



Universidade de Évora

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Relatório de Estágio Curricular do Domínio Fundamental

Dirofilariose Canina

Rita Luz da Cruz

Orientador:

Professor Doutor José Alberto Caeiro Potes

Co-Orientador:

Dr. Frederico Alves Inácio

**2012
ÉVORA**

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Relatório de Estágio Curricular do Domínio Fundamental

Dirofilariose Canina

Rita Luz da Cruz

Orientador:

Professor Doutor José Alberto Caeiro Potes

Co-Orientador:

Dr. Frederico Alves Inácio

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, a quem devo tudo.

AGRADECIMENTOS

Não importa a que objectivos nos propomos durante o percurso da vida: tudo é incomparavelmente mais fácil e agradável quando não caminhamos sozinhos. Nesta minha caminhada de seis anos pude contar com o apoio de pessoas extraordinárias, algumas que estiveram presentes desde o início e outras que foram surgindo ao longo do caminho, como agradáveis surpresas. Posto isto, é obrigatório agradecer...

...Ao Professor Potes pelo apoio, pela disponibilidade, por todos os ensinamentos, conselhos e orientação, não só durante esta última fase do estágio como também ao longo de todo o curso.

...Ao Dr. Frederico Alves Inácio pela orientação, pela amizade, por tudo o que me ensinou e pela paciência e boa disposição com que o fez, e acima de tudo, pela confiança que depositou em mim. À Ana Cardoso por ter sido uma boa amiga e conselheira, pelos conhecimentos transmitidos e por acreditar em mim. Ao Dr. Filipe Martinho por me ter ajudado a conhecer melhor as espécies exóticas e pelo seu gosto em ensinar. À Maria José por me ter recebido tão bem, pela amizade e simpatia. No geral, há muito que agradecer a esta equipa da Vetsam que me proporcionou um estágio recheado de episódios felizes (e de gomas e bolinhos). Obrigada a todos por me terem ajudado a crescer e a aprender da melhor forma que poderia imaginar.

...Ao Professor Montoya e à Elena Carretón pela generosidade, pelo auxílio prestado e pela disponibilidade e simpatia de ambos com que sempre pude contar.

...Aos meus pais por me terem ensinado que vale sempre a pena ser perseverante, mesmo quando a vida teima em nos tentar convencer do contrário, pelo apoio e amor incondicionais. À minha irmã por ter crescido sem eu ter dado conta e ter conseguido ser a minha melhor amiga, ficando sempre ao meu lado nas alturas mais negras.

...Aos meus avós pelo carinho e preocupação, por terem estado sempre presentes em todas as etapas da minha vida. Ao meu tio Daniel por ser um verdadeiro irmão mais velho e por estar sempre disponível para mim.

...Ao Luís Fe por ser um porto de abrigo, um apoio incondicional e uma fonte inesgotável de mimos e força.

...À Inês Costa, à Filipa Cabecinhas, à Sara Mendes, à Diana Rodrigues, à Alexandra Reis, à Luísa Coelho e a todos os amigos maravilhosos que tornaram tudo muito mais fácil e muito mais feliz. À Rosa Pais pela paciência inesgotável para me ouvir e aconselhar, mesmo a muitos quilómetros de distância. Aos primos Bianca e André por todo o apoio e carinho.

...À Morgana, à Wanda, à Maria Bolacha e à Açorda por tornarem a minha existência muito mais feliz e por me fazerem amar ainda mais a minha futura profissão.

...A todos aqueles que, de uma forma ou de outra, torceram por mim, encorajando-me a seguir o meu caminho sem vacilar.

...Por último – e porque não posso só agradecer aos que me apoiaram e acreditaram em mim – agradeço ainda aos que não o fizeram. Sem eles, esta conquista jamais teria o mesmo sabor.

DIROFILARIOSE CANINA

RESUMO

A dirofilariose é uma parasitose causada por nemátodes do género *Dirofilaria*, transmitidos por vetores culicídeos. As espécies mais importantes são *D. immitis* e *D. repens*, responsáveis pela dirofilariose cardiopulmonar e subcutânea, respetivamente, afetando canídeos e felídeos. Possuem potencial zoonótico, provocando a dirofilariose humana pulmonar (*D. immitis*) e subcutânea/ocular (*D. repens*). Estes parasitas são hospedeiros da bactéria simbiótica, *Wolbachia*, importante na biologia das filárias, infeção e tratamento.

A distribuição da dirofilariose é cosmopolita, embora ocorra com maior frequência em climas tropicais e temperados, sendo a transmissão altamente suscetível às alterações climáticas.

Registaram-se quinze casos em Samora Correia, entre novembro e março, de canídeos infetados com *D. immitis*. Foi possível observar as relações entre a infeção e os fatores de risco que cada animal apresentava, verificando-se que canídeos do sexo masculino, com pelagem curta, idade superior a dois anos e que permanecem grande parte do dia no exterior eram os mais afetados.

Palavras-chave: canídeos, vetores, dirofilariose, *D. immitis*, *D. repens*.

CANINE DIROFILARIASIS

ABSTRACT

Dirofilariasis is a parasitosis caused by the nematodes of the genus *Dirofilaria* transmitted by culicid vectors. The most important species are *D. immitis* and *D. repens*, producing cardiopulmonary and subcutaneous dirofilariasis, respectively, both affecting dogs and cats. They have a zoonotic potential, being responsible for human pulmonary (*D. immitis*) and subcutaneous/ocular (*D. repens*) dirofilariasis. These parasites are hosts to a symbiotic bacteria, *Wolbachia*, crucial for the filarial biology, infection and treatment.

The distribution of dirofilariasis is cosmopolitan, occurring more frequently in tropical and temperate climates and its transmission is highly susceptible to climate changes. Between November and March, fifteen cases of dogs infected with *D. immitis* were registered in Samora Correia. It was possible to verify the relation between the infection and the risk factors and it was found that males, with short coat, more than two years old and remaining outdoors most of the time were the most affected.

Key-words: dogs, vectors, dirofilariasis, *D. immitis*, *D. repens*.

ÍNDICE GERAL

DEDICATÓRIA	I
AGRADECIMENTOS.....	II
RESUMO	IV
ABSTRACT.....	V
ÍNDICE GERAL	VI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	XIII
ÍNDICE DE QUADROS	XV
ABREVIATURAS E SIGLAS.....	XVI
CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO II - CASUÍSTICA	2
1. Medicina Preventiva	2
2. Patologia e Clínica.....	6
2.1 Cirurgia.....	7
2.2 Ortopedia e Traumatologia.....	9
2.3 Gastroenterologia.....	10
2.4 Oncologia	12
2.5 Cardiopneumologia	14
2.6 Nefrologia e Urologia.....	15
2.7 Dermatologia	17
2.8 Ginecologia, Obstetrícia e Andrologia.....	18
2.9 Endocrinologia.....	20
2.10 Oftalmologia	21
2.11 Toxicologia	22
2.12 Otorrinolaringologia.....	23
2.13 Pediatria e Neonatologia.....	23
2.14 Neurologia	24
2.15 Odontologia	24
2.16 Hematologia	25
2.17 Clínica de Exóticos.....	26
2.18 Patologias Infecto-Contagiosas e Parasitárias.....	26
CAPÍTULO III - MONOGRAFIA	28
1. Introdução.....	28

2.	Características Morfológicas e Biológicas de <i>Dirofilaria spp.</i>	30
2.1	<i>Dirofilaria immitis</i>	31
2.1.1	Morfologia dos Adultos.....	31
2.1.2	Microfilárias.....	32
2.2	<i>Dirofilaria repens</i>	32
2.2.1	Morfologia dos Adultos.....	32
2.2.2	Microfilárias.....	33
2.3	Vectores / Hospedeiros Intermediários.....	33
3.	Ciclo de Vida.....	36
4.	Relação Parasita-Hospedeiro.....	39
5.	<i>Wolbachia</i>	42
6.	Epidemiologia.....	44
6.1	Alterações Climáticas.....	47
6.2	Actividade Humana e Outros Factores.....	47
6.3	Influência da Profilaxia – o exemplo Canário.....	48
7.	Aspectos Clínicos e Patogénese da Dirofilariose.....	48
7.1	Dirofilariose Cardiopulmonar.....	48
7.2	Dirofilariose Subcutânea e Ocular.....	55
8.	Diagnóstico.....	56
8.1	Testes Antigénicos.....	56
8.2	Testes de Microfilárias.....	58
8.3	Exames Complementares.....	60
8.4	A <i>Wolbachia</i> enquanto ferramenta de diagnóstico.....	63
8.5	Diagnóstico de <i>D. repens</i>	63
9.	Tratamento.....	63
9.1	Terapia Adulticida.....	65
9.1.1	Dihidroclorato de melarsomina - Immiticide®.....	65
9.1.2	Tromboembolismo Pulmonar.....	66
9.2	Terapia Adjuvante.....	66
9.2.1	Corticosteróides.....	66
9.2.2	Anti-Inflamatórios Não-Esteróides / Aspirina®.....	66
9.2.3	Lactonas Macrocíclicas.....	66
9.2.4	Doxiciclina.....	67
9.3	Protocolo Recomendado pela American Heartworm Society (2012).....	68
9.4	Extracção Cirúrgica dos Parasitas Adultos de <i>D. immitis</i>	69
9.5	Terapêuticas Alternativas.....	71
9.5.1	Administração a Longo Prazo de Lactonas Macrocíclicas.....	71
9.5.2	Lactonas Macrocíclicas/Doxiciclina.....	72

9.5.3	Terapia Microfilaricida	73
9.6	Confirmação da Eficácia da Terapêutica Adulticida.....	73
9.7	Tratamento de <i>D. repens</i>	74
10.	Profilaxia	74
10.1	Lactonas Macroclícas	75
10.1.1	Administração Oral.....	76
10.1.2	Administração Tópica.....	76
10.1.3	Administração Parenteral.....	76
10.2	Falhas na Eficácia.....	76
10.3	Testagem Anual e Retestagem.....	76
11.	Prognóstico	77
12.	Novas Tendências de Investigação	77
12.1	Nova Espécie de <i>Dirofilaria</i>	80
CAPÍTULO IV - APRESENTAÇÃO ESTATÍSTICA DOS CASOS DE DIROFILARIOSE		81
1.	Caracterização da Zona	81
2.	Diagnósticos Efectuados	82
3.	Caracterização da População – Animais Positivos	83
4.	Motivos de Consulta	84
5.	Terapêutica.....	85
6.	Complicações	86
7.	Discussão	86
CAPÍTULO V - CONCLUSÃO.....		88
BIBLIOGRAFIA.....		89

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Logotipo da clínica	1
Figura 2 – Cesariana. a) incisão no útero; b) sutura de Cushing.	8
Figura 3 – Cirurgia ortopédica de redução de fractura em anca de felídeo.	8
Figura 4 – Ligamentoplastia (técnica extracapsular com nylon) para resolução de ruptura de ligamentos cruzados. a) criação de orifício na crista da tibia; b) passagem do nylon pelo orifício.	9
Figura 5 – Avulsão da pele e de alguns músculos devido a atropelamento.....	10
Figura 6 – Enterotomia para remoção de corpo estranho intestinal.....	11
Figura 7 – Cirurgia de hérnia perineal em Yorkshire Terrier.	11
Figura 8 – Aspecto do fígado (seta verde) e restantes vísceras em necrópsia de gato com lipidose hepática.	11
Figura 9 – Alimentação forçada através de tubo nasogástrico em gato com lipidose hepática.	12
Figura 10 – Linfoma intestinal. a) Laparotomia; b) Aspecto citológico (100x; preparado com DiffQuick®).	13
Figura 11 – Carcinoma orofaríngeo em Cocker Spaniel sénior.....	13
Figura 12 – Lipoma de grandes dimensões.	13
Figura 13 – Mastocitoma. Citologia obtida por PAAF e corada com	14
Figura 14 – Cristal de estruvite em gato com obstrução uretral (40x).....	16
Figura 15 – Aglomerado de cristais de estruvite e oxalato de cálcio (40x) em felídeo com FLUTD (Feline Lower Urinary Tract Disease).	16
Figura 16 – Urólitos de oxalato de cálcio retirados cirurgicamente da uretra de um Yorkshire Terrier.	16
Figura 17 – Demodecose. b) escurecimento e liquenificação da pele em demodecose crónica num Chow-Chow internado devido a outra afecção concomitante; b) imagem microscópica de <i>Demodex</i>	18
Figura 18 – <i>T. mentagrophytes</i> , causador de dermatofitose em canídeo (100x).	18
Figura 19 – Útero após ovariectomia, em gata com uso crónico de pílulas contraceptivas.....	19

Figura 20 – Útero severamente distendido devido à acumulação de conteúdo purulento no seu interior.....	19
Figura 21 – Diferença entre o testículo normal (esquerda) e o testículo criptorquídico, atrofiado (direita).....	20
Figura 22 – Calcinose cutânea em canídeo com hiperadrenocorticismo.....	21
Figura 23 – Úlcera da córnea, cicatriz de úlcera antiga, hifema, deposição de fibrina e uveíte.	22
Figura 24 – Infecção umbilical em cachorro com 3 semanas.....	24
Figura 25 – Correção de sobrecrecimento dentário em coelho.....	25
Figura 26 – Capa do Tratado Cinegético de Francesco Birago. Fonte: Merial, 2008.	28
Figura 27 – Parasitas adultos no lúmen de uma artéria pulmonar. Fonte: Ferasin & Knight, 2005.....	32
Figura 28 – <i>Culex pipiens</i> . Fonte: DeVries, 2006.....	33
Figura 29 – Culicídeo fêmea, vista dorsal. Fonte: adaptado de Cancrini & Kramer, 2001....	34
Figura 30 – Ciclo de vida da <i>Dirofilaria immitis</i> no cão. Fonte: adaptado de Atkins, 2005....	38
Figura 31 – Interação entre filarídeos e mosquito vector (AMP – péptidos antimicrobianos; <i>fat body</i> – corpo adiposo). Fonte: Castillo et al., 2011.	40
Figura 32 – Corte transversal de uma fêmea de <i>D. immitis</i> onde foi feita uma marcação com anticorpos policlonais contra a proteína de superfície da Wolbachia. Fonte: Kramer, 2006.	43
Figura 33 – Comparação da distribuição geográfica na Europa da dirofilariose cardiopulmonar registada em cães entre 2001 e 2011. (Vermelho escuro – zonas endémicas; Rosa – casos esporádicos).....	46
Figura 34 – Actual distribuição geográfica de dirofilariose canina (Azul – <i>D. immitis</i> ; Verde – <i>D. repens</i> ; Laranja – ambos). Fonte: Simón et al., 2012).....	47
Figura 35 – Alterações patológicas induzidas pelos adultos nas artérias pulmonares (seta preta – adulto; seta amarela – vilosidades intravasculares bem desenvolvidas). Fonte: adaptado de Simón et al., 2012.....	50
Figura 36 – Patogénese da disfunção cardíaca induzida pela síndrome de veia cava da dirofilariose. A síndrome de veia cava complica a dirofilariose crónica quando ocorre a migração retrógrada dos parasitas das artérias pulmonares para a veia cava e átrio direito. A função da válvula tricúspide é alterada, resultando numa incompetência da mesma. A regurgitação da tricúspide sobrepõe-se à hipertensão pulmonar. A pré-carga ventricular esquerda diminui, seguido de uma falha cardíaca congestiva de baixo output. Ocorre desvio do septo à esquerda e movimento septal à direita que contribui para a baixa pré-carga do ventrículo direito. CO – output cardíaco; PAP – hipertensão pulmonar; CVP – pressão venosa central; RAE – aumento do átrio direito; APC – complexo atrial prematuro; VPC –	

complexo ventricular prematuro; RVH – hipertrofia do ventrículo direito; RVP – pressão ventricular direita; RVE – aumento do ventrículo direito; LVV – volume ventricular esquerdo. Fonte: adaptado e traduzido parcialmente (excepto siglas) de Atkins, 2005.	51
Figura 37 – Congestão hepática crónica em cão com síndrome de veia cava – hepatomegália, parênquima escuro devido a estase sanguínea. Fonte: Ferasin & Knight, 2005.....	52
Figura 38 – Progressão da dirofilariose. Fonte: adaptado e traduzido de Simón et al., 2012.	54
Figura 39 – Nódulo contendo fêmea adulta de <i>D. repens</i> , num cão em Itália. Fonte: Tarello, 2011.....	55
Figura 40 – Instruções do teste Uranotest®Dirofilaria, cuja sensibilidade é de 94,4% e especificidade de 100% (1- pipetar a amostra colocada previamente em tubo com EDTA; 2 – colocar duas gotas no poço para o efeito; 3 – aguardar 5 a 10 minutos; 4 – avaliar o resultado). Fonte: Urano®vet, 2012	57
Figura 41 – Técnica modificada de <i>Knott</i> : Extremidade anterior e posterior de <i>D. immitis</i> (A-B) e <i>D. repens</i> (C-D). Fonte: Traversa, Di Cesare & Conboy, 2010).	59
Figura 42 – <i>D. immitis</i> com evidências de actividade enzimática junto aos poros anal e excretor. Fonte: Chalifoux & Hunt, 1971.....	60
Figura 43 – Radiografia de um canídeo macho com 3,5 anos com dirofilariose. A – Plano ventrodorsal com a típica forma cardíaca de “D invertido”, indicando aumento do lado direito do coração. As artérias pulmonares lobares caudais estão marcadamente aumentadas e tortuosas. B – Plano lateral onde é evidente o contacto entre coração e esterno aumentado. Fonte: Bowman & Atkins, 2009.	61
Figura 44 – Resumo da abordagem diagnóstica. Fonte: adaptado de Atkins, 2005 e C. Genchi, 2007b.	62
Figura 45 – Apresentação esquemática da injeção intramuscular	65
Figura 46 – Cronologia do desenvolvimento de <i>D. immitis</i> , com os períodos de susceptibilidade às lactonas macrocíclicas e à melarsomina. O tracejado corresponde ao período durante o qual se considera que <i>D. immitis</i> não é susceptível a nenhum dos tratamentos. Fonte: adaptado de AHS, 2012; Merial Limited Duluth, GA, 2008.	67
Figura 47 – Pulmões de cães com dirofilariose. À esquerda - tratamento apenas com melarsomina; à direita - tratamento com ivermectina+doxiciclina+melarsomina. Fonte: AHS, 2012 (foto cedida por John McCall).....	68
Figura 48 – Exemplo de instrumentos utilizados (A – fórceps endoscópicos com pinças; B – Fórceps flexíveis de três fios). Fonte: Lee et al., 2008.....	70
Figura 49 – Procedimento de remoção de filárias (A – inserção do instrumento de remoção até ao lado direito do coração ou artéria pulmonar; B – remoção de filária da artéria pulmonar com fluoroscópio; C – remoção de filárias da bacia; D – parasitas removidos; E – exemplo de bacia que pode ser utilizada). Fonte: Lee et al., 2008.....	70

Figura 50 – Urina antes e depois (quadrado pequeno) do tratamento cirúrgico, onde se aprecia o desaparecimento da hemoglobínúria. Fonte: Lee et al., 2008.....	71
Figura 51 – Electrocardiogramas do animais infectados antes (A) e depois (B) da remoção cirúrgica dos parasitas. Em (A) pode apreciar-se um ritmo sinusal com complexos ventriculares prematuros ocasionais e em (B) não se registaram complexos ventriculares prematuros (durante uma hora de ECG). Fonte: Lee et al., 2008	71
Figura 52 – Modelo predictivo de dirofilariose baseado em GDD (growing degree days), uma medida de acumulação de calor. Início e final do período de transmissão da dirofilariose em algumas localidades da Europa. Fonte: Genchi et al., 2005	79
Figura 53 - Classificação climática de Köppen-Geiger de Portugal Continental. A vermelho está representada a zona do concelho de Benavente, de onde têm origem quase todos os pacientes positivos. Csa - clima temperado com Verão quente e seco; Csb - clima temperado com Verão seco e suave; BSk – clima de estepe fria da latitude média. Fonte: adaptado de Instituto de Meteorologia (www.meteo.pt)	81
Figura 54 – Paisagens do concelho de Benavente. A – Rio Almansor, Samora Correia. Fonte: Câmara Municipal de Benavente, 2012; B – Arrozaís na várzea de Santo Estêvão; C – Zonas pantanosas. Fonte: fotos gentilmente cedidas por Ana e António Oliveira.	82
Figura 55 – Microfilária observada em exame de gota fresca (objectiva: 10x)	82
Figura 56 – Microfilária detectada em nódulo subcutâneo (corado com DiffQuick®; objectiva - 100x).....	85

