machos, sendo que esta diferença foi estatisticamente significativa: dos 241 machos testados, 70 (29,05%) foram positivos, e das 123 fêmeas, 13 (10,6%) foram positivas, ou seja, quase 3 machos para uma fêmea positiva.

A existência de mais machos positivos do que fêmeas coincide com os estudos de outros autores (Pereira, 2011; Rocha, 2010). Além destes autores obterem resultados com índices maiores de infecção em machos, eles sugerem a hipótese de que isso possa ser devido ao facto de os cães machos serem mais frequentemente usados como cães de guarda, passarem mais tempo no exterior e, desta forma, serem mais susceptíveis à picada de mosquitos. Porém, existem trabalhos que apontam o contrário, como os estudos de Bolio-Gonzales et al (2007), que obtiveram uma prevalência 2,85 vezes maior em fêmeas do que em machos.

#### **6.3.2. Peso**

No que diz respeito ao peso dos cães positivos, os resultados do trabalho apontam para uma maior prevalência da doença entre os animais de médio e grande porte. Isto coincide com o que é descrito noutros trabalhos similares (Pereira, 2011; Rocha, 2010). Porém, alguns estudos sugerem que esta característica da doença não está relacionada com o porte do cão propriamente dito, mas sim com factores comportamentais, visto que cães de médio e grande porte, comparativamente com cães de pequeno porte, passam mais tempo no exterior das casas, ficando, assim, mais expostos à picada do mosquito (Traversa et al., 2010).

### **6.3.3. Sexo x peso**

As duas características acima discutidas foram avaliadas em conjunto, ou seja, os cães do trabalho foram separados em dois grupos consoante a sua classe de peso e o seu sexo, com o objectivo de tentar encontrar entre os sexos padrões diferentes dos que sugerem que a prevalência aumenta com o aumento do peso. Porém, as diferenças entre os padrões dos machos e das fêmeas não foram estatisticamente significativas, ou seja, quanto maior o cão, maior a prevalência, independentemente do sexo.

### **6.3.4. Idade**

Relativamente à idade dos cães da amostra em estudo, nota-se que existe um aumento gradual na taxa de prevalência à medida que a idade dos cães aumenta e os valores encontrados foram estatisticamente significativos. Isso coincide com o que sugerem vários autores, que referem que quanto maior é a idade do cão, maior é a prevalência observada (Cringoli et al., 2001; Montoya et al., 1998).

A DCC é uma doença de período pré-patente longo e de danos cumulativos no hospedeiro definitivo. O cão, na medida em que se expõe às picadas dos mosquitos ao longo da sua vida, vai gradualmente adquirindo mais parasitas e sofrendo as consequências dos já instalados. Isso pode ser a explicação da maior prevalência consoante o aumento da idade e a baixa prevalência em pacientes mais jovens (Claudio Genchi et al., 2005; Knight & Lok, 1998; Lima & Poubel, 2008).

### **6.3.5. Sexo x idade**

Da mesma forma e com os mesmos objectivos do que foi realizado no cruzamento das características “sexo” e “classe de peso”, o mesmo foi efetuado com relação ao sexo e à idade dos cães positivos para a DCC do estudo. E mais uma vez os resultados apresentaram padrões similares de aumento da prevalência conforme a idade aumenta, em ambos os sexos. Porém, é importante salientar que, embora o padrão dos resultados seja similar, os possíveis motivos não o são.. No caso da idade, o que a literatura refere é que a prevalência aumenta devido ao efeito cumulativo da exposição ao agente transmissor da DCC.

### **6.3.6. Raças**

#### **6.3.6.1. Cães de raças puras**

Relativamente às raças puras dos cães positivos para a DCC do estudo, as que mostraram maiores valores de prevalência foram o Perdigueiro Português, com 58,3%, o Podengo Português Anão, com 60,0%, o Cão de Pastor Alemão, com 43,5%, e o Cão da Serra da Estrela, com 50,0%. Algumas raças apresentaram prevalências elevadas, mas estavam representadas por apenas um ou dois indivíduos.

É interessante notar que os cães das raças Perdigueiro Português e Podengo Português Anão são usados para a caça e o seu estilo de vida pode ser um factor importante a ter em consideração na interpretação dos maiores valores de prevalência encontrados neste estudo. Particularmente em relação ao Podengo Português Anão, as maiores prevalências encontradas neste estudo podem ajudar a reforçar a hipótese de que a prevalência da DCC está relacionada com o estilo de vida do cão (Lima & Poubel, 2008; Tzipory et al., 2010), pois trata-se de uma raça de porte pequeno, que está geralmente associada a valores de prevalência menores.

Relativamente às outras duas raças que apresentaram os maiores valores de prevalência, Cão da Serra da Estrela (50,0%) e Cão de Pastor Alemão (43,5%), ambas são de grande porte e este facto coincide com as hipóteses dos cães maiores serem mais afectados (Byeon et al., 2007; Leite et al., 2007). Porém, outro facto chamou a atenção do autor: o número de cães estudados (n) das raças Pastor Alemão e Labrador Retriever foi exactamente o mesmo (23 de cada raça) e os valores de prevalências encontrados foram um mais que o dobro do outro – 43,5% nos Pastores Alemães e 17,4% nos Labradores –, apesar de ambas as raças terem basicamente o mesmo porte. Isso mais uma vez poderia reforçar a hipótese de que o estilo de vida pode ser um factor importante na prevalência da DCC em cães e não o tamanho do animal. Na nossa experiência pessoal, os Pastores Alemães são cães muito mais usados como cães de guarda, vivendo mais no ambiente exterior ao domicílio, ao passo que os Labradores têm uma aptidão mais orientada para a companhia, vivendo mais próximo do ambiente familiar e caseiro (baseado na experiência dos clínicos de animais de companhia).

#### **6.3.6.2. Cães de raça cruzada**

Relativamente aos cães de raça cruzada, que compreendem praticamente a metade dos cães avaliados neste trabalho, é relevante considerar que tais cães podem ter tamanhos muito variados. E, do mesmo modo que o observado em cães de forma geral, os cães de raça cruzada também poderiam apresentar valores de prevalência de DCC maiores à medida que o seu tamanho aumentasse. Porém, apesar de o resultado das prevalências da DCC nos cães de raça cruzada e nas diferentes classes de peso não ser estatisticamente significativo, o número de cães afectados da classe 0 a  $\leq 10$  kg chamou a atenção do autor. O que a literatura sugere é a prevalência da DCC tender a aumentar consoante o aumento do peso dos cães. Foi exactamente isso que ocorreu nos cães de raça pura, com as prevalências a aumentarem, iniciando nos cães pequenos com 11,8%, 21,6%, 26,4% e finalmente nos  $>40$  kg com 33,3%. Porém, os resultados encontrados para os cães de raça cruzada foi diferente do esperado, iniciando com um valor de prevalência mais alta nos de pequeno porte, com 26,9%, e depois diminuindo. O valor de prevalência para os cães pequenos cruzados superou o valor dos de médio porte ( $>10$  kg a  $\leq 25$  kg), com 17,2%, e

até mesmo o dos de grande porte (>25 kg a ≤40 kg), que normalmente são os mais acometidos e que tiveram um valor de 26,3%. Os valores de prevalência dos cães pequenos cruzados só não superou a prevalência dos cães >40 kg (66,6%), porém a amostragem desta classe de peso era demasiado pequena, com apenas 3 cães.

Além do destaque na prevalência dos cães pequenos cruzados frente aos outros cães cruzados de maiores tamanhos, o mesmo acontece quando se compara a prevalência dos cães pequenos de raça pura, 11,8%, com a dos cães pequenos cruzados, 26,9%.

Esse destaque na prevalência dos cães cruzados de pequeno porte chamou a atenção do autor pela eventual relação entre estes valores e o grande número dos chamados, na linguagem popular, “cães de monte” na zona abrangida pelo estudo. Tais cães podem ter um estilo de vida diferente de outros de pequeno porte que vivem na cidade e passam grande parte do tempo de vida no interior da moradia. Estes cães cruzados e pequenos podem eventualmente passar mais tempo no exterior do domicílio do proprietário, sendo tão susceptíveis à picada do mosquito quanto os outros cães de tamanhos maiores, o que pode fortalecer as referências que sugerem que a prevalência está mais associada ao estilo de vida que ao porte do cão.

Complementando este raciocínio, chama-se a atenção aos resultados já descritos anteriormente das prevalências da DCC nas raças puras, onde vemos os valores de prevalência maiores no Podengo Português Anão, uma raça de porte pequeno com aptidão cinegética e, portanto, com mais contacto com o exterior (Alho & Carvalho, 2012).

### **6.3.7. Sintomas**

#### **6.3.7.1. Considerações iniciais**

Relativamente à discussão da sintomatologia apresentada pelos cães positivos do presente trabalho, é importante, em primeiro lugar, levar-se em consideração que, nos dez anos abrangidos pelo estudo na CVSA, a avaliação clínica dos cães não foi efectuada sempre pelo mesmo Médico Veterinário e que as manifestações clínicas foram as mais facilmente detetadas pelo clínico em serviço, podendo haver outras mais subtis ou que não foram detetadas por exames complementares não executados ou mesmo que não foram relatadas no historial clínico do paciente e portanto, não constam no presente trabalho.

Deve também ser referido que muitos pacientes foram diagnosticados com DCC em fase ainda assintomática e os sinais clínicos relacionados com a doença, como os ocorridos em maior percentagem no presente estudo, são resultado de infecções mais avançadas e dos efeitos dos parasitas nas artérias pulmonares, pulmões e coração (C Atkins, 2010). As manifestações clínicas também podem estar relacionadas com outros factores para além da carga parasitária, tais como a resposta imunitária individual de cada cão e a sua aptidão física, como nos casos de cães sujeitos a esforços físicos mais intensos (F Simón et al., 2007; Venco, 2007).

Antes de entrar na discussão dos sintomas dos grupos em que foram divididos os cães deste trabalho, discute-se inicialmente um ponto sobre uma das características da DCC, que é a microfilarémia.

A microfilarémia, apesar de não ser um sintoma propriamente dito, foi incluída nos estudos da sintomatologia deste trabalho, pois é uma manifestação da doença em estudo e, portanto, foi discutida aqui.