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Quantidade de vacinas aplicadas em gatos (n=168).....	3
Gráfico 2 – Quantidade de vacinas aplicadas em cães (n=562).....	4
Gráfico 3 – Quantidade de prevenções de Leishmaniose e Dirofilariose efectuadas.	5
Gráfico 4 – Quantidade de vacinas aplicadas em coelhos (n=9).	5
Gráfico 5 – Distribuição dos casos registados pelas diversas áreas da medicina veterinária (n=664).	6
Gráfico 6 – Cirurgias efectuadas (n=240) e respectivas frequências absolutas.....	7
Gráfico 7 – Diagnósticos efectuados na área de Ortopedia e Traumatologia (n=62).....	9
Gráfico 8 – Diagnósticos efectuados na área de gastroenterologia (n=52).....	10
Gráfico 9 – Diagnósticos efectuados na área de oncologia (n=35).....	12
Gráfico 10 – Diagnósticos efectuados na área de cardiopneumologia (n=32).....	15
Gráfico 11 – Diagnósticos efectuados na área de nefrologia e urologia (n=33).....	15
Gráfico 12 – Diagnósticos efectuados em dermatologia (n=32).....	17
Gráfico 13 – Diagnósticos efectuados nas áreas de ginecologia, obstetrícia e andrologia (n=17).	18
Gráfico 14 – Diagnósticos efectuados na área de endocrinologia (n=11).....	20
Gráfico 15 – Diagnósticos efectuados em oftalmologia (n=9).....	21
Gráfico 16 – Diagnósticos efectuados em toxicologia (n=16).	22
Gráfico 17 – Diagnósticos efectuados em otorrinolaringologia (n=12).....	23
Gráfico 18 – Diagnósticos efectuados em neurologia (n=6).....	24
Gráfico 19 – Casos de odontologia (n=13).....	25
Gráfico 20 – Animais exóticos presentes nas consultas (n=33).....	26
Gráfico 21 – Agentes etiológicos e doenças parasitárias e infecto-contagiosas diagnosticadas.....	27
Gráfico 22 – Número de testes antigénicos realizados e número de animais positivos, no período de estágio.....	82

Gráfico 23 – Relação entre as idades e o número de diagnósticos positivos.	83
Gráfico 24 – Distribuição dos casos positivos em animais do sexo feminino e masculino. ..	83
Gráfico 25 – Motivos de consulta que conduziram à realização dos testes antigénicos com resultados positivos.	84

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 – Quadro-resumo dos factores que Influenciam a Transmissão e Distribuição de <i>Dirofilaria</i> spp. (adaptado de González-Miguel, Gussoni, Morchón, Mellado & Simón, 2012)	48
Quadro 2 – Exames complementares de diagnóstico (adaptado de: Corrales, 2011b; Simón et al., 2012).....	61
Quadro 3 – Classificação dos pacientes nas categorias de baixo e alto risco de ocorrência de complicações tromboembólicas e síndrome de veia cava. Fonte: Venco, 2007a; Simón et al., 2012.....	64
Quadro 4 – Possíveis abordagens terapêuticas de suporte. Fonte: Simón et al., 2012; Venco, 2007a.....	64

ABREVIATURAS E SIGLAS

AHS – American Heartworm Society

ALT – Alanina Aminotransferase

AST – Aspartato Aminotransferase

CID – Coagulação Intravascular Disseminada

DAPP – Dermatite alérgica à picada da pulga

ADN – ácido desoxirribonucleico

d.p.i – dias pós-infecção

DVD – Dilatação-volvo-gástrico

ELISA – Enzyme-linked immunosorbent assay (ensaio de imunoabsorção enzimática)

FeLV – Vírus da leucose felina

FIV – Vírus da imunodeficiência felina

GDD – Growing degree days

GIS – Geographic Information System (sistema de informação geográfica)

IRA – Insuficiência renal aguda

IRC – Insuficiência renal crónica

m.p.i. – meses pós-infecção

PAAF – Punção aspirativa por agulha fina

PCR – Polymerase chain reaction (reação em cadeia da polimerase)

RS – Remote Sensing (sensoriamento remoto)

CAPÍTULO I - INTRODUÇÃO

O sexto ano do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária tem como objectivo principal conceder ao estagiário a possibilidade de colocar em prática e em situações reais saberes teóricos adquiridos ao longo do curso, aperfeiçoando técnicas e consolidando conhecimentos, ao mesmo tempo que se vão explorando novas áreas. Para isso, o aluno deve definir três domínios de estágio: dois acessórios, de curta duração e um fundamental, de longa duração. O domínio fundamental equivale à área da Medicina Veterinária de maior interesse para o estagiário, no âmbito da qual este possui pretensões de trabalhar no futuro.

O estágio curricular de domínio fundamental foi desenvolvido na área de clínica de animais de companhia, sendo aquele a base para a elaboração do presente relatório. O predomínio do interesse pela clínica de animais de companhia surgiu nos primeiros anos de curso, intensificando-se com a frequência das cadeiras das áreas de semiologia, cirurgia, patologia e clínica. Daí que, chegada a altura de definir estágios, a decisão de desenvolver o domínio fundamental em clínica de animais de companhia era óbvia.

A estagiária desenvolveu actividades na área supracitada durante cinco meses – de Novembro a Março - na clínica veterinária Vetsam (figura 1), localizada em Samora Correia, sob a orientação do Dr. Frederico Alves Inácio. Esta clínica, cuja actividade teve início no ano de 1999, conta com serviços de medicina preventiva, medicina interna, cirurgia, internamento, análises clínicas, radiografia, ecografia, electrocardiografia, não só abrangendo cães e gatos como também os chamados novos animais de companhia ou animais exóticos. Aqui, surgiram diversos casos interessantes de dirofilariose em cães, ou não fosse esta região do Ribatejo a região de Portugal Continental onde a prevalência da infecção é maior, rondando os 16,7% segundo o único estudo publicado (Araújo, 1996). Estes factos, a adicionar ao já antigo interesse pela área da patologia cardíaca, tornaram lógica a escolha do tema da dirofilariose canina.



O objectivo do presente trabalho centra-se na exploração do tema da dirofilariose, através da consulta dos últimos estudos e artigos publicados nos últimos anos, com vista a fazer uma abordagem o mais actual possível desta parasitose tão importante no cão. Finalmente, pretende-se ainda, com base na pesquisa e revisão bibliográfica feitas, analisar brevemente os vários casos de dirofilariose a que se assistiram durante o estágio.

CAPÍTULO II - CASUÍSTICA

O estágio no qual se baseia o presente relatório desenvolveu-se num horário semanal das dez e meia da manhã às oito da noite e, durante o fim-de-semana, das dez da manhã à uma da tarde, sendo que fora deste horário a estagiária pôde ainda intervir nas urgências mais relevantes. Antes da abertura da clínica, procedia-se ao tratamento dos internados. Todos os dias a estagiária teve oportunidade de usufruir de uma casuística rica e variada, tendo-lhe sido permitido participar em cada caso clínico, ajudando o médico veterinário, discutindo diagnósticos diferenciais e intervindo activamente no exame clínico, diagnóstico e terapêutica sempre que possível.

1. Medicina Preventiva

Uma das componentes mais fortes deste estágio foi representada pela medicina preventiva, em que a estagiária pôde aplicar protocolos vacinais e efectuar desparasitações nas várias espécies de animais de companhia, incluindo não só cães e gatos, como também coelhos. No total, contam-se 918 procedimentos na área da profilaxia médica correspondentes a aplicações de vacinas (não foram contabilizadas as desparasitações).

Os protocolos adoptados para gatos contemplam uma primeira vacinação contra o calicivírus, o vírus da rinotraqueíte infecciosa e o vírus da panleucopénia (Feligen CRP®), que deve ser administrada a gatos a partir dos dois meses, sendo administrado um reforço um mês depois. Nos casos em que os animais são negativos ao vírus da leucose felina (FeLV) mas encontram-se em contacto com animais cujo estado sanitário é desconhecido ou duvidoso, é recomendada ainda a vacinação contra este vírus (Leucogen®), em gatos a partir dos três meses de idade, sendo também feito um reforço um mês depois. Posteriormente, os gatos devem ser vacinados anualmente. As desparasitações internas são feitas a partir do primeiro mês de idade todos os meses até ao sexto mês, sendo que a partir daí a desparasitação é feita de quatro em quatro meses. Na clínica em que a estagiária desenvolveu as suas actividades, o produto de eleição para o efeito, consistia numa combinação de duas moléculas – a milbemicina oxima e o praziquantel (Milbemax® gatos) – permitindo não só o controlo de parasitas intestinais como também a prevenção da dirofilariose. As desparasitações externas iniciam-se geralmente a partir das oito semanas e são feitas através da aplicação de pipetas específicas para a espécie (por exemplo, com o imidaclopride - Advantage® - ou com fipronil - Effipro®).

Durante o período de estágio, foram administradas, no total, 168 vacinas a gatos, sendo que a Feligen CRP® foi aplicada 135 vezes, a Leucogen® 16 vezes e a combinação 17 vezes (gráfico 1). Cada consulta para vacinação incluía sempre não só o acto de administração da vacina como também um exame e anamnese completos de modo a confirmar o perfeito estado de saúde do animal e a sua competência para receber a imunização.

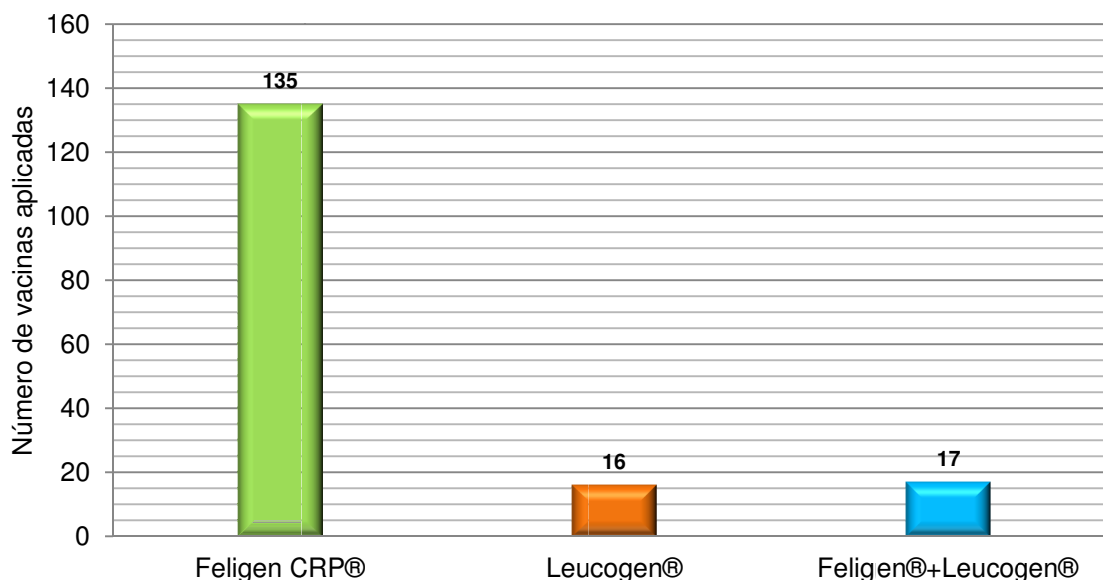


Gráfico 1 – Quantidade de vacinas aplicadas em gatos (n=168).

Nos cães, inicia-se o protocolo vacinal a partir das seis semanas de idade, com uma primeira vacina contra os vírus da parvovirose e da esgana (Nobivac® Puppy DP), sendo feito o reforço duas semanas depois, com a adição da vacina contra os vírus da hepatite e da traqueobronquite infecciosa ou tosse de canil e contra a leptospirose (Nobivac® DHPPi+Lepto). Após um mês é feito um reforço desta última vacina e a partir dos quatro meses pode ser administrada a vacina contra a raiva. Em animais mais susceptíveis, que frequentam hotéis, canis, exposições ou contactam com animais suspeitos, pode fazer-se uma vacinação específica contra a tosse de canil causada pelo vírus da *Parainfluenza* e pela *Bordetella bronchiseptica* (Nobivac®KC). Terminada a fase inicial de vacinação, os cães devem ser vacinados anualmente contra os vírus da esgana, da parainfluenza, da parvovirose, da raiva e adenovírus-2 e contra a leptospirose. Em determinados casos, é feita a prevenção do herpesvírus canino (Eurican Herpes 205®) em cadelas gestantes através da aplicação de duas doses – a primeira durante o cio ou sete a dez dias após a data da cobertura e a segunda uma a duas semanas antes da presumível data do parto. As desparasitações internas são efectuadas todos os meses a partir do primeiro mês de idade até aos seis meses, sendo que a partir daí a desparasitação deve ser feita de quatro em quatro meses. As moléculas de eleição utilizadas incluíam, tal como nos gatos, a combinação de milbemicina oxima e praziquantel (Milbemax® cães), possibilitando a

prevenção da dirofilariose ao mesmo tempo que se controlam os parasitas gastrointestinais, para além das combinações praziquantel, pirantel e febantel (Zipyran®) ou praziquantel e febendazol (Caniquantel Plus®).

Foram aplicadas, no total, 562 vacinas a cães, sendo 44 vacinas de cachorro, 230 Nobivac®DHPPi+Lepto, 80 vacinas contra a Raiva, 203 reforços anuais (DHPPi+Lepto+Raiva), 5 vacinas contra a tosse de canil e 6 contra o herpesvírus (gráfico 2). Todas as consultas de profilaxia incluíam, tal como referido para os gatos, um exame e anamnese completos de modo a comprovar que o animal se encontra em perfeitas condições para ser vacinado, ou seja, totalmente saudável.

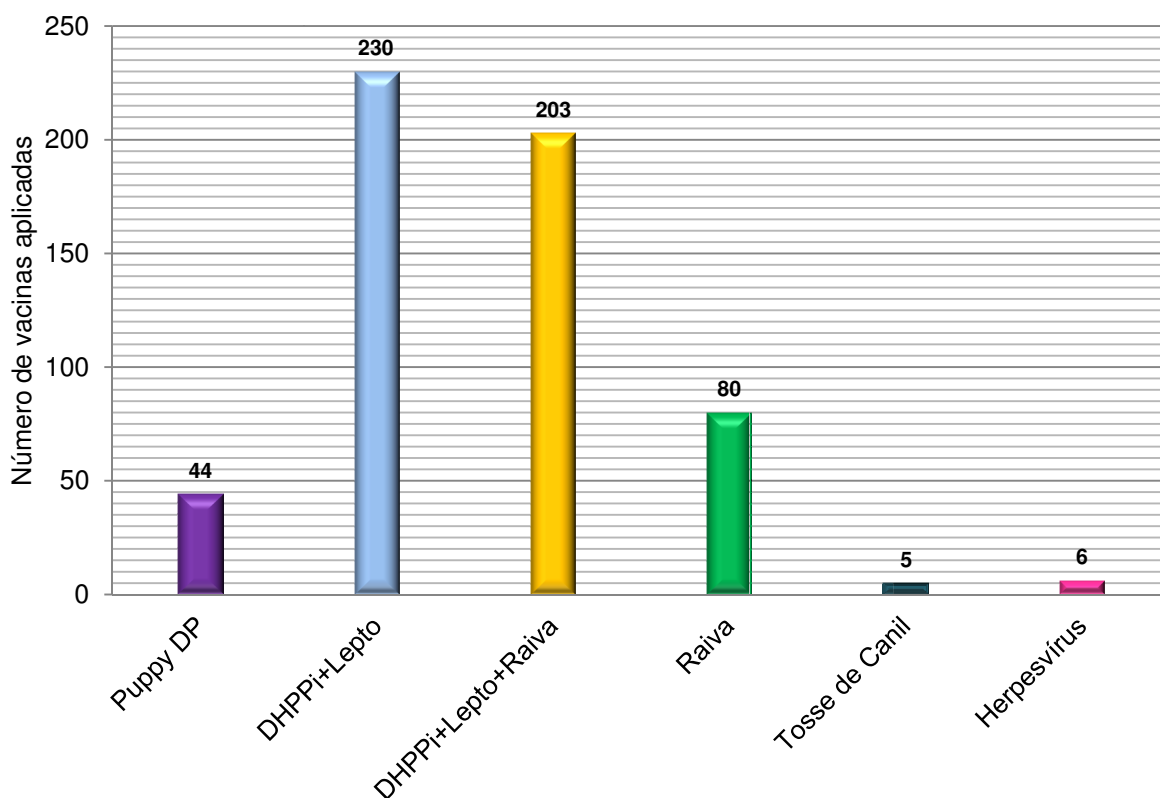


Gráfico 2 – Quantidade de vacinas aplicadas em cães (n=562).

Como na zona onde se desenvolveu o estágio a dirofilariose é uma doença endêmica de elevada prevalência, é recomendada iniciar a prevenção mensal em cachorros por via oral (comprimidos de milbemicina oxima - Interceptor® ou Milbemax® - ou ivermectina - Heartgard® -, por exemplo) passando depois para a forma injectável (moxidectina - Guardian®), administrada anualmente, e que é aconselhada em animais que já se encontram com um peso estável. Para iniciar a prevenção contra a dirofilariose, os cães têm que ter um resultado negativo no teste antigénico. Adicionalmente, é recomendada a desparasitação externa que pode ser feita a partir de coleiras ou pipetas, eliminando não só pulgas e carraças como também repelindo mosquitos e flebótomos transmissores da dirofilariose e leishmaniose, respectivamente. Adiante, falar-se-á com maior detalhe acerca da dirofilariose e sua prevenção.

Embora a Leishmaniose tenha, na zona onde decorreu o estágio, prevalências muito inferiores às da Dirofilariose, sendo Portugal uma zona endémica, a vacinação é mesmo assim recomendada a partir dos seis meses de idade, efectuando-se uma inoculação inicial seguida de dois reforços com três semanas de intervalo. Antes, é realizado um teste rápido para que se evite vacinar animais positivos. São feitos posteriormente reforços anuais.

De Novembro a Março, as prevenções da Dirofilariose foram 16,3 vezes mais do que as da Leishmaniose (gráfico 3), tendo-se concentrado mais as primeiras entre Fevereiro e Março e as últimas ao longo de todo o período de estágio.

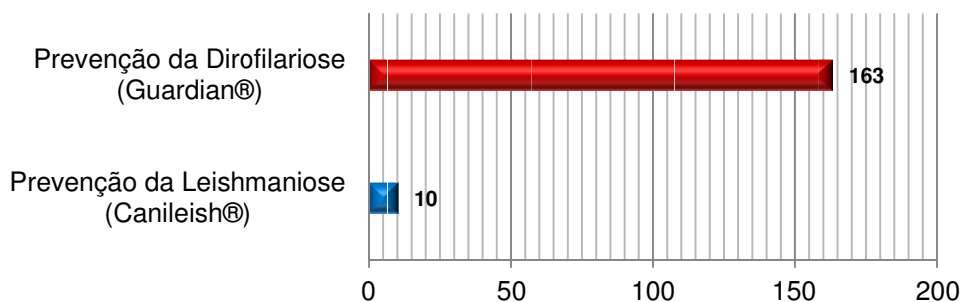


Gráfico 3 – Quantidade de prevenções de Leishmaniose e Dirofilariose efectuadas.