Muito embora a literatura sugira que os testes de pesquisa de antigénio para cães com DCC devam ser efectuados em conjunto com os testes para a detecção de microfilárias (*American Heartworm Society, 2013*), pela análise dos dados e histórias clínicas dos cães positivos do presente trabalho observou-se que houve cães que foram diagnosticados com a doença sem que tenham sido realizados os testes da detecção da microfilarémia, ou que, se foram feitos, não foram apontados no historial dos pacientes. Isso pode ter causado possíveis resultados imprecisos ou subestimados com relação a este dado.

O exame da gota a fresco, que foi o único exame para a detecção de microfilárias feito nos cães do estudo, é um método rápido e fácil para a detecção das mesmas e pode ser usado na rotina diária da clínica como a primeira abordagem mais direccionada ao diagnóstico da DCC (Leite et al., 2007).

A detecção das microfilárias com este exame pode ser uma ferramenta útil na educação do proprietário, pois é relativamente fácil mostrar as pré-larvas L1 no microscópio óptico. Na experiência pessoal do autor, em geral os proprietários mostram-se bastante interessados após visualizarem as microfilárias a movimentarem-se por entre os glóbulos vermelhos e também mais crédulos no problema em que o seu cão está envolvido, animando-se em querer investir mais a fundo no diagnóstico definitivo e na avaliação da possibilidade de tratamento da doença.

Dos 83 cães positivos para DCC do presente trabalho, apenas 14 (16,9%) apresentaram microfilarémia, e este valor não foi estatisticamente significativo ( $p=0,054$ ). Conforme já mencionado, existe a possibilidade de isso estar relacionado com a falta de apontamento deste dado no historial clínico do paciente mesmo que o teste tenha sido realizado, ou então com a realização do diagnóstico positivo da DCC sem recurso a testes de microfilarémia.

#### **6.3.7.2. Sintomas nos cães positivos para DCC do grupo “positivos com suspeita”**

Dos 83 cães positivos do presente trabalho, 43 (51,8%) eram do grupo “positivos com suspeita”. Estes números mostram a importância das manifestações clínicas de origem cardiorrespiratória, que, apesar de não serem exclusivas da DCC, quando presentes em cães que vivem em zonas endémicas são bastante sugestivas e justificam a realização de testes para o seu rastreio (McCall & Guerrero, 2010; Venco, 2007).

As manifestações clínicas mais observadas neste grupo – cansaço, inapetência, sopro cardíaco e tosse – não compreendem todas as manifestações clínicas mais comuns

descritas na literatura sobre a DCC como por exemplo ascite, desmaio, convulsão, taquicardia, aumento de pressão arterial e epistaxis (Hock & Strickland, 2008). Porém, todas elas são importantes na doença e a sua presença nos cães deste trabalho confirma que, em cães que vivam em regiões endêmicas da DCC, é importante levar-se em consideração esta doença no diagnóstico diferencial quando manifestem tais sintomas.

### **6.3.7.3. Sintomas nos cães positivos para DCC do grupo “positivos sem suspeita”**

Já o grupo dos “positivos sem suspeita” apresentou 37 (10,1%) cães no total e as manifestações clínicas mais frequentes neste grupo, que apresentaram significância estatística em relação ao total dos cães positivos para DCC e o total de manifestações clínicas nos mesmos, foram conjuntivite, dermatite e diarreia.

A inflamação da membrana conjuntiva pode estar presente nos mamíferos tanto em doenças oftalmológicas primárias, como em doenças sistêmicas (Johns, 2009). As gripes humanas e felinas e a esgana nos cães são exemplos de doenças que não são primariamente oculares, mas que produzem manifestações oculares como a conjuntivite (Aiello & Mays, 1998; Helps, Reeves, Egan, Howard, & Harbour, 2003).

A conjuntivite foi um dos sintomas com significância estatística encontrado no grupo dos cães “positivos sem suspeita” do estudo. Entre os 37 cães deste grupo, 3 ( 8,1%) apresentaram o sintoma. Não se sabe ao certo os motivos que levaram estes cães a apresentarem conjuntivite no dia em que foram diagnosticados com DCC. Uma membrana conjuntiva inflamada devido a outra doença sistêmica poderia ser um motivo. Uma conjuntivite por uma possível migração errática de larvas de *D. immitis* poderia ser um outro motivo (Dantas-Torres et al., 2009; Hayasaki, Ueno, Ejima, Munakata, & Tamura, 2013)

A dermatite foi outro sintoma com significância estatística encontrado no grupo dos “positivos sem suspeita” do estudo. Foram encontrados 7 indivíduos (18,9%) deste grupo. Problemas de pele já foram sugeridos noutros trabalhos como sendo possíveis sinais de DCC (Miller, W. H., Griffin, C. E., Campbell, K. L., & Muller, G. H. (2013), Mozos et al., 1992; Seavers, 1998). Desta forma, o autor deste trabalho sugere que este dado fosse levado em consideração pelo clínico de animais de companhia, sugerindo a suspeita da DCC em pacientes que se apresentassem para consulta em áreas endêmicas da doença sem sintomatologia cardiorrespiratória, mas com problemas de origem dermatológica.