Embora a maior parte dos proprietários já esteja devidamente informada acerca da existência da Canileish®, a preocupação com a Dirofilariose é francamente maior, possivelmente pela frequência dos casos e pelo maior contacto que as pessoas têm com esta realidade, o que já não acontece com a Leishmaniose. Para além disso, o factor económico nos tempos que correm pesa bastante na decisão acerca de vacinar ou não vacinar um animal, numa região onde a doença ainda não tem claro impacto.

Os coelhos são vacinados contra a Mixomatose (Mixohipra®) e a Doença Vírica Hemorrágica (Calicivac®), sendo a vacina contra a primeira doença administrada aos dois meses de idade e a vacina contra a segunda, dada um mês depois (gráfico 4). O reforço pode ser anual ou semestral, consoante o animal esteja dentro de casa ou no exterior. A desparasitação é feita a cada seis meses.

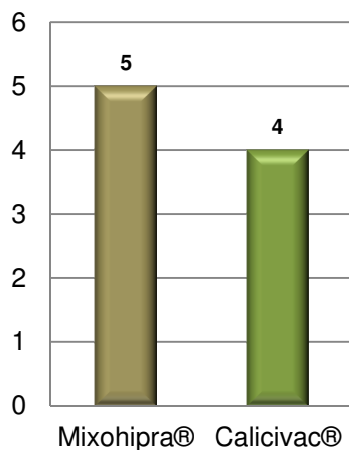


Gráfico 4 – Quantidade de vacinas aplicadas em coelhos (n=9).

2. Patologia e Clínica

Durante o período de estágio, foram registados 664 casos divididos pelas diversas áreas da patologia e clínica veterinária tal como apresentado abaixo (gráfico 5).

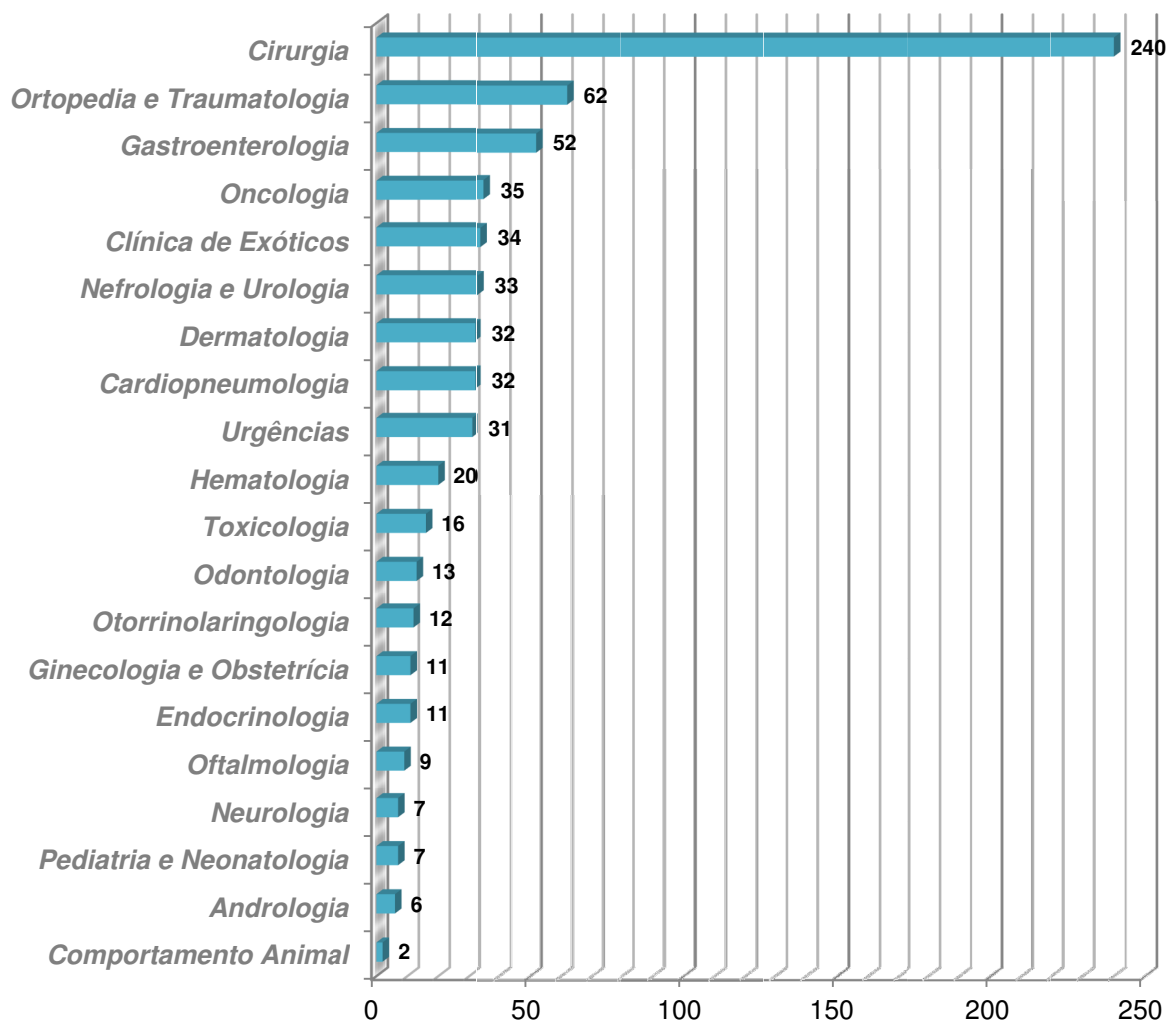


Gráfico 5 – Distribuição dos casos registados pelas diversas áreas da medicina veterinária (n=664).

As áreas com maior expressão durante o período em que se desenvolveram as actividades foram a cirurgia, ortopedia e traumatologia, gastroenterologia, oncologia, cardiopneumologia, dermatologia e nefrologia e urologia (particularmente, em gatos). No gráfico acima, surge representada a clínica de exóticos como uma área à parte embora os casos que nela se verificaram estejam também englobados nas outras áreas da patologia veterinária referidas no gráfico (para além de também se inserirem alguns na área da medicina preventiva, como demonstrado anteriormente aquando da referência às vacinações de coelhos).

A estagiária teve a oportunidade de intervir activamente em cada consulta, recolhendo dados para a anamnese, realizando exames físicos, exames complementares de diagnóstico e auxiliando o médico veterinário nos mais diversos procedimentos, discutindo com ele cada caso e respectivos diagnósticos diferenciais. Durante o estágio, foram feitas,

no total, 64 ecografias, 208 radiografias, 3 rinoscopias, 1 lavagem traqueobrônquica e muitos outros procedimentos de diagnóstico.

No geral, os procedimentos mais praticados foram a colocação de cateteres, administração de fármacos pelas vias subcutânea, endovenosa, intramuscular e oral, colheitas de sangue e de outros materiais para análise (raspagens cutâneas, tricogramas, cultura de fungos, PAAF - punção aspirativa por agulha fina), fazendo posteriormente o acondicionamento dos mesmos, coloração e observação ao microscópio, elaboração de hemogramas e análises bioquímicas recorrendo aos aparelhos destinados ao efeito, radiografias, mudanças de penso, intubações, suturas e pequenas cirurgias como orquiectomias de gato e destartarizações.

2.1 Cirurgia

A cirurgia é, claramente, uma área de relevo na clínica Vetsam onde a estagiária desenvolveu as suas actividades do estágio curricular. Eram marcadas, em média, cerca de quatro intervenções por semana, excepto cirurgias de urgência. As cirurgias mais frequentes foram as orquiectomias (34 em gatos e 4 em cães, num total de 38), ovariectomias (22 em gatas e 17 em cadelas, num total de 39) e as mastectomias (gráfico 6).

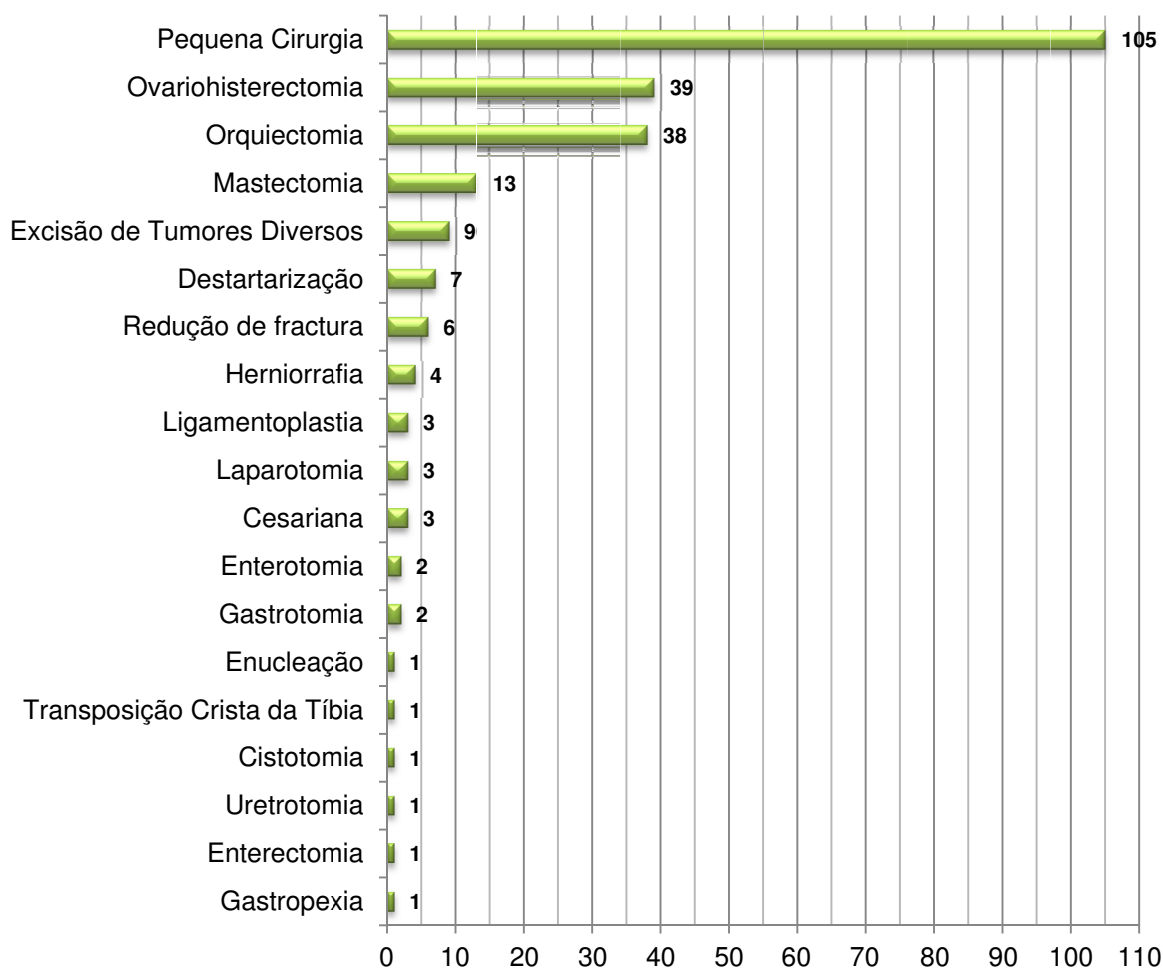


Gráfico 6 – Cirurgias efectuadas (n=240) e respectivas frequências absolutas.

A “pequena cirurgia” engloba procedimentos cirúrgicos menores como excisões de pequenos nódulos, drenagem de abscessos, limpezas e suturas de feridas, entre outros. A “excisão de tumores diversos” refere-se por exemplo aos casos de lipomas e mastocitomas resolvidos cirurgicamente, sendo que os adenocarcinomas mamários estão incluídos nas mastectomias.

Na área cirúrgica, a estagiária geralmente desempenhava as funções de anestesista ou de ajudante de cirurgião, ocupando-se ainda da preparação pré-cirúrgica do animal e bloco operatório e também do pós-cirúrgico e recuperação da anestesia no internamento de recobro.

As primeiras cirurgias em que a estagiária participou durante o estágio foram cesarianas. A última delas foi numa cadela de raça gigante (figura 2) da qual resultou um cachorro saudável, mas que necessitou de alguns cuidados acrescidos devido a dificuldades de alimentação e a algum desinteresse por parte da mãe.

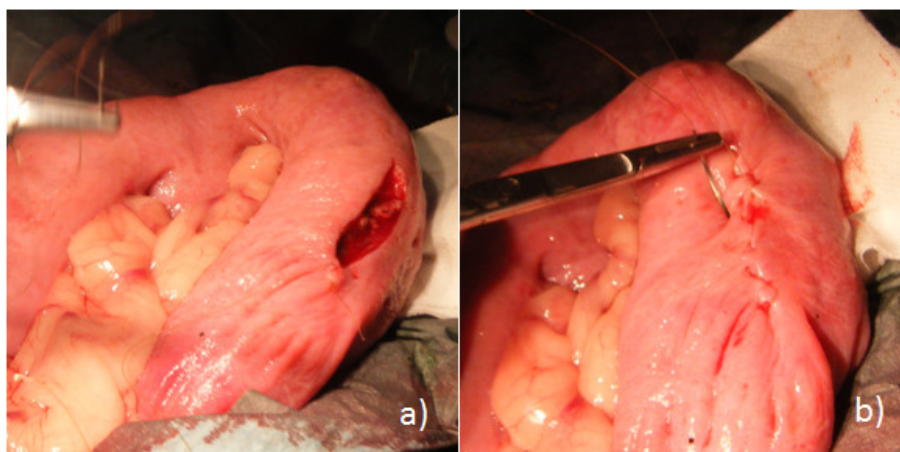


Figura 2 – Cesariana. a) incisão no útero; b) sutura de Cushing.

Uma parte significativa das cirurgias realizadas foi representada pelas cirurgias ortopédicas, tendo-se efectuado redução de vários tipos de fracturas (figura 3), resolução de rupturas de ligamentos (figura 4) e de luxações de patela.

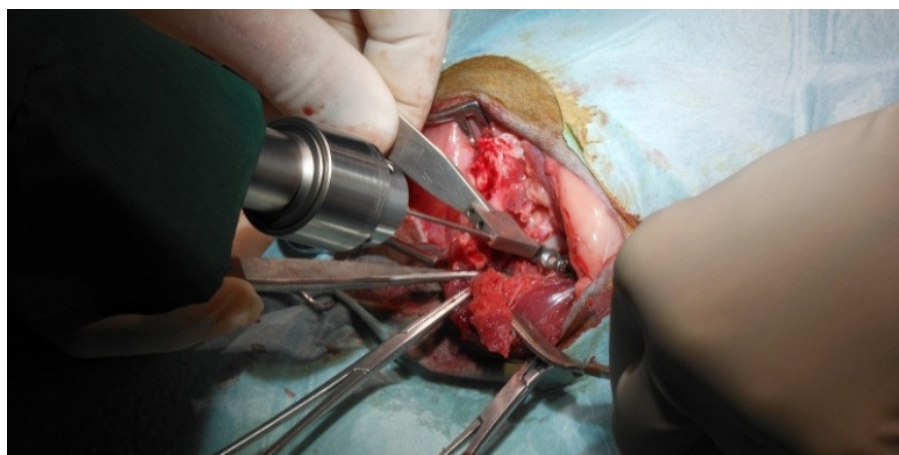


Figura 3 – Cirurgia ortopédica de redução de fractura em anca de felídeo.

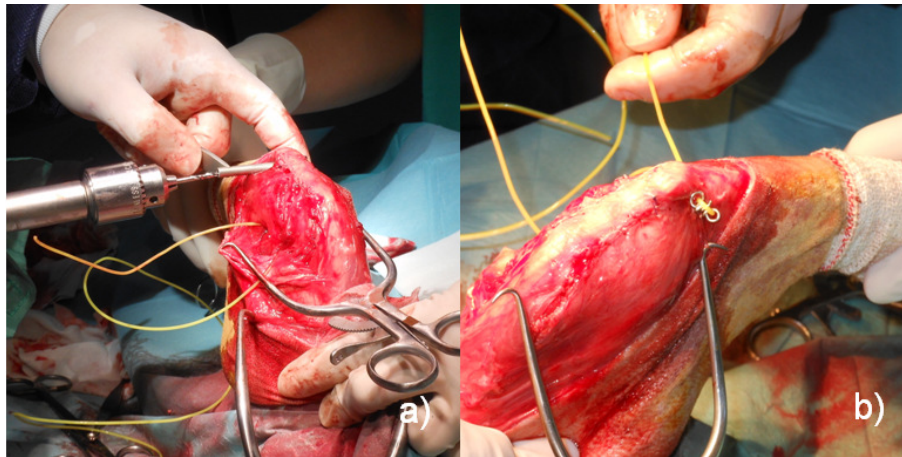


Figura 4 – Ligamentoplastia (técnica extracapsular com nylon) para resolução de ruptura de ligamentos cruzados. a) criação de orifício na crista da tíbia; b) passagem do nylon pelo orifício.

Das cirurgias enumeradas, três foram de urgência: uma de resolução de hérnia diafragmática num canídeo jovem atropelado, uma gastropexia para resolução de dilatação-vólvo-gástrico e uma para resolução de uma rotura de traqueia num canídeo sénior causada por mordeduras graves feitas durante um ataque de cães sofrido pelo animal em questão.

2.2 Ortopedia e Traumatologia

A ortopedia é a especialidade que se ocupa das doenças e deformidades dos ossos, músculos, ligamentos e articulações relacionadas com o aparelho locomotor. A traumatologia, por sua vez, lida com o trauma do aparelho músculo-esquelético. As duas áreas encontram-se claramente interligadas, apresentando-se aqui em conjunto (gráfico 7).

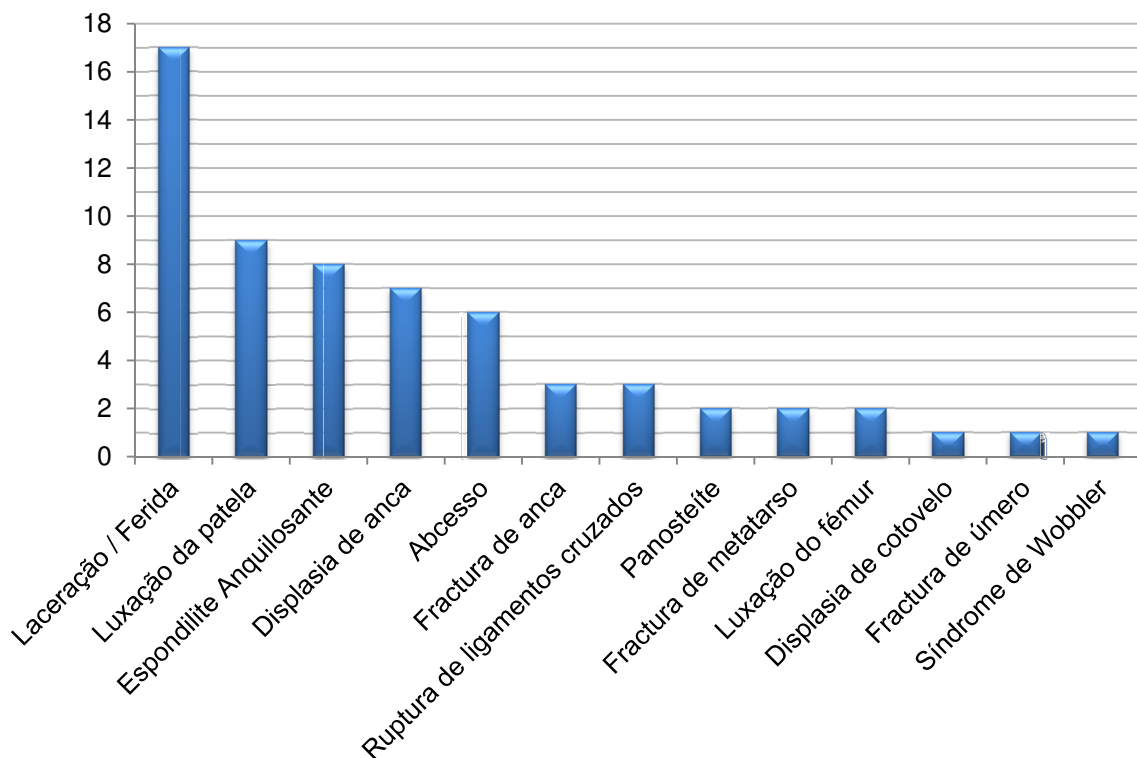


Gráfico 7 – Diagnósticos efectuados na área de Ortopedia e Traumatologia (n=62).

Os casos mais comuns foram lacerações, feridas e abscessos na sua grande maioria como consequência de atropelamentos (figura 5), mordeduras e outros acidentes.



Figura 5 – Avulsão da pele e de alguns músculos devido a atropelamento.

Nas consultas, era muito frequente encontrarem-se casos de luxação da patela, principalmente em cães de raças pequenas como o Yorkshire Terrier. Um dos achados mais frequentes ao raio-x em animais com idade superior a 6 anos com historial de dor na locomoção e adopção de posturas defensivas foram lesões disciais de espondilite anquilosante. A displasia da anca foi também um achado frequente nesta área em canídeos de raça grande ou gigante, mas também em raças médias, embora em menor escala. A estagiária teve oportunidade de participar em várias radiografias para despiste de displasia e pôde ver como se efectuam estes relatórios.

2.3 Gastroenterologia

Nesta área que se ocupa do estudo, diagnóstico e tratamento das afecções do aparelho digestivo a estagiária assistiu a um total de 52 casos, englobando na sua maioria canídeos mas também alguns felídeos (gráfico 8).

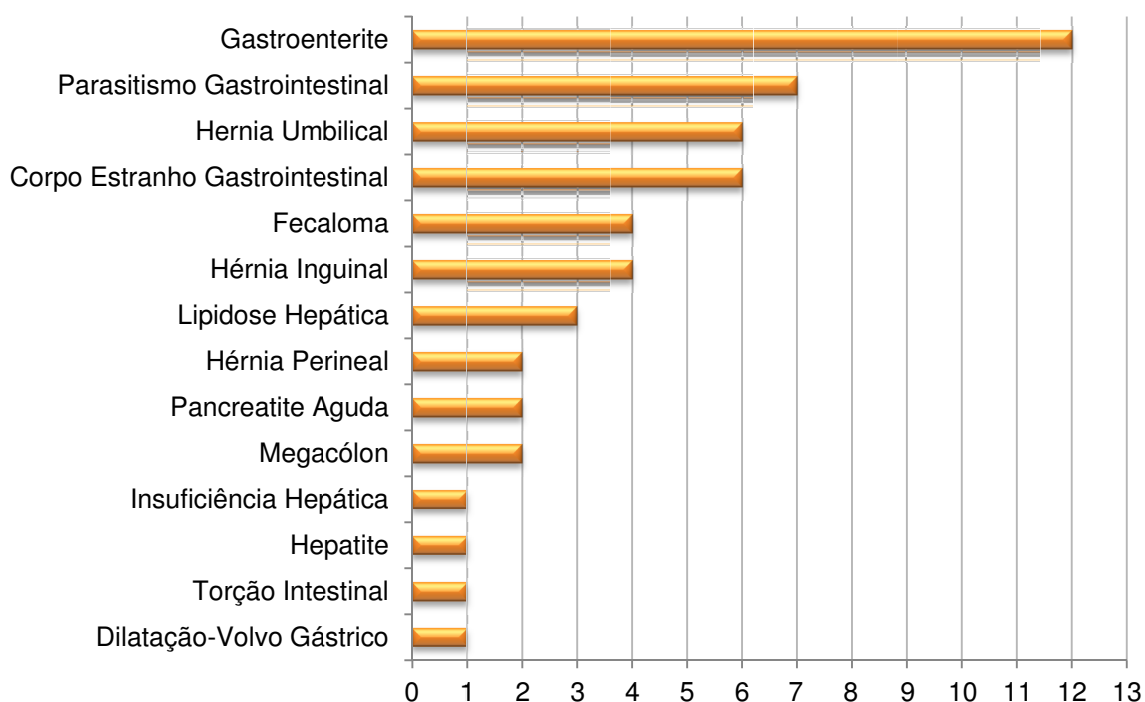


Gráfico 8 – Diagnósticos efectuados na área de gastroenterologia (n=52).

Os diagnósticos mais comuns incluíram gastroenterites (idiopáticas, alimentares, por ingestão de ervas, entre outros), casos de ingestão de corpos estranhos (com gastroenterites associadas) e parasitismo gastrointestinal (a apresentação dos parasitas identificados durante o estágio será feita mais à frente). Nos casos de ingestão de corpo estranho, apenas dois requereram cirurgia (figura 6).

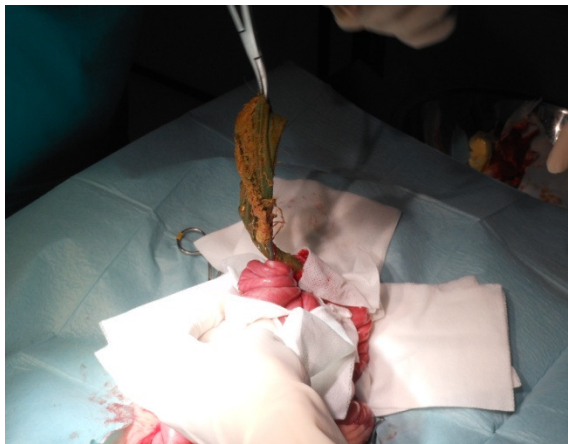


Figura 6 – Enterotomia para remoção de corpo estranho intestinal.

As hérnias também foram um diagnóstico muito comum, principalmente em primeiras consultas de cachorros. Quatro dos casos de herniação intestinal foram corrigidos cirurgicamente - duas hérnias perineais (figura 7) e duas hérnias inguinais.

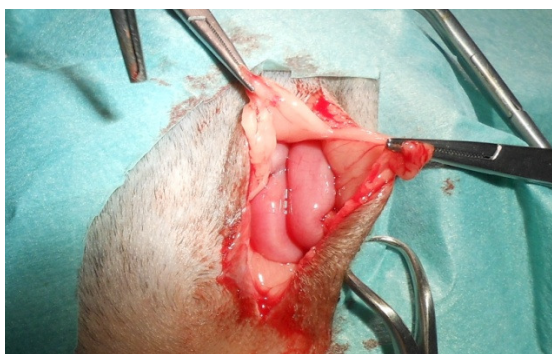


Figura 7 – Cirurgia de hérnia perineal em Yorkshire Terrier.

Em gatos, o principal diagnóstico nesta área foi a lipidose hepática (figura 8) como consequência de períodos de anorexia prolongados. Aqui, a alimentação forçada por sonda nasogástrica é preponderante na evolução dos casos (figura 9).

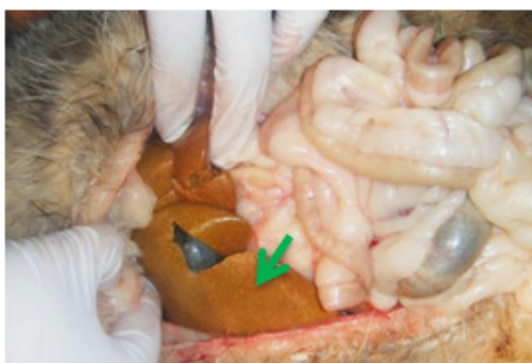


Figura 8 – Aspecto do fígado (seta verde) e restantes vísceras em necrópsia de gato com lipidose hepática.



Figura 9 – Alimentação forçada através de tubo nasogástrico em gato com lipidose hepática.

Os restantes casos incluíram fecalomas, insuficiências hepáticas e hepatites, pancreatites agudas e duas urgências de torção de intestino e dilatação-volvo-gástrico.

2.4 Oncologia

O diagnóstico de tumores foi bastante frequente ao longo do estágio, sendo que uma boa parte deles terminou na excisão cirúrgica. Na sua maioria eram tumores visíveis e palpáveis como mastocitomas, lipomas, histiocitomas, adenomas e adenocarcinomas mamários, o que proporcionou a vinda atempada dos animais à clínica e o diagnóstico em si, já que o próprio dono era capaz de identificar o problema (gráfico 9).

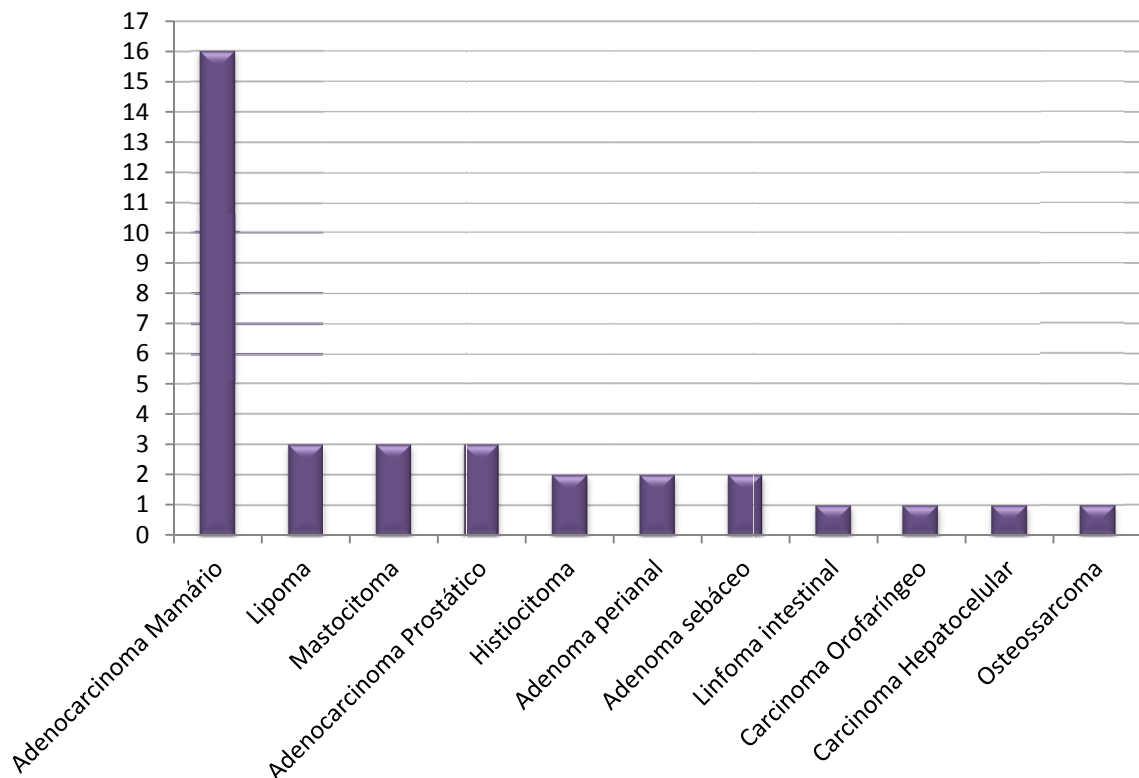


Gráfico 9 – Diagnósticos efectuados na área de oncologia (n=35).

A grande maioria dos diagnósticos foram adenocarcinomas mamários, em fêmeas inteiras (não ovariectomizadas), sendo que cerca de 80% efectuaram mastectomia.

Um dos animais, um felídeo de 14 anos, dada a inviabilidade da cirurgia, foi sujeito a quimioterapia com doxorubicina.

Os casos de linfoma intestinal (figura 10), carcinoma orofaríngeo (figura 11), carcinoma hepatocelular e osteossarcoma ocorreram em canídeos com idades entre os 5 e os 12 anos e resultaram, inevitavelmente, em eutanásia devido, essencialmente, ao decréscimo da qualidade de vida dos animais e fracasso dos cuidados paliativos, perante a falta ou impossibilidade de diagnóstico/tratamento atempado ou eficaz.

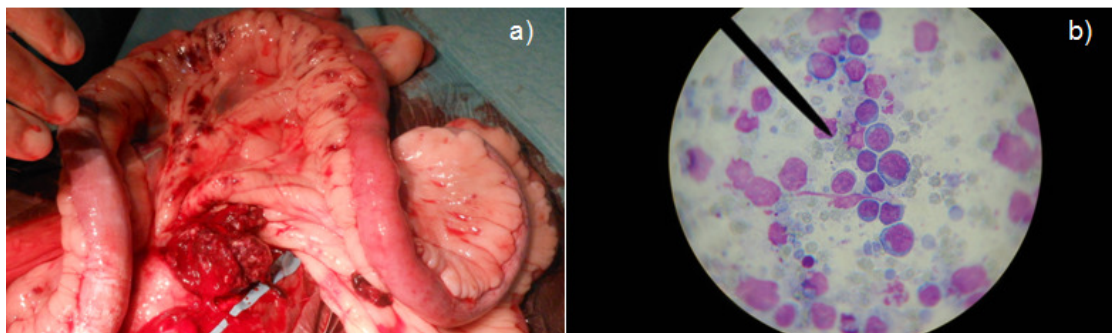


Figura 10 – Linfoma intestinal. a) Laparotomia; b) Aspecto citológico (100x; preparado com DiffQuick®).

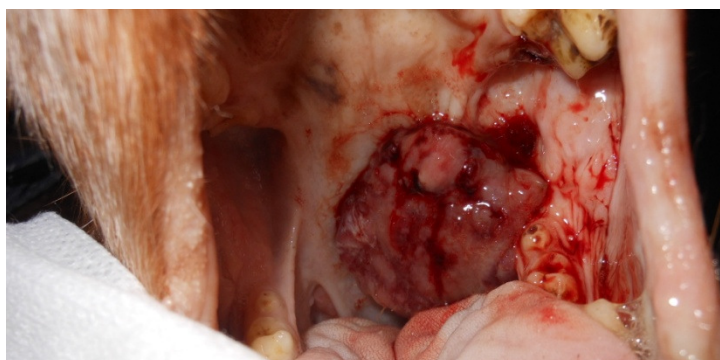


Figura 11 – Carcinoma orofaríngeo em Cocker Spaniel senior.

Outros casos frequentes incluíram lipomas que são tumores subcutâneos benignos de consistência mole e bem circunscritos, surgindo principalmente em cadelas idosas obesas (figura 12). A cirurgia é aconselhada sempre que a massa tenha proporções e localizações que interfiram com o bem-estar do animal, impeçam a sua locomoção ou causem desconforto.

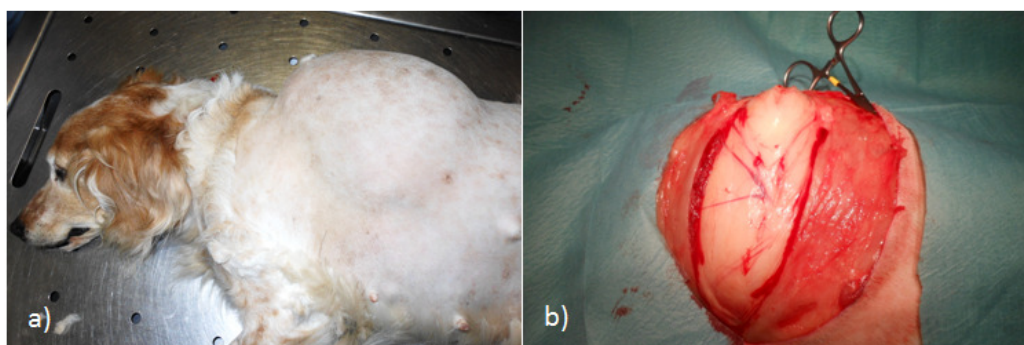


Figura 12 – Lipoma de grandes dimensões.

a) Aspecto após tricotomia pré-cirúrgica. b) Aspecto após incisão.

Os mastocitomas foram também casos interessantes e em todos eles foi efectuada cirurgia, não tendo havido em nenhum dos casos metastização nem complicações maiores (figura 12).

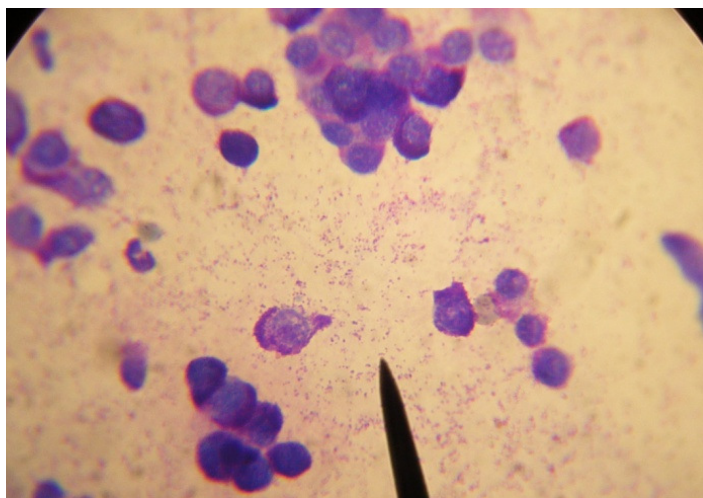


Figura 13 – Mastocitoma. Citologia obtida por PAAF e corada com DiffQuick® onde se aprecia a desgranulação de mastócitos (100x).

Nos casos em que se detectam massas palpáveis, é essencial proceder à recolha de material para citologia e observação ao microscópio, de modo a obter um diagnóstico definitivo, principalmente se se tiver em conta que diferentes patologias oncológicas podem assemelhar-se embora a sua gravidade e abordagem clínica nada tenham que ver uma com a outra. Por exemplo, algumas formas de mastocitoma (as que possuem consistência mole, sem superfície avermelhada e cobertas por pêlos) podem ser muitas vezes confundidas com um lipoma.

Perante estes casos, a estagiária pôde efectuar numerosas PAAF, tendo preparado as lâminas, procedendo à sua coloração e observação ao microscópio.

2.5 Cardiopneumologia

Nesta área, a estagiária participou na elaboração de diversas radiografias torácicas, electrocardiogramas e ecocardiogramas.

Em cerca de 43% dos casos desta área clínica foi diagnosticada dirofilariose, uma doença parasitária de elevada prevalência na região onde se desenvolveu o estágio, tal como já foi referido. Os diagnósticos representados no gráfico de tromboembolismo e síndrome de veia cava surgiram associados a casos de dirofilariose, como consequência desta condição (gráfico 10).

O segundo diagnóstico mais frequente foi o de insuficiência cardíaca, em 6 canídeos de raça pequena com idade superior a 6 anos.

Ambos os pneumotórax diagnosticados surgiram como consequência de atropelamentos, assim como o hemotórax. O mesmo animal que desenvolveu um dos pneumotórax também tinha uma hérnia diafragmática, devido ao trauma sofrido. As

pneumonias referidas foram diagnosticadas em dois gatos com FeLV e em dois cães jovens sem nenhuma outra patologia associada. A rotura de traqueia, como já referido anteriormente, ocorreu na sequência de um ataque por cães e foi resolvida cirurgicamente, no entanto, o animal acabou por não sobreviver.