Há inclusive um relato de um cão com seborreia, eczemas e prurido em que todos estes sintomas desapareceram após o paciente ter sido tratado para a DCC (Seavers, 1998).

A diarreia foi o último sintoma encontrado entre os cães positivos para a DCC do estudo e que também apresentou significância estatística. Entre os 37 cães deste grupo, 4 (10,8%) apresentaram diarreia. Porém, não foi possível neste trabalho estabelecer uma relação entre este sintoma e a DCC e também não foi encontrada bibliografia que sugerisse a relação entre quaisquer problemas de ordem digestiva e a DCC, ainda que e mais uma vez, uma

síndrome cardiovascular com os consequentes problemas circulatórios poderia estar na sua gênese, como o que ocorre em alguns casos de Pediatria humana (Miranda et al., 2009).

## **7. Conclusão**

Este estudo concluiu que a DCC é uma doença endêmica nos arredores da VNSA, com um valor médio de 22,8% com algumas localidades a apresentarem prevalências que variaram entre 12,5% e quase 50%.

A Dirofilariose, causada por *D. immitis*, é uma zoonose e este trabalho poderia eventualmente ser uma ferramenta de divulgação desta zoonose na classe médica da região.

As Lagoas de Santo André e de Melides, os arrozais adjacentes a elas e os outros tipos de ocupações do solo presentes na zona do estudo, podem desempenhar papéis importantes na epidemiologia da doença, pois as localidades onde as prevalências de DCC foram mais elevadas possui nos seus arredores estes tipos de ocupações do solo. Porém, a análise das relações entre os elementos existentes que explicariam estes papéis não foram feitas neste trabalho.

As características morfométricas dos cães positivos para a DCC do estudo estiveram, na sua maior parte, em conformidade com outros trabalhos, que referem maiores prevalências em cães de maior porte e do sexo masculino.

Os sintomas nos cães positivos num estágio mais avançado da doença, confirmam a importância dos mesmos na suspeita da DCC em pacientes com sinais de doença cardiopulmonar, especialmente se a zona for endêmica.

Deste modo, conclui-se que a presença do nematode *D. immitis* nos arredores da VNSA é bastante prevalente e significativa merecendo estudos mais amplos, tanto nos aspectos relacionados com a população animal como com a humana.

## Referências Bibliográficas

- Aiello, S., & Mays, A. (Eds.). (1998). Heartworm disease (Dirofilariasis). In *The Merck Veterinary Manual* (pp. 93–97). Merck & Co. Inc.
- Alho, A. M., & Carvalho, L. M. (2012). *Dirofilariose Canina e Felina: Retrato de uma Epidemia Anunciada em Portugal*.
- Alho, A. M., Landum, M., Ferreira, C., Meireles, J., Gonçalves, L., de Carvalho, L. M., & Belo, S. (2014). Prevalence and seasonal variations of canine dirofilariosis in Portugal. *Veterinary Parasitology*, 206(1-2), 99–105.
- Almeida, A. P. G. de. (2011). Os mosquitos (Diptera, Culicidae) e a sua importância médica em Portugal: desafios para o século XXI. *AMP Formação*.
- Alves, L. C., de Almeida Silva, L. V., Faustino, M. A., McCall, J. W., Supakonderj, P., Labarthe, N. W., Caires, O. Survey of canine heartworm in the city of Recife, Pernambuco, Brazil. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 94(5), 587–90.
- American Heartworm Society. (2014). *Current Canine Guidelines for the diagnosis, prevention, and management of heartworm (Dirofilaria immitis) Infection in dogs*.
- American Heartworm Society. (2013). *Heartworms Today. The search for Solutions*.
- Aonuma, H., Yoshimura, A., Perera, N., Shinzawa, N., Bando, H., Oshiro, S., ... Kanuka, H. (2009). Loop-mediated isothermal amplification applied to filarial parasites detection in the mosquito vectors: *Dirofilaria immitis* as a study model. *Parasites & Vectors*, 2(1), 15.
- Aranda, C., Panyella, O., Eritja, R., & Castellà, J. (1998). Canine filariasis. Importance and transmission in the Baix Llobregat area, Barcelona (Spain). *Veterinary Parasitology*, 77(4), 267–75.
- Araújo, A. (1996). Canine and human *Dirofilaria immitis* infections in Portugal. A review. *Parassitologia*, 1-2.
- Atkins, C. (2005). Heartworm Disease In Dogs: An Update. In *Proceedings of the WSAVA Congress*. Mexico City.
- Atkins, C. (2010). Heartworm Disease. In E. Stephen & E. Feldman (Eds.), *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (pp. 1353 – 1380). Saunders Elsevier Inc.
- Baneth, G., Volansky, Z., Anug, Y., Favia, G., Bain, O., Goldstein, R. E., & Harrus, S. (2002). *Dirofilaria repens* infection in a dog: diagnosis and treatment with melarsomine and doramectin. *Veterinary Parasitology*, 105(2), 173–8.
- Bautista, M., Rojo Vásquez, F., & Guerrero, J. (1998). Filariatos. In M. Campillo & F. Rojo Vásquez (Eds.), *Parasitología Veterinaria* (pp. 679–693). McGraw-Hill-Interamericana de España.
- Bolio-Gonzalez, M. E., Rodriguez-Vivas, R. I., Sauri-Arceo, C. H., Gutierrez-Blanco, E., Ortega-Pacheco, A., & Colin-Flores, R. F. (2007). Prevalence of the *Dirofilaria immitis* infection in dogs from Merida, Yucatan, Mexico. *Veterinary Parasitology*, 148(2), 166–9.
- Boratne, A., Jayanthi, V., Datta, S., Singh, Z., Senthilvel, V., & Joice, Y. (2010). Predictors of knowledge of selected mosquito-borne diseases among adults of selected peri-urban areas of Puducherry. *J Vector Borne Dis*, 47, 249–256.
- Borrego, C., Lopes, M., Ribeiro, I., Carvalho, A., & Miranda, A. I. (2010). As alterações climáticas: uma realidade transformada em desafio. *Revista Captar: Ciência e Ambiente para Todos*.
- Bowman, D. D., & Atkins, C. E. (2009). Heartworm biology, treatment, and control. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 39(6), 1127–58, vii.
- Brown, H. E., Harrington, L. C., Kaufman, P. E., McKay, T., Bowman, D. D., Nelson, C. T., ... Lund, R. (2012). Key factors influencing canine heartworm, *Dirofilaria immitis*, in the United States. *Parasites & Vectors*, 5, 245.
- Byeon, K. H., Kim, B. J., Kim, S.-M., Yu, H. S., Jeong, H. J., & Ock, M.-S. (2007). A serological survey of *Dirofilaria immitis* infection in pet dogs of Busan, Korea, and effects of chemoprophylaxis. *The Korean Journal of Parasitology*, 45(1), 27–32.
- Calvert, C., & Thomason, J. (2008). Heartworm Disease. In L. Tilley, J. Francis, W. Smith, M. Oyama, & M. Sleeper (Eds.), *Manual of canine and feline cardiology* (pp. 183–199). Elsevier.
- Cancrini, G., Allende, E., Favia, G., Bornay, F., Antón, F., & Simón, F. (2000). Canine dirofilariosis in two cities of southeastern Spain. *Veterinary Parasitology*, 92(1), 81–6.