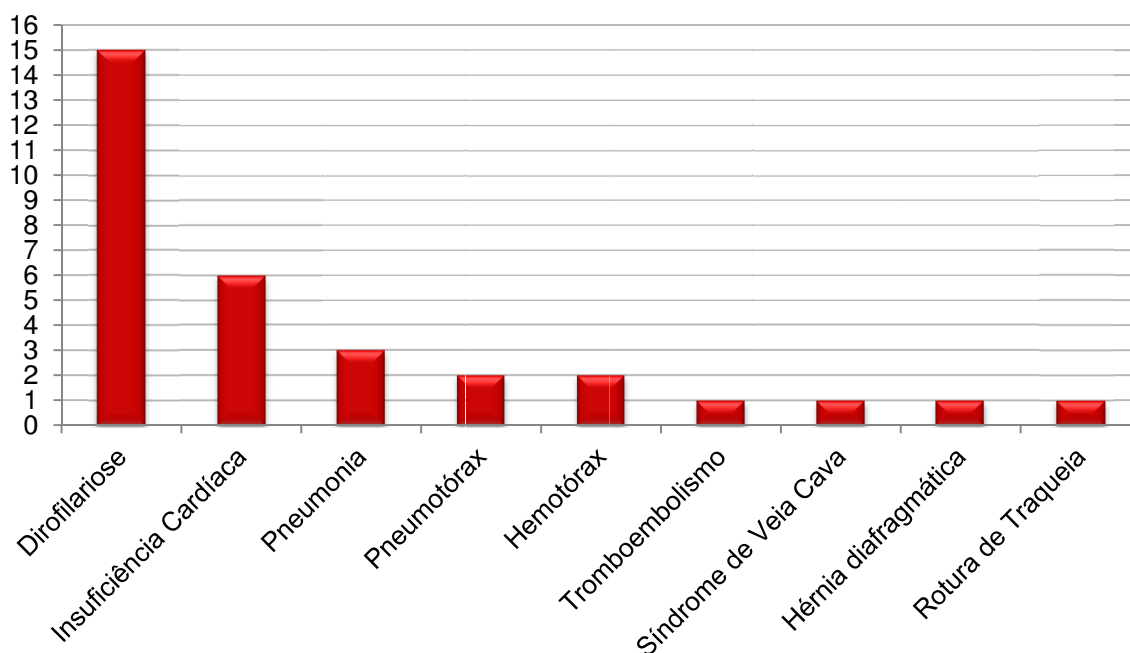


Gráfico 10 – Diagnósticos efectuados na área de cardiopneumologia (n=32).

2.6 Nefrologia e Urologia

Esta área clínica ocupa-se do diagnóstico e tratamento do sistema urinário (rins, ureteres, bexiga, uretra e, nos machos, também da próstata). Os diagnósticos efectuados nesta área correspondem na sua grande maioria a felídeos com mais de 8 anos (gráfico 11).

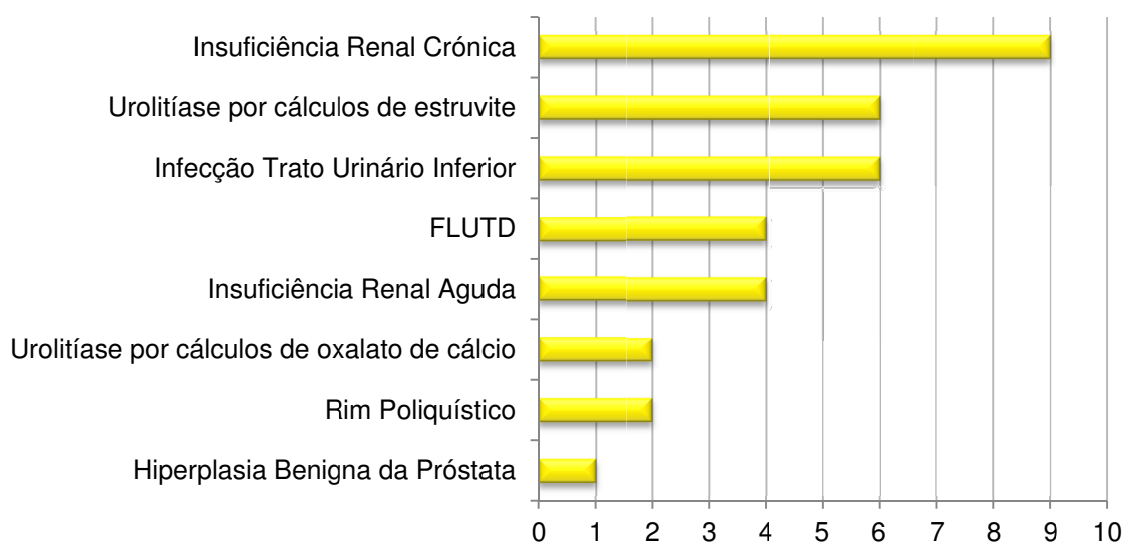


Gráfico 11 – Diagnósticos efectuados na área de nefrologia e urologia (n=33).

O diagnóstico mais frequente é a insuficiência renal crônica (IRC), tendo-se verificado 8 casos em gatos e um caso em cão. Dois dos casos de IRC em gatos terminaram em eutanásia devido à subida dos valores de ureia e creatinina para níveis inaceitáveis e incontroláveis com a terapêutica instituída que, geralmente, consiste em potenciar a perfusão e função renal, diminuindo a hipertensão através de um inibidor da enzima conversora da angiotensina – o benazepril – , fluidoterapia e manejo dietético com ração apropriada, baixa em fósforo e proteína. Se se justificar, recorre-se ainda a anti-eméticos e protectores gástricos.

As infecções do trato urinário inferior e as urolitíases/cristalúria por estruvite foram diagnósticos frequentes em felídeos (figura 14 e figura 15), estando na maior parte das vezes interligados e presentes no mesmo animal em simultâneo. Surgiu também um caso de obstrução uretral por urólitos de oxalato de cálcio num Yorkshire Terrier (figura 16).



Figura 14 – Cristal de estruvite em gato com obstrução uretral (40x).

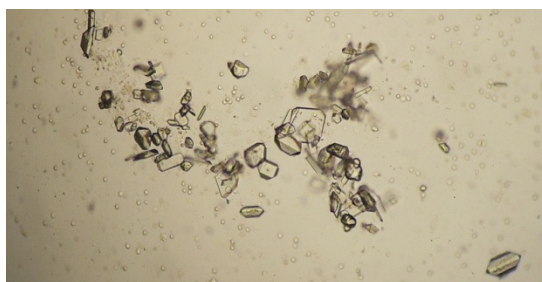


Figura 15 – Aglomerado de cristais de estruvite e de oxalato de cálcio (40x) em felídeo com FLUTD (Feline Lower Urinary Tract Disease – Doença do Trato Urinário Inferior dos Felinos).



Figura 16 – Urólitos de oxalato de cálcio retirados cirurgicamente da uretra de um Yorkshire Terrier.

Outros diagnósticos incluíram insuficiência renal aguda (IRA) em dois felídeos com anemia devido a *Mycoplasma haemofelis*, um parasita intra-eritrocitário que, devido à destruição de hemácias e subsequente hemoglobinúria conduz à lesão dos glomérulos. A IRA foi ainda diagnosticada em dois cães com falência orgânica generalizada.

O rim poliúístico foi diagnosticado em duas gatas persas, através de ecografia, sendo que numa delas procedeu-se à eutanásia devido à insuficiência renal com sintomatologia severa instalada. Foi ainda diagnosticado um caso de hiperplasia benigna da próstata em canídeo.

2.7 Dermatologia

Os casos de dermatologia também são muito frequentes na clínica veterinária, embora muitas vezes manifestações cutâneas surjam associadas a doenças sistémicas, como acontece nalgumas patologias endócrinas (como o síndrome de Cushing) e parasitárias (como a Leishmaniose), por exemplo.

Os diagnósticos mais frequentes foram de sarna demodéica (figura 17), dermatite por *Malassezia pachydermatis*, dermatite alérgica à picada da pulga (DAPP), pioderma e hipersensibilidade alimentar (gráfico 12).

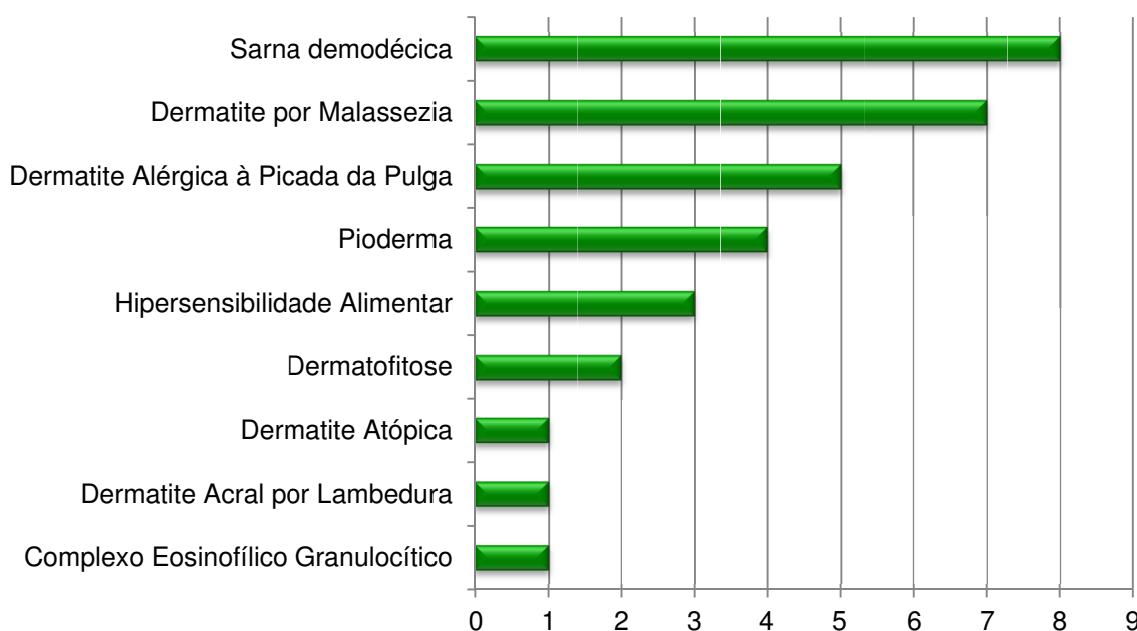


Gráfico 12 – Diagnósticos efectuados em dermatologia (n=32)

Foi ainda diagnosticado um caso de dermatite atópica em cão, um caso de complexo eosinofílico granulocítico em gato e dois casos de dermatofitose (figura 18). A dermatite acral por lamedura diagnosticada e referida no gráfico é, na verdade, muito mais do que um problema dermatológico, sendo para além disso um problema comportamental e, por vezes, alérgico. No entanto, por uma questão de organização – e como as consultas de Etologia não foram muitas – considerou-se preferível apresentar este diagnóstico aqui.

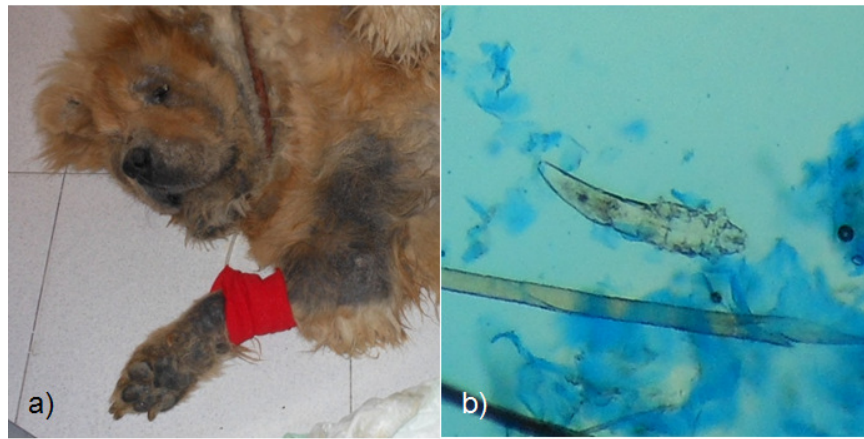


Figura 17 – Demodicose. b) escurecimento e liquenificação da pele em demodicose crónica num Chow-Chow internado devido a outra afecção concomitante; b) imagem microscópica de *Demodex spp.*

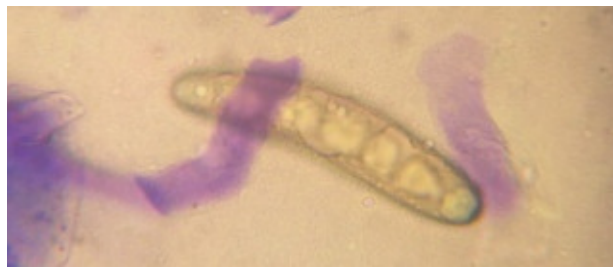


Figura 18 – *T. mentagrophytes*, causador de dermatofitose em canídeo (100x).

Nestes casos, a estagiária pôde proceder à recolha de amostras recorrendo aos meios mais variados: raspagem, tricograma, fita-cola, PAAF.

2.8 Ginecologia, Obstetrícia e Andrologia

Durante o período de estágio, surgiram 11 casos da área de Ginecologia e Obstetrícia, na sua grande maioria em canídeos (cerca de 80%), e 6 casos de Andrologia, em que apenas um foi em felídeo (fimose), sendo os restantes em canídeos (gráfico 13).

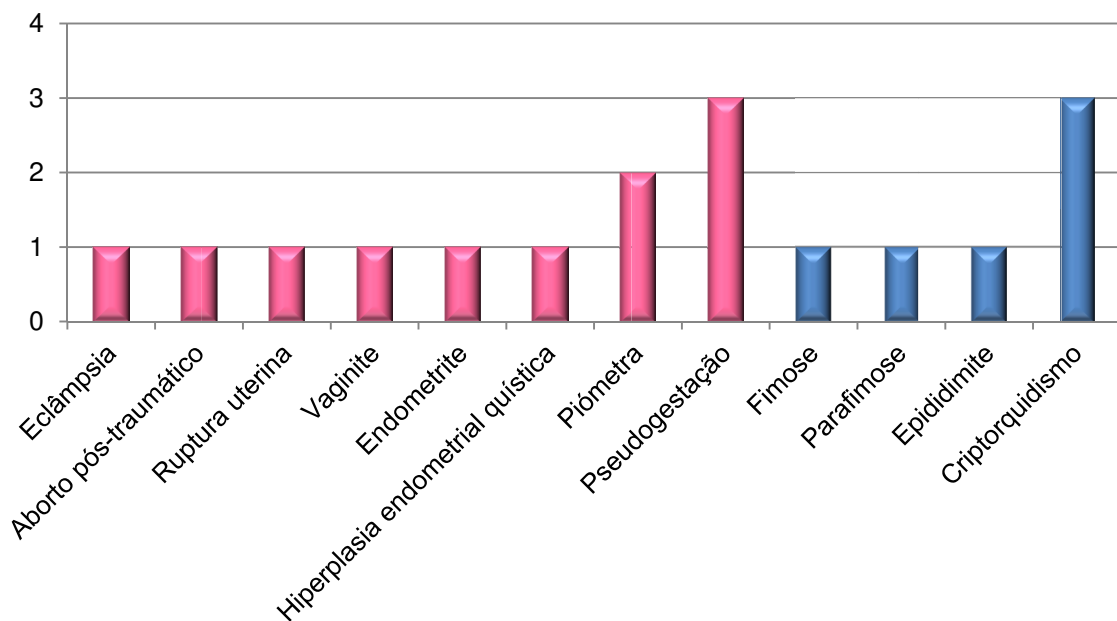


Gráfico 13 – Diagnósticos efectuados nas áreas de ginecologia, obstetrícia e andrologia (n=17).

O caso de eclâmpsia ocorreu numa cadela de raça Chihuahua, que havia tido três cachorros por cesariana há algumas horas. Nas análises sanguíneas pós-cirúrgicas/pós-parto detectaram-se baixos valores de cálcio, que foram rapidamente corrigidos através de fluidoterapia com suplemento de gluconato de cálcio a 10%. A hiperplasia endometrial quística foi um achado “acidental” durante a ovariectomia de uma gata com historial de administração crónica de fármacos contraceptivos (figura 19).



Figura 19 – Útero após ovariectomia, em gata com uso crónico de pílulas contraceptivas.

Uma das piómetras registadas ocorreu numa cadela Pastor Alemão que tinha tido o cio há dois meses e não tinha estado com nenhum macho (figura 20). Através da ecografia, juntamente com os dados da anamnese e exame físico, chegou-se rapidamente ao diagnóstico de piómetra. O animal foi sujeito a uma ovariectomia, tendo-se ainda recorrido a antibioterapia (ceftriaxona pré e pós-cirúrgica, seguida de amoxicilina e ácido clavulânico). A outra piómetra foi diagnosticada numa gata e, devido a restrições financeiras do proprietário, controlou-se com antibioterapia.

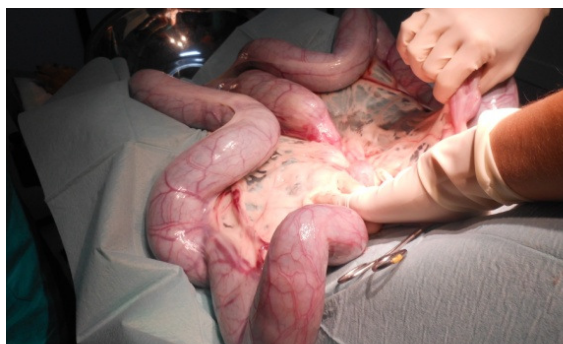


Figura 20 – Útero severamente distendido devido à acumulação de conteúdo purulento no seu interior.

Em machos, os casos de andrologia não foram tão numerosos. O primeiro caso da área foi de um gatinho com um estreitamento prepucial muito marcado (fimose) devido a inflamação por trauma induzido pelo irmão de ninhada, não conseguindo exteriorizar o pénis nem urinar adequadamente. O inverso aconteceu num canídeo sénior com exteriorização do pénis e estrangulamento do mesmo pela abertura prepucial insuficiente, não conseguindo assim retornar à posição normal (parafimose). A dor associada a esta condição era bastante severa, tendo-se optado por uma tranquilização e posterior bem-sucedida tentativa de recolocação do pénis na sua posição normal, recorrendo ao uso de lubrificantes e tentando desinflamar os tecidos. A situação mais frequente nesta área foi o criptorquidismo. Nestas

situações, é sempre aconselhável a orquiectomia devido ao risco acrescido de neoplasias no testículo criptorquídico (figura 21).



Figura 21 – Diferença entre o testículo normal (esquerda) e o testículo criptorquídico, atrofiado (direita).

2.9 Endocrinologia

A endocrinologia veterinária tem vindo a crescer nos últimos anos ao mesmo ritmo a que o apuramento dos testes de diagnóstico e a capacidade de resposta dos laboratórios aumentam. É uma área bastante complexa devido à amplitude de manifestações que podem existir e que afectam os mais diversos órgãos e sistemas.

O diagnóstico mais comum foi o hiperadrenocorticismismo, em canídeos com idades superiores a 7 anos (gráfico 14).

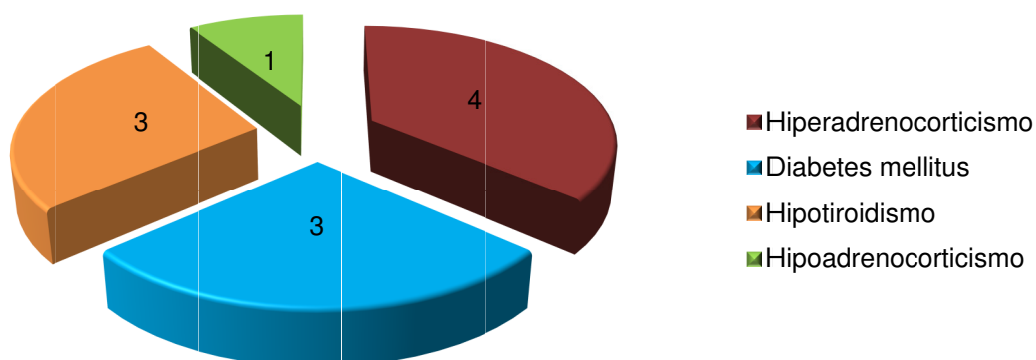


Gráfico 14 – Diagnósticos efectuados na área de endocrinologia (n=11).

Num dos animais, foi encontrada uma manifestação cutânea que apenas ocorre numa pequena percentagem dos animais afectados – a *calcinosis cutis* (figura 22). No entanto, o motivo de consulta não foi esta lesão – dado que o proprietário não lhe atribuiu importância – mas sim a poliúria/polidipsia e falta de pêlo. O animal apresentava ainda abdómen pendular, pele fina e comedões numerosos.



Figura 22 – Calcinose cutânea em canídeo com hiperadrenocorticismo.

Os restantes diagnósticos incluíram diabetes mellitus, hipotiroidismo e hipoadrenocorticismo.

Nestes casos, a estagiária pôde participar na discussão de diagnósticos diferenciais e ainda efectuar os diversos testes de diagnóstico adequados a cada suspeita, incluindo: curvas de glicémia, testes de supressão com dexametasona (com doses altas e doses baixas), recolha de sangue para análises laboratoriais diversas.

2.10 Oftalmologia

Nas consultas de oftalmologia foi possível treinar o exame oftálmico, recorrendo ao oftalmoscópio e às provas e testes disponíveis (teste de *Schirmer*, teste da fluoresceína, teste da reacção pupilar à luz, entre outros). O diagnóstico mais frequente foi a úlcera (figura 23) e, para além do tratamento tópico com colírios, optou-se algumas vezes pelo encerramento temporário da terceira pálpebra (*flap*) (gráfico 15).

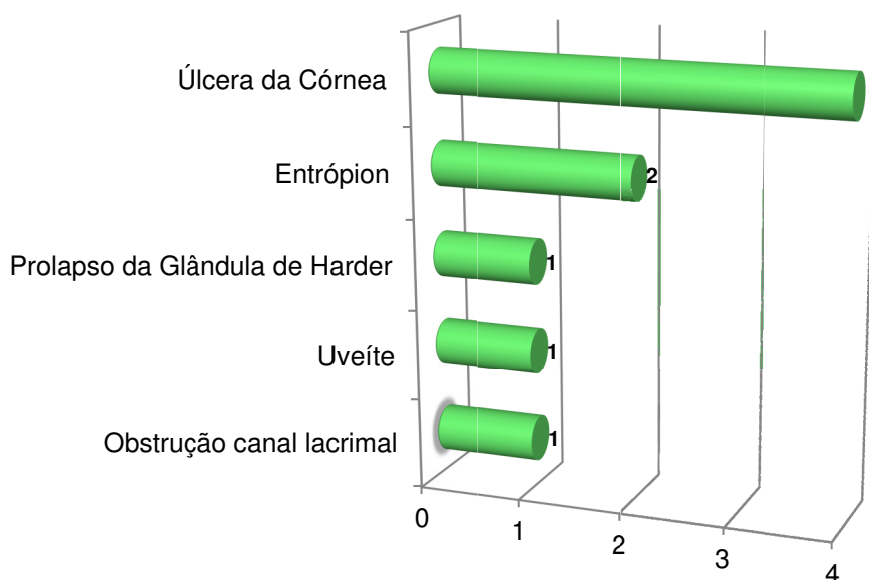


Gráfico 15 – Diagnósticos efectuados em oftalmologia (n=9)

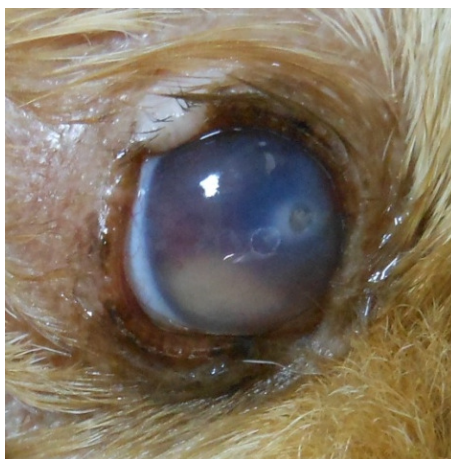


Figura 23 – Úlcera da córnea, cicatriz de úlcera antiga, hifema, deposição de fibrina e uveíte.

2.11 Toxicologia

A toxicologia ocupa-se do estudo das propriedades e efeitos dos venenos ou tóxicos sobre o organismo animal e do seu tratamento. Os casos de intoxicação foram, obviamente, todos urgências médicas (gráfico 16).

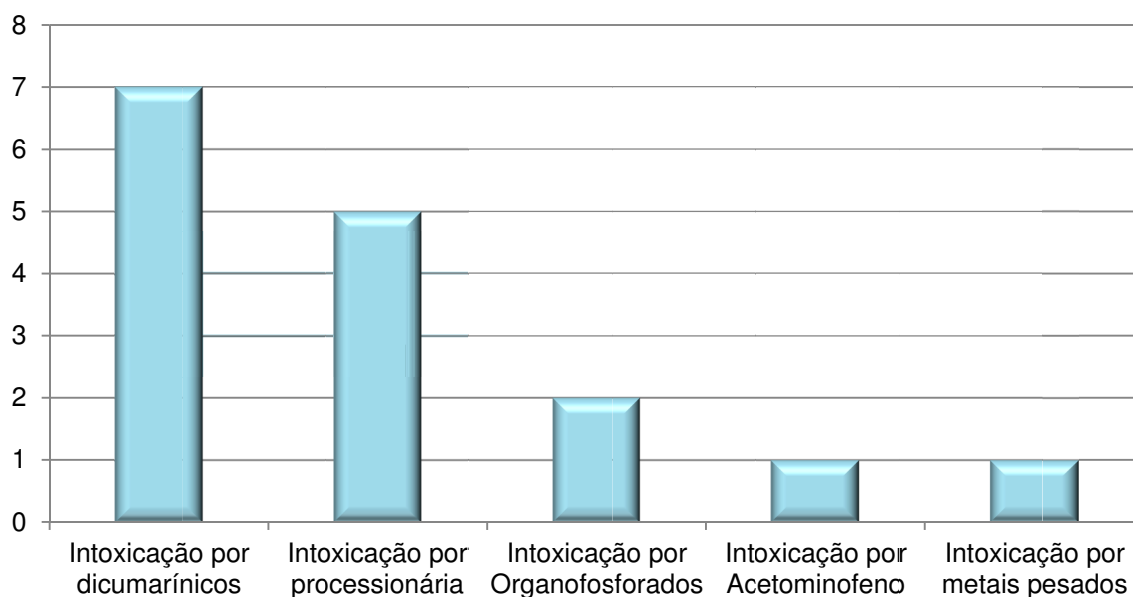


Gráfico 16 – Diagnósticos efectuados em toxicologia (n=16).

A intoxicação por dicumarínicos foi um diagnóstico frequente em cães que surgiam na consulta com hemorragias nasais e hematomas sublinguais. Num deles, a ingestão tinha-se dado pouco tempo antes da consulta e foi possível provocar a emese. Nos restantes, não foi viável provocar a emese, pelo que se recorreu unicamente à administração de vitamina K1 (sintética - Kanakion®), tendo sido, nalguns casos mais severos, necessária uma transfusão de sangue. Numa cadela gestante, a intoxicação acabou por conduzir ao aborto.

A intoxicação por contacto com a lagarta do pinheiro ou processionária – *Thaumetopoea pityocampa* – tornou-se um diagnóstico frequente a partir de Fevereiro, o que faz sentido dado que é em meados deste mês que ocorre a “procissão” onde as

lagartas passam da copa das árvores para o solo, onde se enterram, sendo nesta fase de transição que as lagartas se encontram acessíveis aos animais. A intervenção nestes casos foi rápida o suficiente para que não houvesse necrose nem perda de fragmentos de tecido lingual, excepto num caso em que passaram mais de vinte e quatro horas desde o contacto com a lagarta até à consulta. A intoxicação por acetaminofeno e por organofosforados ocorreram também em cães e a intoxicação por metais pesados foi diagnosticada num psitacídeo (*Agapornis roseicollis*).

2.12 Otorrinolaringologia

A otorrinolaringologia abrange o diagnóstico e tratamento das afecções dos ouvidos, nariz, faringe e laringe. Nas consultas desta área, a estagiária pôde proceder a vários exames otológicos com otoscópio (que faz parte do exame de rotina) e pôde participar numa rinoscopia.

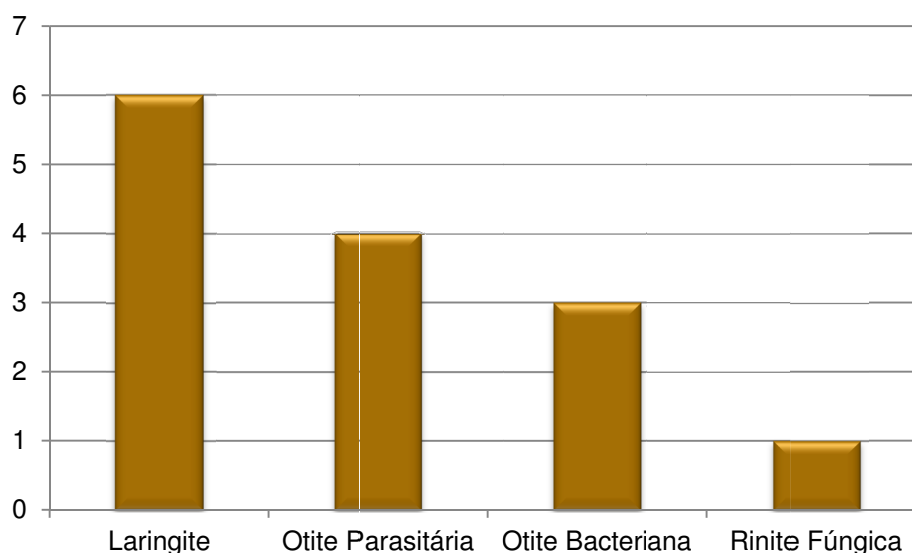


Gráfico 17 – Diagnósticos efectuados em otorrinolaringologia (n=12)

A maior parte dos casos foram otites, quer bacterianas quer parasitárias (por ácaros). Surgiram também seis laringites e uma rinite fúngica.

2.13 Pediatria e Neonatologia

Na área em questão, prestou-se assistência a recém-nascidos incapazes de se alimentar (por incompetência sua ou das mães), hipoglicémicos e hipotérmicos, e num caso de infecção grave umbilical (onfalite). Os procedimentos chave foram a alimentação, aquecimento e controlo rigoroso da temperatura e, no caso da infecção umbilical, o desbridamento e limpeza da ferida (figura 24).



Figura 24 – Infecção umbilical em cachorro com 3 semanas

2.14 Neurologia

Nesta área, foram poucos os casos que surgiram em consulta, no entanto, todos eles foram casos estimulantes e de grande interesse. A epilepsia foi o diagnóstico mais comum, tendo ocorrido sempre em canídeos (gráfico 18).

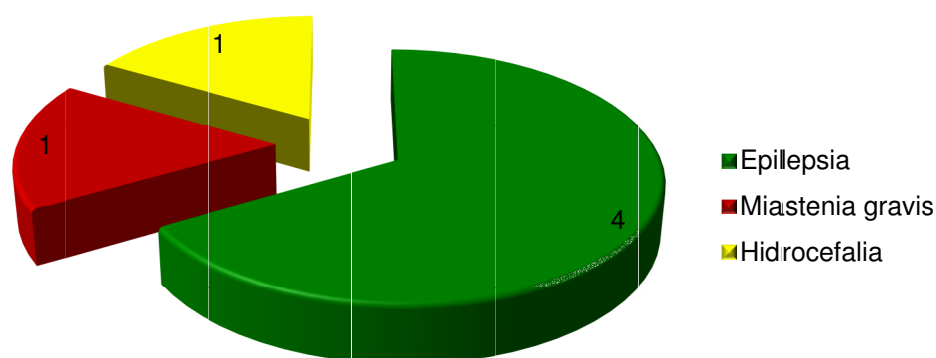


Gráfico 18 – Diagnósticos efectuados em neurologia (n=6).

Dos animais diagnosticados, todos se mantiveram bem controlados com a medicação. No entanto, um dos animais permaneceu durante quarenta e oito horas em convulsões, sem responder ao tratamento. Foi induzida a sedação profunda e sempre que se reduzia a mesma, surgiam convulsões, pelo que o animal acabou por ser eutanasiado. Na necrópsia, não se detectaram massas cerebrais.

Foram registados ainda um caso de miastenia *gravis* e outro de hidrocefalia, tendo os dois terminado na morte dos animais.

2.15 Odontologia

As afecções dos dentes dos animais ainda são um pouco negligenciadas e desvalorizadas pelos proprietários que, muitas vezes, só quando o problema se traduz numa diminuição severa de função (dificuldades na mastigação, por exemplo) ou quando o animal

deixa de comer ou tem dor, é que tomam a decisão de consultar o veterinário. É por isso que poucas são as vezes em que um problema odontológico detectado pelo dono é o motivo principal de vinda à consulta. A persistência de dentição decídua foi o diagnóstico mais frequente em consultas de rotina (gráfico 19), em animais jovens e que, na sua maioria, acabaram por se resolver espontaneamente.

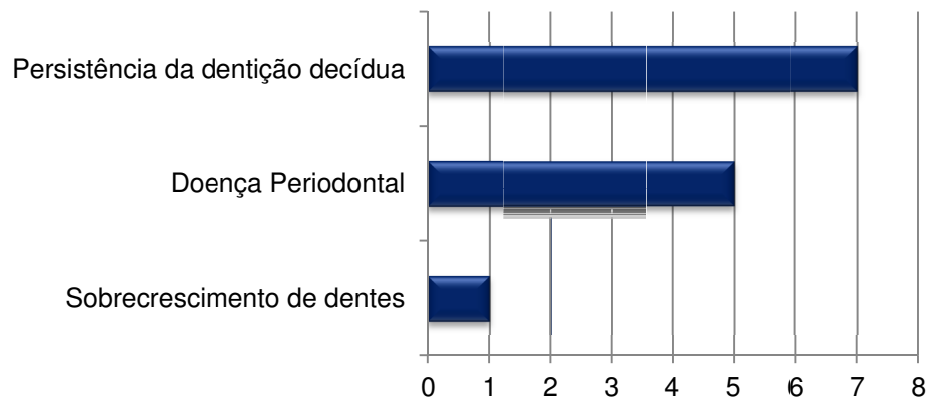


Gráfico 19 – Casos de odontologia (n=13).

A doença periodontal foi também um achado comum, mas em animais sénior. Nestes casos, foi indicada antibioterapia e destartarização. O sobrecrescimento de dentes foi diagnosticado num coelho e foi corrigido (figura 25).



Figura 25 – Correção de sobrecrescimento dentário em coelho.

2.16 Hematologia

Para além dos hemoparasitas e dos seus componentes celulares, que serão apresentados num ponto adiante, surgiu ainda um caso bastante interessante de policitemia *vera* num caniche macho com quatro anos. Os casos de anemia foram muito numerosos, mas surgiram como consequência da afecção de outros sistemas, sem terem directamente a ver com alterações da eritropoiese e dos órgãos que a realizam.

2.17 Clínica de Exóticos

Uma vez que os diagnósticos efectuados nas consultas de exóticos se encontram patentes nos pontos anteriores, divididos por áreas, aqui apenas se apresenta a diversidade de famílias e espécies que surgiram durante o estágio (gráfico 20).

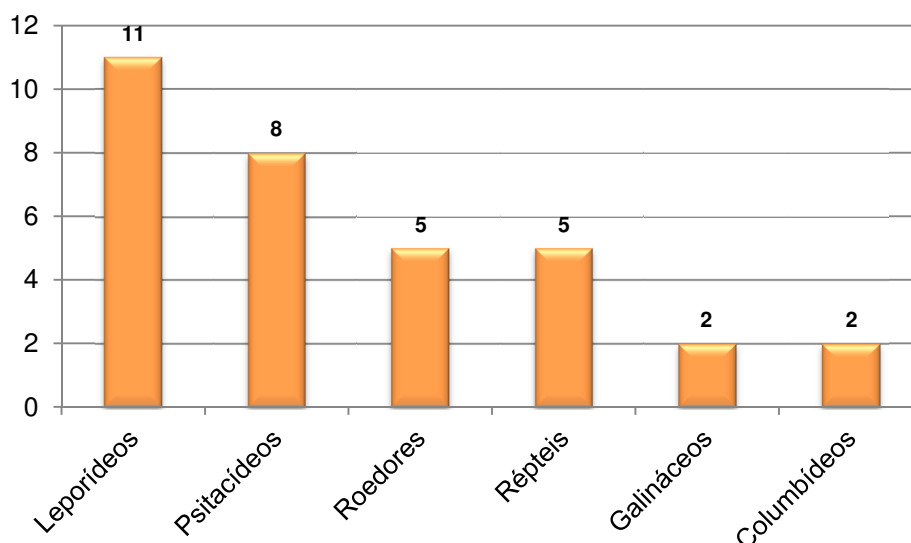


Gráfico 20 – Animais exóticos presentes nas consultas (n=33).

Surgiram em consulta ratazanas, ratos brancos, hamsters, caturra lutino, massarongo-de-frente-vermelha (*Poicephalus gulielmi*), galinhas, pombos, papagaio cinzento, *Agapornis roseicollis*, tartarugas, coelhos e um cão da pradaria.

2.18 Patologias Infecto-Contagiosas e Parasitárias

Abaixo apresentam-se os diagnósticos e alguns dos agentes etiológicos das diversas doenças virais, fúngicas, bacterianas e parasitárias, que puderam ser identificados durante o estágio e que permitiram que se fizesse o diagnóstico das doenças, possibilitando assim que o tratamento fosse o mais específico e adequado possível. Alguns agentes, foram apenas identificados até ao seu género (gráfico 21).

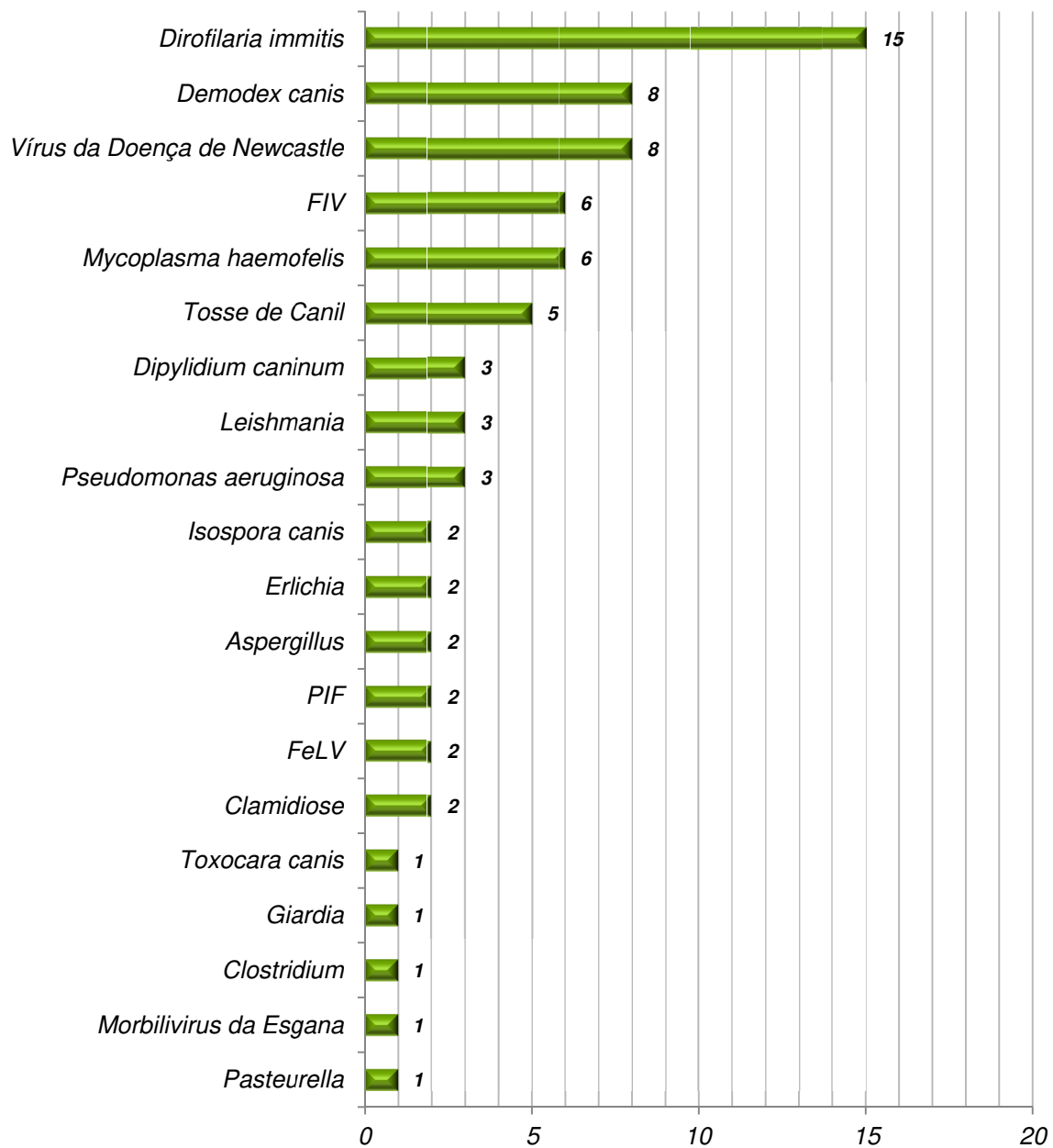


Gráfico 21 – Agentes etiológicos e doenças parasitárias e infecto-contagiosas diagnosticadas.