- Capelli, G., Poglayen, G., Bertotti, F., Giupponi, S., & Martini, M. (1996). The host-parasite relationship in canine heartworm infection in a hyperendemic area of Italy. *Veterinary Research Communications*, 20(4), 320–30.
- Carmo, I., Lima, O., Carmo, R., Carmo, F., Pires, M., Júnior, D., & Sanavria, A. (2008). Avaliação da influência de fatores intrínsecos na infecção por *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) em cães do Município de Maricá, Estado do Rio de Janeiro. In 35º *Conbravet - Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*.
- Carretón, E., Corbera, J. A., Juste, M. C., Morchón, R., Simón, F., & Montoya-Alonso, J. A. (2011). *Dirofilaria immitis* infection in dogs: cardiopulmonary biomarker levels. *Veterinary Parasitology*, 176(4), 313–6.
- Chalifoux, L., & Hunt, R. D. (1971). Histochemical differentiation of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum*. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 158(5), 601–5.
- Civelek, T., Yildirim, A., Ica, A., & Duzlu, O. (2007). Prevalence of canine heartworm disease in the Gemlik area of Bursa Province, Turkey. In C. Genchi, L. Rinaldi, & G. Cringoli (Eds.), *Dirofilaria immitis and D. repens in dog and cat and human infections*. Zagreb.
- Clemence, R., Sarasola, P., Genchi, C., Smith, D., Shanks, D., Jernigan, A., & Rowan, T. (2000). Efficacy of selamectin in the prevention of adult heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs in northern Italy. *Veterinary Parasitology*, 91(3-4), 251–258.
- Cringoli, G., Rinaldi, L., Veneziano, V., & Capelli, G. (2001). A prevalence survey and risk analysis of filariasis in dogs from the Mt. Vesuvius area of southern Italy. *Veterinary Parasitology*, 102(3), 243–52.
- Dantas-Torres, F., Lia, R. P., Barbuto, M., Casiraghi, M., Crovace, A., Caligiani, L., ... Otranto, D. (2009). Ocular dirofilariosis by *Dirofilaria immitis* in a dog: first case report from Europe. *The Journal of Small Animal Practice*, 50(12), 667–9.
- Datz, C. (2003). Update on Canine and Feline Heartworm Tests. *Compendium*, 25(1), 30–42.
- Duarte, G. F. F. 1982-. (2013). Factors shaping bat occurrence in urban green areas. ESCCAP. (2012). *Control of Vector-Borne Diseases in Dogs and Cats – Guideline 05*.
- Genchi, C., Rinaldi, L., Cascone, C., Mortarino, M., & Cringoli, G. (2005). Is heartworm disease really spreading in Europe? *Veterinary Parasitology*, 133(2-3), 137–148.
- Genchi, C., Rinaldi, L., Mortarino, M., Genchi, M., & Cringoli, G. (2009). Climate and *Dirofilaria* infection in Europe. *Veterinary Parasitology*, 163(4), 286–292.
- Genchi, C., Rossi, L., Cardini, G., Kramer, L. H., Venco, L., Casiraghi, M., Agostini, A. (2002). Full season efficacy of moxidectin microsphere sustained release formulation for the prevention of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs. *Veterinary Parasitology*, 110(1-2), 85–91.
- Genchi, C., Venco, L., & Genchi, M. (2007). Guideline for the laboratory diagnosis of canine and feline *Dirofilaria* infections. *Mappe Parassitologiche*, 8, 137–144.
- Githoko, A. K., Lindsay, S. W., Confalonieri, U. E., & Patz, J. A. (n.d.). Climate change and vector-borne diseases: a regional analysis. *Bulletin of the World Health Organization*, 78(9), 1136–1147.
- Glickman, L., Glickman, N., Moore, G., Lok, J., McCall, J., & Lewis, H. (2006). Comparative effectiveness of sustained-release moxidectin and ivermectin for the prevention of heartworm infection in dogs in United States. *Intern J Appl Res Vet Med*, 4.
- Glickman, L. T., Grieve, R. B., Breitschwerdt, E. B., Mika-Grieve, M., Patronek, G. J., Domanski, L. M., ... Malone, J. B. (1984). Serologic pattern of canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection. *American Journal of Veterinary Research*, 45(6), 1178–83.
- Godel, C., Kumar, S., Koutsovoulos, G., Ludin, P., Nilsson, D., Comandatore, F., Mäser, P. (2012). The genome of the heartworm, *Dirofilaria immitis*, reveals drug and vaccine targets. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 26(11), 4650–61.
- Goodwin, J. K. (1998). The serologic diagnosis of heartworm infection in dogs and cats. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 13(2), 83–7.
- Grauer, G. F., Culham, C. A., Cooley, A. J., Poff, B. C., Oberley, T. D., Brownfield, M. S., & Grieve, R. B. (1987). Clinicopathologic and histologic evaluation of *Dirofilaria immitis*-