CAPÍTULO III - MONOGRAFIA

- DIROFILARIOSE CANINA -

1. Introdução

As filarioses são causadas por parasitas da Superfamília *Filarioidea* e existem aproximadamente 200 espécies de nemátodes desta superfamília podendo, alguns deles, causar patologias graves em animais e pessoas (Ferasin & Knight, 2005). São várias as espécies de filárias pertencentes aos géneros *Dirofilaria*, *Acanthocheilonema* e *Cercopithifilaria* (*Dipetalonema*) que parasitam canídeos e felídeos domésticos e silvestres em todo o mundo (Martín, 2012). Destas, as mais relevantes são a *D. immitis* e a *D. (Nochtiella) repens*, devido à severidade das suas manifestações clínicas e às suas altas prevalências e incidências. A *D. immitis* é responsável pela dirofilariose cardiopulmonar no cão e no gato, enquanto a *D. repens* provoca a dirofilariose subcutânea nos mesmos animais. Para além disso, ambas as espécies mencionadas são responsáveis pela dirofilariose pulmonar humana (*D. immitis*) e subcutânea/ocular (*D. repens*). Em cada um dos hospedeiros (humanos, caninos e felinos), a *D. immitis* e *D. repens* exibem padrões de desenvolvimento específicos que resultam em diferentes implicações clínicas e biológicas. Tanto a *D. immitis* como a *D. repens* são hospedeiros da bactéria simbiótica *Wolbachia*, cujo estudo teve um tremendo impacto no conhecimento e compreensão da biologia das filárias, dos mecanismos patológicos produzidos no hospedeiro e veio a alterar os princípios do tratamento desta parasitose. Para além disso, o envolvimento de vectores no ciclo de vida do parasita torna a transmissão e distribuição da dirofilariose susceptível às alterações climáticas, tendo havido alterações nas regiões geográficas afectadas definidas nos últimos anos (Simón, Siles-Lucas, Morchón, González, Mellado, Carretón & Montoya-Alonso, 2012).

A primeira observação do “verme (ou larva) do coração” – *Dirofilaria immitis* – foi feita em 1626 por Francesco Birago, em Itália, durante uma necrópsia ao seu cão de caça, tendo descrito o achado de uma filária no coração direito e outra no rim (esta, provavelmente, *Dioctophyma renale*) no seu Tratado Cinegético (figura 26). Alguns anos depois, em 1679, o médico francês J.B. Panthot publicou um artigo sobre a presença



– Capa do
regético de
irago. Fonte:

de 31 vermes adultos no ventrículo direito de uma cadela utilizada para demonstrações anatômicas, acompanhado do primeiro desenho do parasita. Apesar de tudo, os primeiros relatos que indicavam a ampla distribuição geográfica desta espécie apenas ocorreram dois séculos depois (Martin, 2012). A primeira demonstração de microfilarémia deu-se em 1843, por Gruby e Delafond, sendo os estádios de desenvolvimento e o ciclo de vida da *D. immitis* no cão estudados e descritos pela primeira vez cento e dez anos mais tarde por Seiji Kume, na Universidade de Tóquio (AHS, 2009).

Em 1856, Joseph Leidy, descreve e atribui o nome *Filaria immitis* ao verme do coração. No entanto, em 1911, dois parasitologistas franceses, Railliet e Henry, criaram o género *Dirofilaria*, tornando-se o nome taxonómico completo do parasita *Dirofilaria immitis*. Entre 1806 e 1875 a dirofilariose canina foi reportada na Itália, nos Estados Unidos (por T.C. Osborne, em 1847), no Japão, na China e no Brasil. Só muito mais tarde, em 1921 no Brasil e em 1922 nos Estados Unidos é que foram descritos os primeiros casos de dirofilariose felina. Na Europa, a primeira investigação no sentido de detectar infecções felinas foi realizada em Itália, apenas em 1992 (AHS, 2009).

Em 1933, o estibofeno era o único fármaco usado para tratar a dirofilariose, no entanto, para além da sua toxicidade, apenas eliminava as microfilárias, não tendo qualquer efeito nos vermes adultos. Posteriormente, em 1945, Gilbert F. Otto e Thomas Maren desenvolveram a tiacetarsamida, tendo descoberto os seus efeitos adulticidas na *D. immitis*. Dez anos mais tarde, descobriu-se que doses mais altas do que as inicialmente usadas, aplicadas diariamente durante dois dias, eliminaria os vermes adultos, no entanto, a toxicidade tornou-se elevada, tendo surgido muitas reacções adversas e algumas mortes (AHS, 2009).

A síndrome da veia cava foi relatado em 1958, durante uma visita do Dr. Otto à clínica do Dr. Ron Jackson. Tinha sido admitido um cão durante a noite com sintomatologia que indicava uma hepatite tóxica, tendo morrido no intervalo de meia hora. A necrópsia revelou massas de vermes adultos no átrio direito e na veia cava (Jackson, 1969). Em poucos meses, relataram-se outros doze casos (AHS, 2009).

Em 1959, James Yarborough relatou o uso de iodeto de ditiazanina como microfilaricida e três anos depois, Kume descobriu que a administração diária de citrato de dietilcarbamazina funcionava como preventivo do desenvolvimento dos parasitas. Em 1963, o Dr. Ron Jackson descobriu um protocolo de doses de tiacetarsamida divididas em dois dias, num regime bidiário em doses inferiores às usadas inicialmente, mantendo-se o efeito mas reduzindo-se a frequência e severidade das reacções (AHS, 2009).

O primeiro relato de transmissão transplacentária de microfilárias de *D. immitis* ocorreu em 1966, por A. Mantovoni e Ron Jackson. No ano seguinte, realizou-se o primeiro simpósio sobre a dirofilariose, na Universidade da Georgia (Reinhardt, 1980).

O levamisole, por volta de 1971, era usado por alguns médicos como adulticida e microfilaricida, no entanto, alguns estudos demonstraram que o seu papel como adulticida era inconsistente e o seu efeito na eliminação de microfíliarias também era muito limitado. Muitas vezes, o seu uso acompanhava-se de reacções como vómitos, anorexia e distúrbios do sistema nervoso central (Bradley, 1976).

Em 1979, foi apresentado o teste de imunofluorescência indirecta que tinha um uso limitado, tendo surgido seis anos mais tarde testes antigénicos para a detecção de infecção pela *Dirofilaria*, sob a forma de kits disponíveis nas clínicas e hospitais (AHS, 2009).

Em 1980, a ivermectina foi usada como microfilaricida pela primeira vez e sete anos depois começou a ser aplicada mensalmente como preventivo (AHS, 2009).

Desde que foram feitas as primeiras observações do parasita, este tem sido identificado nos mais diversos países e, principalmente na Europa, vários investigadores têm mantido um papel extremamente activo no estudo das infecções por *Dirofilaria spp.*. As alterações climáticas, juntamente com o aumento na movimentação de gatos e cães pela Europa, têm vindo a provocar aumentos na dispersão geográfica da dirofilariose e no risco de infecção quer de animais quer de humanos (Traversa, Cesare & Conboy, 2010). Com o aumento dos cuidados com o bem-estar animal e a existência de melhores condições sociais e económicas em vários países, verificou-se um aumento na consciência dos proprietários relativamente à doença e às suas consequências (Genchi & Marinculic, 2007).

2. Características Morfológicas e Biológicas de *Dirofilaria spp.*

A dirofilariose é um conjunto de parasitoses provocadas por espécies do género *Dirofilaria*, cuja transmissão é feita por vectores artrópodes. Estes parasitas pertencem ao Filo *Nematoda*, Classe *Secernentea*, Ordem *Spirurida*, Superfamília *Filarioidea*, Família *Onchocercidae*, Subfamília *Dirofilarinae*, Género *Dirofilaria*. (Anderson, 2000).

Os nemátodes do género *Dirofilaria* são brancos, delgados e têm comprimentos que variam entre os 5 e os 30 cm (tendo em conta machos e fêmeas das espécies *D. immitis* e *D. repens*) sendo as fêmeas de *D. immitis* as que atingem maiores comprimentos e os machos de *D. repens* são geralmente os mais pequenos (Ferasin & Knight, 2005).

As fêmeas são ovovíparas e largam as microfíliarias na corrente sanguínea, onde estas ficam disponíveis para os vectores hematófagos. As microfíliarias eliminadas para a circulação não têm bainha, são fusiformes e têm a extremidade cefálica mais estreita do que o corpo, exibindo ainda uma cauda longa, recta e pontiaguda. São capazes de responder a alterações fisiológicas no hospedeiro e podem deslocar-se para a circulação periférica em determinados períodos do dia ou da noite, desaparecendo daqui noutros períodos. Têm também estruturas que permitem a sua passagem pelos capilares sanguíneos e pelas peças

buciais e paredes do sistema gastrointestinal dos vectores artrópodes (Manfredi, Di Cerbo & Genchi, 2007).

O género *Dirofilaria* divide-se em dois subgéneros: o subgénero *Dirofilaria*, que inclui a *Dirofilaria immitis* e o subgénero *Nochtiella*, que inclui a *Dirofilaria repens*. Os nemátodes do subgénero *Dirofilaria* são grandes, sem cristas cuticulares excepto na superfície ventral da extremidade caudal do macho e as papilas caudais dos machos apresentam uma ligeira assimetria relativamente ao seu número e distribuição. Os nemátodes do subgénero *Nochtiella* são relativamente pequenos, têm cristas cuticulares longitudinais e as papilas caudais nos machos possuem uma assimetria marcada no seu número e distribuição (Canestri, Pampiglione & Rivasi, 1997).

Os agentes etiológicos da dirofilariose cardiopulmonar e da dirofilariose subcutânea – *D. immitis* e *D. repens*, respectivamente – apresentam incidências crescentes em regiões temperadas e tropicais, em todo o mundo (Simón, Morchón, González-Miguel, Marcos-Atxutegi, Siles-Lucas, 2009).

2.1 *Dirofilaria immitis*

A *D. immitis* é um nemátode ovovivíparo que provoca a dirofilariose cardiopulmonar, localizando-se nas artérias pulmonares e lado direito do coração (figura 27). São os cães (*Canis lupus familiaris*) os seus principais hospedeiros definitivos, no entanto, a infecção já foi relatada em lobos, coiotes, raposas, vários felinos (incluindo o gato doméstico), pinípedes, mustelídeos, ursos, pandas, castores, quatis, coelhos, veados, cavalos e primatas, incluindo humanos, sendo a maioria destas infecções esporádicas e podendo não se registar microfilarémia (Manfredi *et al.*, 2007). Esta é uma doença parasitária zoonótica, que se concentra essencialmente em áreas temperadas, tropicais e subtropicais (Simón *et al.*, 2009).

2.1.1 Morfologia dos Adultos

As filárias adultas são longas, esbranquiçadas, filiformes e delgadas. O orifício bucal é terminal, não possui lábios e conduz ao esófago, dividido em porções muscular e glandular, sem distinção. A abertura oral é rodeada por seis papilas mediais e duas papilas laterais. As fêmeas adultas medem entre 250 a 310 mm de comprimento e 1 a 1.3 mm de largura, sendo os machos mais pequenos com medidas entre 120-200 mm de comprimento e 0.7 a 0.9 mm de largura. Enquanto as fêmeas possuem uma terminação caudal obtusa, nos machos a terminação é em espiral e tem duas pequenas asas laterais. O ânus é subterminal e o orifício vulvar localiza-se posteriormente à junção entre esófago e intestino. A cloaca encontra-se a cerca de 0,13mm da ponta da cauda. A superfície ventral possui papilas pré-anais e pós-anais. As espículas são desiguais e com estruturas diferentes, sendo mais largas proximalmente e mais pontiagudas na porção mais distal. Não existe gubernáculo (Manfredi *et al.*, 2007). A cutícula é lisa e as cristas e estrias apenas estão

presentes na superfície ventral da última espiral da cauda do macho (Lichtenfelds, Pilitt, Kotani & Powers, 1987).

Os adultos de *D. immitis* alimentam-se do plasma sanguíneo e têm a capacidade de sobreviver durante vários meses ou até anos nos seus hospedeiros (Manfredi et al., 2007).

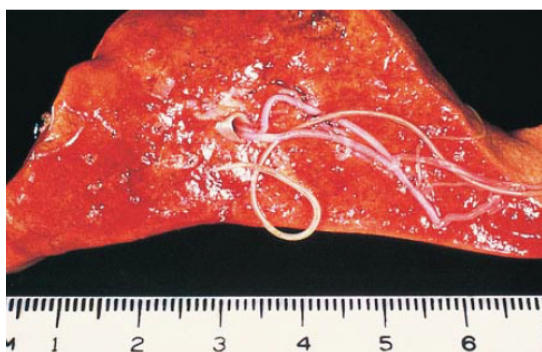


Figura 27 – Parasitas adultos no lúmen de uma artéria pulmonar. Fonte: Ferasin & Knight, 2005.

2.1.2 Microfilárias

As microfilárias libertadas na corrente sanguínea não possuem bainha e têm cerca de 290 a 330 μm de comprimento e 5 a 7 μm de largura, sendo a extremidade cefálica cônica, a cauda recta e a sua extremidade pontiaguda. As microfilarias podem sobreviver entre 2 a 18 meses na corrente sanguínea (Manfredi et al., 2007).

A ultraestrutura das microfilárias de *D. immitis* foi estudada através de microscopia electrónica de transmissão, tendo-se observado estriações anulares transversas a cobrir toda a superfície do parasita. Observaram-se ainda dois pequenos poros no disco cefálico e uma espécie de cavidade bucal na superfície ventral da primeira estria, junto ao disco cefálico. A partir do palato superior, observou-se a projecção de um único gancho triangular. O poro excretor localiza-se ao nível do 80º anel desde a extremidade anterior e o poro anal ao nível do 90º anel desde a extremidade posterior, ambos na face ventral (Song, Tanaka & Hayasaki, 2009).

2.2 *Dirofilaria repens*

Os parasitas desta espécie são também ovovivíparos e infectam o tecido conjuntivo subcutâneo, essencialmente dos cães, sendo estes os hospedeiros definitivos principais. Existem relatos de infecção em gatos domésticos, ginetas (*Genetta tigrina*), leões e raposas. Também existem casos em humanos (Manfredi et al., 2007). As infecções concentram-se essencialmente no sul da Europa, Ásia, África, Estados Unidos da América e Canadá (Ferasin & Knight, 2005).

2.2.1 Morfologia dos Adultos

Os adultos de *D. repens* têm tamanho inferior aos de *D. immitis*. A cutícula é branca com estrias longitudinais pronunciadas e estrias transversais suaves. As fêmeas têm entre 100 a 170 μm de comprimento e 4.6 a 6.5 μm de largura, enquanto os machos são mais pequenos com 50 a 70 μm de comprimento e 3.7 a 4.5 μm de largura. A extremidade

caudal do macho curva ligeiramente na direcção da face ventral do parasita. A cauda é obtusa, com duas asas laterais e papilas oblongas pedunculadas. As espículas são desiguais, tendo a maior 0.43 mm de comprimento e uma ponta aguçada e a espícula menor 0.175 mm de comprimento, é altamente quitinizada e tem uma ponta obtusa. Nas fêmeas, a vulva localiza-se 1.84 a 1.92 mm da extremidade cefálica e está rodeada por lábios ligeiramente proeminentes. A cauda tem uma ponta obtusa, curvando ligeiramente no sentido ventral (Manfredi et al., 2007).

2.2.2 Microfilárias

Tal como ocorre com a *D. immitis*, a *D. repens* liberta as microfilárias sem bainha que vivem na corrente sanguínea. As microfilárias têm a sua extremidade anterior obtusa, a extremidade posterior é fina e pontiaguda, terminando em curva como uma pega de guarda-chuva. O seu comprimento está entre os 300 e os 360 μm e a largura ronda os 6 a 8 μm , devendo ser diferenciada de outras microfilárias encontradas no sangue como *D. immitis*, *Acanthocheilonema (Dipetalonema) reconditum* e *Dipetalonema dracunculoides* (Manfredi et al., 2007).

2.3 Vectores / Hospedeiros Intermediários

A dirofilariose é transmitida por mais de sessenta espécies de mosquitos, embora aqueles que desempenham um papel verdadeiramente importante são, provavelmente, cerca de doze (Atkins, 2005).

Os primeiros indícios de que um insecto poderia desempenhar o papel de vector no ciclo de vida dos nemátodes filarídeos foram mencionados por Giuseppe Bancroft. Os dados actuais foram obtidos, na sua maioria, através de experimentação laboratorial, estudos com captura de insectos em áreas endémicas e achados ocasionais em mosquitos naturalmente infectados (Cancrini & Kramer, 2001).

Foi assim demonstrado que os nemátodes do género *Dirofilaria* conseguem desenvolver-se, de forma mais ou menos completa, num número variado de artrópodes, no entanto, apenas os insectos – mosquitos, da Ordem *Diptera*, Subordem *Nematocera* e Família *Culicidae* – fêmeas (hematófagas) actuam como vectores. Estes culicídeos podem ser agrupados em duas subfamílias: *Anophelinae* – incluindo os géneros *Anopheles* – e *Culicinae* – incluindo os géneros *Culex* (figura 28), *Aedes*, *Culiseta*, *Mansonia* e *Coquillettidia* (Cancrini & Kramer, 2001). De todos os géneros



Figura 28 – *Culex pipiens*.
Fonte: DeVries, 2006

e espécies de vectores, os mais importantes são aqueles que não possuem armadura bucofaríngea, não sendo portanto capazes de danificar as microfilárias e prevenir o seu desenvolvimento para o terceiro estágio larvar (Manfredi et al., 2007).

Os culicídeos são simétricos bilateralmente e possuem um exoesqueleto que os protege da desidratação e confere rigidez. O seu corpo divide-se em cabeça, tórax e abdómen e podem medir entre 4 a 10mm de comprimento (figura 29) (Cancrini & Kramer, 2001).

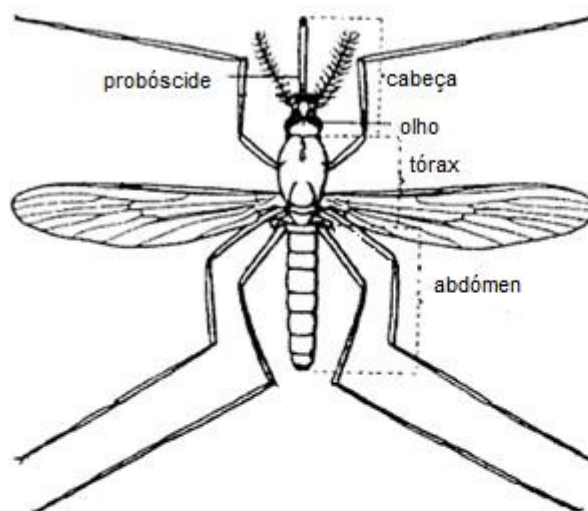


Figura 29 – Culicídeo fêmea, vista dorsal. Fonte: adaptado de Cancrini & Kramer, 2001.