- induced nephropathy in dogs. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 37(3), 588–96.
- Guerrero, J., McCall, J. W., Genchi, C., Bazzocchi, C., Kramer, L., Simòn, F., & Martarino, M. (2004). Recent advances in heartworm disease. *Veterinary Parasitology*, 125(1-2), 105–30.
- Hayasaki, M., Ueno, M., Ejima, H., Munakata, A., & Tamura, Y. (2013). A possible port of entry into the eye of dog during erratic canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) parasitism. *The Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science*, 75(3), 355–9.
- Helps, C., Reeves, N., Egan, K., Howard, P., & Harbour, D. (2003). Detection of *Chlamydomphila felis* and feline herpesvirus by multiplex real-time PCR analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(6), 2734–6.
- Hock, H., & Strickland, K. (2008). Canine and Feline *Dirofilaria immitis*: Life Cycle, Pathophysiology and Diagnosis. *Compendium*, 30(3), 133–141.
- Institute, I. rice R. (1987). Vector-borne disease control in human through rice agroecosystem management. In *Proceedings of the Workshop on Research and Training Needs in the Field of integrated Vector-borne Disease Control in Riceland Agroecosystems of Developing Countries*.
- Johns, K. (2009). *Ocular Manifestations of Systemic Disease*. American Academy of Ophthalmology.
- Klotins, K. C., Martin, S. W., Bonnett, B. N., & Peregrine, A. S. (2000). Canine heartworm testing in Canada: are we being effective? *The Canadian Veterinary Journal. La Revue Vétérinaire Canadienne*, 41(12), 929–37.
- Knight, D. H., & Lok, J. B. (1998). Seasonality of heartworm infection and implications for chemoprophylaxis. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 13(2), 77–82.
- Labarthe, N., & Guerrero, J. (2005). Epidemiology of heartworm: what is happening in South America and Mexico? *Veterinary Parasitology*, 133(2-3), 149–56.
- Laboratório, Merial. *Dirofilariose. Caracterização e esquema terapêutico. Protocolos Adulticidas Clássico e Alternativo*.
- Landum, M., Ferreira, C. C., Calado, M., Alho, A. M., Maurício, I. L., Meireles, J. S., ... Belo, S. (2014). Detection of *Wolbachia* in *Dirofilaria immitis* infected dogs in Portugal. *Veterinary Parasitology*, 204(3-4), 407–10.
- Latrofa, M. S., Weigl, S., Dantas-Torres, F., Annoscia, G., Traversa, D., Brianti, E., & Otranto, D. (2012). A multiplex PCR for the simultaneous detection of species of filarioids infesting dogs. *Acta Tropica*, 122(1), 150–4.
- Lee, A. C. Y., Montgomery, S. P., Theis, J. H., Blagburn, B. L., & Eberhard, M. L. (2010). Public health issues concerning the widespread distribution of canine heartworm disease. *Trends in Parasitology*, 26(4), 168–73.
- Leite, L., Navarro-Silva, M., Luz, E., Molinari, H., Círio, S., Marinoni, L., ... Scalet, W. (2007). Prevalência de *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) em cães do Canil Municipal de Guaratuba, Paraná, Brasil. *Est. Biol.*, 29, 73–79.
- Lima, A., & Poubel, R. (2008). Avaliação da influência de fatores intrínsecos na infecção por *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) em cães do município de Maricá, Estado do Rio de Janeiro. In *35º Conbravet - Congresso Brasileiro de Medicina Veterinária*.
- Litster, A., Atkins, C., Atwell, R., & Buchanan, J. (2005). Radiographic cardiac size in cats and dogs with heartworm disease compared with reference values using the vertebral heart scale method: 53 cases. *Journal of Veterinary Cardiology: The Official Journal of the European Society of Veterinary Cardiology*, 7(1), 33–40.
- Litster, A. L., & Atwell, R. B. (2008). Feline heartworm disease: a clinical review. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10(2), 137–44.
- Manfredi, M. T., Cerbo, A. di, & Genchi, M. (2007). Biology of filarial worms parasitizing dogs and cats. *Mappe Parassitologiche*, 8, 39–45.
- McCall, J. W., Genchi, C., Kramer, L. H., Guerrero, J., & Venco, L. (2008). Heartworm disease in animals and humans. *Advances in Parasitology*, 66, 193–285.
- McCall, J. W., & Guerrero, J. (2010). *Diagnosis, Prevention and Management of Heartworm (Dirofilaria immitis) infection in dogs. Guidelines for Canine Heartworm Disease*.

- Mckay, T., Bianco, T., Rhodes, L., & Barnett, S. (2013). Prevalence of *Dirofilaria immitis* (Nematoda: Filarioidea) in Mosquitoes From Northeast Arkansas, the United States. *Journal of Medical Entomology*, 50(4), 871–878.
- Miller, M. (2005). Heartworm disease- clinical essentials. In *Proceedings of the North American Veterinary Conference*. Orlando.
- Miller, W. H., Griffin, C. E., Campbell, K. L., & Muller, G. H. (2013). *Muller and Kirk's Small Animal Dermatology7: Muller and Kirk's Small Animal Dermatology*. Elsevier Health Sciences.
- Miranda, J. J., Davies, A. R., Smith, G. D., Smeeth, L., Cabrera, L., Gilman, R. H., ... Cama, V. A. (2009). Frequency of diarrhoea as a predictor of elevated blood pressure in children. *Journal of Hypertension*, 27(2), 259–65.
- Montoya, J. A., Morales, M., Ferrer, O., Molina, J. M., & Corbera, J. A. (1998). The prevalence of *Dirofilaria immitis* in Gran Canaria, Canary Islands, Spain (1994-1996). *Veterinary Parasitology*, 75(2-3), 221–6.
- Montoya-Alonso, J., & Gómez, E. C. (2012). *Dirofilariosis: pautas de manejo clinico*.
- Morchón, R., Carretón, E., González-Miguel, J., & Mellado-Hernández, I. (2012). Heartworm Disease (*Dirofilaria immitis*) and Their Vectors in Europe - New Distribution Trends. *Frontiers in Physiology*, 3, 196.
- Morini, S., Venco, L., Fagioli, P., & Genchi, C. (1998). Surgical removal of heartworms versus melarsomine treatment of naturally-infected dogs with risk of thromboembolisms. In L. Seward (Ed.), *Proceedings of the American Heartworm Symposium '98. American Heartworm Society* (pp. 235–240).
- Mortarino, M., Musella, V., Costa, V., Genchi, C., Cringoli, G., & Rinaldi, L. (2008). GIS modeling for canine dirofilariosis risk assessment in central Italy. *Geospatial Health*, 2(2), 253–61.
- Mouchet, J., & Brengues, J. (1990). [Agriculture-health interface in the field of epidemiology of vector-borne diseases and the control of vectors]. *Bulletin de La Société de Pathologie Exotique (1990)*, 83(3), 376–93.
- Mozos, E., Ginel, P. J., López, R., Carrasco, L., Mulas, J. M., & M. Molleda, J. (1992). Cutaneous Lesions Associated With Canine Heartworm Infection. *Veterinary Dermatology*, 3(4-5), 191–196.
- Néry, F. (2007). *Nomenclatura CORINE Land Cover: versão Portuguesa Comentada*.
- Niwetpathomwat, A., Kaewthamasorn, M., Tiawsirisup, S., Techangamsuwan, S., & Suvarnvibhaja, S. (2007). A retrospective study of the clinical hematology and the serum biochemistry tests made on canine dirofilariosis cases in an animal hospital population in Bangkok, Thailand. *Research in Veterinary Science*, 82(3), 364–9.
- Patel, A., Rathod, H., & Shah, P. (2011). Perceptions regarding mosquito borne diseases in an urban area of Rajkot city.
- Pereira, S. (2011). *Estudo Transversal de Dirofilariose Canina na Região da Madeira, Portugal*. Universidade do Porto.
- Poglayen, G., Martini, M., Bomben, L., & Roda, R. (1996). An updating of the occurrence of canine heartworm disease in northern Italy. *Veterinary Research Communications*, 20(4), 303–7.
- Rishniw, M., Barr, S. C., Simpson, K. W., Frongillo, M. F., Franz, M., & Dominguez Alpizar, J. L. (2006). Discrimination between six species of canine microfilariae by a single polymerase chain reaction. *Veterinary Parasitology*, 135(3-4), 303–14.
- Rocha, C. (2010). *Dirofilaria immitis e Dirofilariose canina: um estudo retrospectivo*. UTAD.
- Rosa, A., Ribicich, M., Betti, A., Kistermann, J. C., Cardillo, N., Basso, N., & Hallu, R. (2002). Prevalence of canine dirofilariosis in the City of Buenos Aires and its outskirts (Argentina). *Veterinary Parasitology*, 109(3-4), 261–4.
- Santos, M. (2002). *As Alterações Climáticas numa perspectiva de ameaça à Segurança Nacional*. Universidade Nova de Lisboa.
- Sarquis, J., & Neto, G. (2012). *Dirofilariose Canina*.
- Schnyder, M., & Deplazes, P. (2012). Cross-reactions of sera from dogs infected with *Angiostrongylus vasorum* in commercially available *Dirofilaria immitis* test kits. *Parasites & Vectors*, 5(1), 258.

- Schrey, C., & Trautvetter, E. (1998). Canine and feline heartworm disease –diagnosis and therapy. *Waltham Focus*, 8(2).
- Seavers, A. (1998). Cutaneous syndrome possibly caused by heartworm infestation in a dog. *Australian Veterinary Journal*, 76(1), 18–20.
- Silva, R. C. da, & Langoni, H. (2009). Dirofilariose. Zoonose emergente negligenciada. *Ciência Rural*, 39(5), 1614–1623.
- Simón, F., Kramer, L. H., Román, A., Blasini, W., Morchón, R., Marcos-Atxutegi, C., ... Genchi, C. (2007). Immunopathology of *Dirofilaria immitis* infection. *Veterinary Research Communications*, 31(2), 161–71.
- Simón, F., Siles-Lucas, M., Morchón, R., González-Miguel, J., Mellado, I., Carretón, E., & Montoya-Alonso, J. A. (2012). Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. *Clinical Microbiology Reviews*, 25(3), 507–44.
- Song, K. H., Lee, S. E., Hayasaki, M., Shiramizu, K., Kim, D. H., & Cho, K. W. (2003). Seroprevalence of canine dirofilariosis in South Korea. *Veterinary Parasitology*, 114(3), 231–6.
- Song, K.-H., Hayasaki, M., Cho, K.-W., Lee, S.-E., & Kim, D.-H. (2002). Cross-reactivity between sera from dogs experimentally infected with *Dirofilaria immitis* and crude extract of *Toxocara canis*. *The Korean Journal of Parasitology*, 40(4), 195–8.
- Song, K.-H., Tanaka, S., & Hayasaki, M. (2009). Scanning electron microscopic observation of ultrastructure of *Dirofilaria immitis* microfilaria. *The Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science*, 71(6), 779–83.
- Svobodova, V., & Misonova, P. (2005). The potential risk of *Dirofilaria immitis* becoming established in the Czech Republic by imported dogs. *Veterinary Parasitology*, 128(1-2), 137–40.
- Theis, J. H. (2005). Public health aspects of dirofilariasis in the United States. *Veterinary Parasitology*, 133(2-3), 157–80.
- Traversa, D., Aste, G., Milillo, P., Capelli, G., Pampurini, F., Tunesi, C., ... Boari, A. (2010). Autochthonous foci of canine and feline infections by *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in central Italy. *Veterinary Parasitology*, 169(1-2), 128–32.
- Tzipory, N., Crawford, P. C., & Levy, J. K. (2010). Prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, and *Borrelia burgdorferi* in pet dogs, racing greyhounds, and shelter dogs in Florida. *Veterinary Parasitology*, 171(1-2), 136–139.
- Venco, L. (2007). Heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in dogs. In C. Genchi, L. Rinaldi, & G. Cringoli (Eds.), *Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections (pp. 139–144).
- Venco, L., Genchi, C., & Simón, F. (2012). La filariosis cardiopulmonar (*Dirofilaria immitis*) en el perro. In F. Simón, C. Genchi, L. Venco, & M. Montoya (Eds.), *La filariosis en las especies domésticas y en el hombre* (pp. 19–60).
- Vezzani, D., & Carbajo, A. E. (2006). Spatial and temporal transmission risk of *Dirofilaria immitis* in Argentina. *International Journal for Parasitology*, 36(14), 1463–72.
- Vezzoni, A., & Venco, L. (1998). Patogenesis. In C. Genchi, L. Venco, & A. Vezzoni (Eds.), *La filariosi cardiopulmonare del cane e del gatto* (pp. 85–112). Editorial Scivac.
- Ware, W. (2009). Heartworm Disease. In *Small Animal Internal Medicine* (pp. 169–183). Elsevier.
- Yoshida, M., Nakagaki, K., Nogami, S., Harasawa, R., Maeda, R., Katae, H., & Hayashi, Y. (1997). Immunologic protection against canine heartworm infection. *The Journal of Veterinary Medical Science / the Japanese Society of Veterinary Science*, 59(12), 1115–21.