Os culicídeos têm uma distribuição cosmopolita e um nível de adaptabilidade alto que assegura a sua presença nos mais diversos tipos de ambiente e habitats. São encontrados em baixas planícies, colinas, áreas montanhosas e habitats marinhos, onde cada espécie adapta a actividade de postura de ovos e o desenvolvimento larvar a cada tipo de superfície de água disponível. Algumas espécies fazem-no na água da chuva, outros em poças de águas paradas ou em qualquer outra superfície que contenha água, algumas optam pelas margens sossegadas de ribeiros e riachos e até em águas salgadas (Cancrini & Gabrielli, 2007).

Em regiões tropicais, os mosquitos mantêm-se activos durante todo o ano, enquanto em climas temperados os adultos são activos durante o final da primavera e durante o verão, tendo ritmos de actividade sazonais diferentes. As alterações climáticas e ambientais, principalmente o aumento da temperatura como consequência do aquecimento global influenciam em grande escala os padrões de actividade dos mosquitos em zonas temperadas (Genchi, Rinaldi, Cascone, Mortarino & Cringoli, 2005; Cancrini & Gabrielli, 2007).

Os mosquitos machos alimentam-se principalmente de frutas, enquanto as fêmeas são também hematófagas, permitindo assim que estas participem na transmissão da dirofilariose (Cancrini & Gabrielli, 2007).

Os mosquitos movem-se devido ao seu fototropismo e como resposta a estímulos químicos, encontrando assim locais para repousar ou ambientes propícios ao acasalamento e à ovopostura, podendo ainda encontrar uma fonte de sangue num hospedeiro. Ao seguir estes estímulos, algumas espécies de culicídeos viajam apenas algumas centenas de

metros desde os seus habitats larvares, enquanto outras (especialmente, *Aedes spp.*) podem viajar até cerca de 50 quilómetros, sendo suportados pelo vento, num movimento passivo, ou voando activamente (Cancrini & Gabrielli, 2007).

O comportamento de procura de hospedeiro pode seguir diferentes padrões, dependendo das espécies. Por exemplo, *Culex pipiens* e a maioria dos *Anopheles* são activos apenas durante as horas nocturnas, enquanto que *An. gambiae*, *An. balabacensis*, *An. maculipennis* são mais activos durante as primeiras horas da manhã e outros como *Ae. Albopictus* são activos ao longo do dia. Algumas espécies, como *Ae. aegypti*, *Ae. caspius*, *Ae. vexans* e *Cx. modestus* apresentam dois picos diários de actividade alimentar, um ao nascer e outro ao pôr-do-sol. Na Europa, a actividade dos culicídeos está limitada ao período de tempo entre a primavera e o verão (Mattingly, 1969; Di Sacco, Cancrini & Genchi, 1992; Pollono, Cancrini & Rossi, 1998)

Para além das especificidades de cada espécie, existem ainda outros factores que modificam a expressão da actividade dos culicídeos vectores – a idade da fêmea (quanto mais velha, maior é a probabilidade de esta já ter adquirido e transmitido agentes patogénicos, tendo por isso maior importância epidemiológica), o estado nutricional (quanto maior o período de privação de sangue, mais intenso se torna o padrão de actividade).

Os mosquitos são classificados em exofágicos ou endofágicos consoante as suas preferências em alimentar-se no exterior ou no interior das habitações. Quanto aos hábitos de repouso, podem dividir-se em endofílicos (depois de se alimentarem, mantêm-se nas habitações) ou exofílicos (passam a maior parte do seu tempo no exterior).

Tendo em conta a preferência de hospedeiros, algumas espécies são estritamente zoofílicas, limitando a sua alimentação a tipos muito específicos de hospedeiros, e outros são menos restritivos e zoofílicos mais generalistas, conseguindo alimentar-se numa variedade maior de hospedeiros, existindo ainda os antropofílicos. Estes últimos tipos têm uma importância acrescida na transmissão da dirofilariose de animais para humanos.

Os estudos feitos tornaram óbvias as diferenças entre os padrões comportamentais que podem influenciar diversos factores epidemiológicos: a disponibilidade de hospedeiros viáveis, a temperatura de desenvolvimento das larvas de filarídeos dentro do mosquito, a exposição a potenciais predadores (ou seja, a esperança média de vida do mosquito).

A procura de um hospedeiro é uma resposta às caimonomas deste, libertadas como filamentos descontínuos no vento, dispersando-se num padrão semelhante ao do fumo quando sai de uma chaminé. São as caimonomas que vão definir e orientar a direcção do movimento do mosquito. O dióxido de carbono e a emissão de calor é também um atractivo para estes mosquitos (Cancrini & Gabrielli, 2007).

Vários estudos na Europa relataram a infecção de várias espécies de mosquitos infectadas com *D. immitis*: *Cx. pipiens* em Espanha (Morchón, Bargues, Latorre, Melero-Alcíbar, Pou-Barreto, Mas-Coma & Simón, 2007), Itália (Cancrini, Magi, Gabrielli, Arispici,

Dell'Omodarme & Prati, 2006), e Turquia (Yildirim, Inci, Biskin, Ica & Sahin, 2011), *Cx. theileri* na Madeira, em Portugal (Santa-Ana, Khadem & Capela, 2006) e nas Ilhas Canárias (Morchón, BARGUES, Latorre, Pou-Barreto, Melero-Alcíbar, Moreno, Valladares, Molina, Montoya-Alonso, Mas-Coma & Simón, 2011), *Ae. vexans* na Turquia (Biskin, Düzlü, Yildirim & Inci, 2010) e *Ae. albopictus*, *Ae. caspius*, *An. maculipennis* e *Cq. richiardii* em Itália (Cancrini et al., 2006).

Segundo alguns estudos levados a cabo por Di Sacco, Cancrini & Genchi (1992), é possível que o cão não represente o hospedeiro preferido de alguns mosquitos mas que, no entanto, seja uma fonte de alimento muito importante. A alimentação de muitos dos mosquitos é iniciada ao pôr-do-sol e dura durante toda a noite. A maioria dos cães tem o hábito de dormir durante as horas nocturnas, oferecendo os seus locais de repouso as condições ideais para os insectos (dióxido de carbono, calor). Por outro lado, os gatos caçam durante a noite e movimentam-se bastante, pelo que é possível que a actividade dos mosquitos seja perturbada pelo movimento. Este facto, juntamente com a pequena massa corporal dos gatos poderá explicar a preferência dos insectos pelos cães e a maior prevalência de infecções observada nestes, quando em comparação com os gatos que, possivelmente, terão apenas um papel marginal enquanto reservatório da doença (Cancrini & Gabrielli, 2007).

O desenvolvimento dos mosquitos e a sua actividade, são regulados pelo clima, principalmente pela temperatura e humidade, dependendo o desenvolvimento da L3 da temperatura ambiental, requerendo este 8 a 10 dias à temperatura de 28 a 30°C, 11 a 12 dias a 24°C e 16 a 20 dias a 22°C. Abaixo dos 14°C, o desenvolvimento cessa, mas pode recomeçar se a temperatura voltar a aumentar acima do limite mínimo (Cancrini & Gabrielli, 2007).

3. Ciclo de Vida

O ciclo de vida dos filarídeos consta de cinco estádios larvares e inclui duas fases de desenvolvimento: uma num hospedeiro invertebrado intermediário que também é vector (onde há desenvolvimento das microfilárias ingeridas até à fase de larva infectante L3) e outra fase no hospedeiro vertebrado definitivo (maturação das L3 até ao estado adulto e produção de microfilárias), podendo no total durar entre 6 a 9 meses (figura 30) (Kozek, Supakorndej & Landmann, 2012). Em cada uma das quatro mudas que ocorre na *Dirofilaria*, desenvolve-se uma nova cutícula com características estruturais e um perfil de colagénio próprios (Simón et al., 2012).

Deste modo, os parasitas de *Dirofilaria spp.*, para que possam completar o seu ciclo de vida e para que se dê a transmissão, necessitam de um artrópode como hospedeiro

intermediário e vector, um insecto picador, e um mamífero como hospedeiro definitivo vertebrado (Ferasin & Knight, 2005; Simón, Siles-Lucas, Morchón, González-Miguel, Mellado, Carretón & Montoya-Alonso, 2012).

Tanto a *D. immitis* como *D. repens* apresentam pouca especificidade para os hospedeiros vertebrados, dada a sua capacidade de infectar as mais diversas espécies de mamíferos. Entre os mamíferos hospedeiros, estas espécies de *Dirofilaria* estão melhor adaptadas aos cães domésticos e selvagens, que servem ainda de reservatório. Os humanos são considerados hospedeiros acidentais e esporádicos. Os gatos são hospedeiros menos adequados, nos quais o desenvolvimento parasitário se modifica dramaticamente quando comparado com os padrões nos cães, acontecendo o mesmo com infecções humanas (Simón et al., 2012).

As microfilárias (L1) de *D. immitis* e de *D. repens* são ingeridas pelos mosquitos num hospedeiro infectado. Em 24 horas, as microfilárias ingeridas atingem os túbulos de Malpighi do trato digestivo onde mudam para o estágio larvar L2 em aproximadamente 8 a 10 d.p.i. e mudam de L2 para L3 cerca de 3 dias depois. A temperatura ambiental é um factor determinante da velocidade do desenvolvimento das L3 nos mosquitos. A forma infectante L3 migra para as peças bucais do vector e mantém-se aí até à próxima refeição hematófaga. A invasão dos túbulos de Malpighi e a migração para as peças bucais representam etapas críticas para a sobrevivência do mosquito, que possuem mecanismos para limitar a quantidade de larvas infectantes, evitando a sobrecarga e o comprometimento da sobrevivência do vector (Simón et al., 2012). O tempo necessário para o desenvolvimento das microfilárias no mosquito até ao estágio infectante depende da temperatura. A 27°C e a 80% de humidade relativa, o desenvolvimento demora entre 10 a 14 dias (Bowman & Atkins, 2009).

No hospedeiro definitivo, durante uma refeição hematófaga por parte das fêmeas da família *Culicidae*, é depositada hemolinfa na ferida de entrada, transportando a L3 infectante que penetra na pele do hospedeiro, iniciando o seu desenvolvimento. O desenvolvimento das L3 é contínuo, não existindo, aparentemente, a capacidade de cessar o processo de maturação a partir do momento em que este começa. Após as L3 penetrarem no hospedeiro definitivo, a sua maioria vai permanecer nos músculos do local da inoculação por, no mínimo, 3 dias. (Bowman & Atkins, 2009). A muda de L3 para L4 ocorre pouco depois da infecção, entre o 3º e o 12º dia pós-infecção (d.p.i.) (Simón et al., 2012). As larvas acabadas de mudar para L4 são quase do tamanho das L3, começando a crescer após 2 a 3 semanas da infecção, de forma a que um mês após a infecção as larvas tenham cerca de 4mm e aos dois meses já tenham 1 cm (Bowman & Atkins, 2009). É mais ou menos nessa altura que ocorre a muda seguinte, que produz filárias pré-adultas, entre o 50º e o 70º d.p.i. As primeiras filárias pré-adultas de *D. immitis* chegam à artéria pulmonar e ao ventrículo direito do coração dos canídeos entre o 70º e o 85º d.p.i. e atingem a maturidade sexual aos 120

d.p.i. (Simón et al., 2012). As primeiras a aparecer nas artérias pulmonares têm 2 a 3 cm de comprimento. Nesta fase, corre um crescimento rápido, de tal modo que aos 4 m.p.i. estes nemátodes já têm 10 cm de comprimento e aos 6,5 m.p.i. já atingiram os 30cm. Os machos adultos, que atingem até 20 cm, são sempre mais pequenos do que as fêmeas (Kotani & Powers, 1982). As fêmeas atingem a maturidade sexual e começam a produzir o primeiro estado larvar (microfilárias) entre os 6 e os 9 meses pós-infecção (m.p.i.) (Simón et al., 2012; McCall, Genchi, Kramer, Guerrero & Venco, 2008). A fertilização é interna, requer um macho e vai ocorrer nas artérias pulmonares quando as fêmeas tiverem aproximadamente 4 meses e 7 a 10 cm. Em infecções experimentais, as microfilárias (L1) apareceram após 6 a 9 meses após a infecção. O percurso adoptado pelas filárias do quarto estágio larvar (L4) para chegarem, desde os músculos torácicos e abdominais, às artérias pulmonares ainda não é bem claro (Bowman & Atkins, 2009).

Os adultos de *D. immitis* podem viver até aos sete anos e as microfilárias até aos 2 anos (Atkins, 2005). Alguns cães infectados não possuem microfilárias no sangue, resultando daqui infecções amicrofilarémicas, possivelmente devido a factores como o envelhecimento das fêmeas, infecções de filarias de apenas um sexo ou respostas imunes por parte do hospedeiro (Simón et al., 2012). Normalmente, os hospedeiros caninos tornam-se microfilarémicos cerca de seis a sete meses após a infecção (Atkins, 2005).

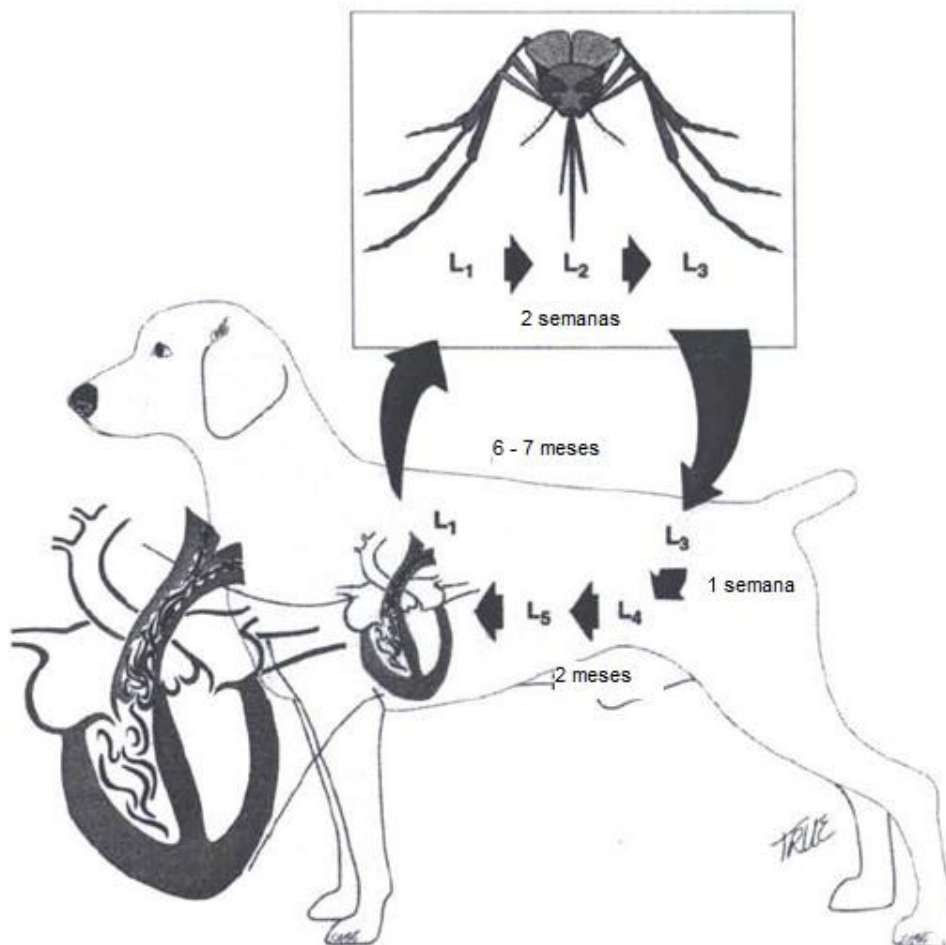


Figura 30 – Ciclo de vida da *Dirofilaria immitis* no cão. Fonte: adaptado de Atkins, 2005

Nos gatos, a maturação dos adultos de *D. immitis* estende-se para além dos 8 m.p.i., tendo neste hospedeiro uma esperança média de vida inferior às infecções em cães (no máximo, cerca de 2 anos) e geralmente não ocorre produção de microfílarias mas, quando ocorre, é transiente e com baixa intensidade (Manfredi et al., 2007).

A *D. repens* aloja-se nos tecidos subcutâneos após ser inoculada pelo mosquito, onde muda para L4 e aí se mantém até ser adulta (Tarello, 2011) e atingir a maturidade sexual, entre os 6 e os 9 m.p.i., podendo, no entanto, também ser encontrada na cavidade abdominal e nas fâscias musculares (Manfredi et al., 2007).

Os humanos não são hospedeiros adequados às espécies de *Dirofilaria*, dado que se desviam dos padrões de desenvolvimento já descritos. As larvas imaturas de *D. immitis* são capazes de chegar a ramos da artéria pulmonar, desencadeando uma resposta inflamatória que as destrói e, ocasionalmente, resulta na formação de nódulos pulmonares. As filárias de *D. repens* provocam nódulos subcutâneos que podem atingir a região ocular em humanos (Simón, López-Belmonte, Marcos-Atxutegi, Morchón & Martín-Pacho, 2005). Ambas as espécies podem infectar outras regiões anatómicas para além das descritas, mas apenas acidentalmente (Pampiglione & Rivasi, 2000). Recentemente Chopra, Bhatti, Mohan & Taneja (2012) descreveram, na Índia, um caso raro de dirofilariose ocular num homem com 25 anos que apresentava dor e inflamação do olho, tendo sido retirado um parasita vivo e com motilidade elevada da câmara anterior.

4. Relação Parasita-Hospedeiro

As relações entre parasitas e hospedeiros na dirofilariose são complexas dada a capacidade da *D. immitis* e *D. repens* infectarem diferentes hospedeiros nos quais adquirem diferentes graus de adaptação e onde os parasitas atingem diversos níveis de desenvolvimento, a capacidade de evasão e modulação de resposta imune, de interacção com o ambiente vascular e ainda devido à presença da bactéria simbiótica *Wolbachia*, quer nos primeiros estádios larvares quer nos adultos, em ambas as espécies supracitadas, sendo os hospedeiros infectados expostos a antigénios quer dos nemátodes quer das bactérias. Os tipos de resposta induzida pelos dois conjuntos antigénicos e a predominância de um sobre o outro estão relacionados com a sobrevivência ou morte do parasita e com a resposta inflamatória encontrada nos casos de dirofilariose (Simón, Kramer, Román, Blasini, Morchón, Marcos-Atxutegi, Grandi & Genchi, 2007; González-Miguel, Gussoni, Morchón, Mellado & Simón, 2012).

A percentagem de microfílarias ingeridas que completam o seu desenvolvimento no vector até à fase infectante L3 pode variar entre 0 - 100%. Geralmente, o vector eficiente é a fêmea que controla a invasão parasitária e permite o desenvolvimento do máximo de larvas

compatível com a sua própria sobrevivência. As várias espécies de mosquitos e os vários indivíduos dentro de cada espécie poderão ser vectores mais ou menos eficientes dependendo de vários factores. Como a carga parasitária pode afectar a sobrevivência do mosquito, estes possuem vários mecanismos de defesa que utilizam de modo a controlar e bloquear o desenvolvimento larvar, evitando uma sobrecarga de larvas infectantes (Cancrini & Gabrielli, 2007; Vegni-Talluri & Cancrini, 1994).

Os vectores são capazes de limitar o número de larvas que podem progredir para L3 através do reconhecimento antigénico e de mecanismos de defesa humorais e celulares (figura 31). Foi identificado um polipéptido antimicrobiano – defensina – na hemolinfa do mosquito inoculada com L3 de *D. immitis*. Os vectores exibem ainda a capacidade de encapsulação das L3 nos túbulos de Malpighi, através de uma reacção melanótica (melanina produzida nos hemócitos, através da conversão da tirosina) que provoca a morte das larvas. A tirosina é um factor limitante de todo o processo e pode ser exógena ou derivar da fenilalanina. Existem ainda outros mecanismos e estruturas que contribuem para a destruição das larvas, tais como a armadura bucofaríngea ou cibarial; a secreção de moléculas que afectam epicutícula das larvas e a coagulação do sangue, que prende as microfilárias no trato digestivo dos vectores, impedindo a progressão para os túbulos de Malpighi (Simón et al., 2012; Castillo, Stuart, Reynolds & Eleftherianos, 2011).

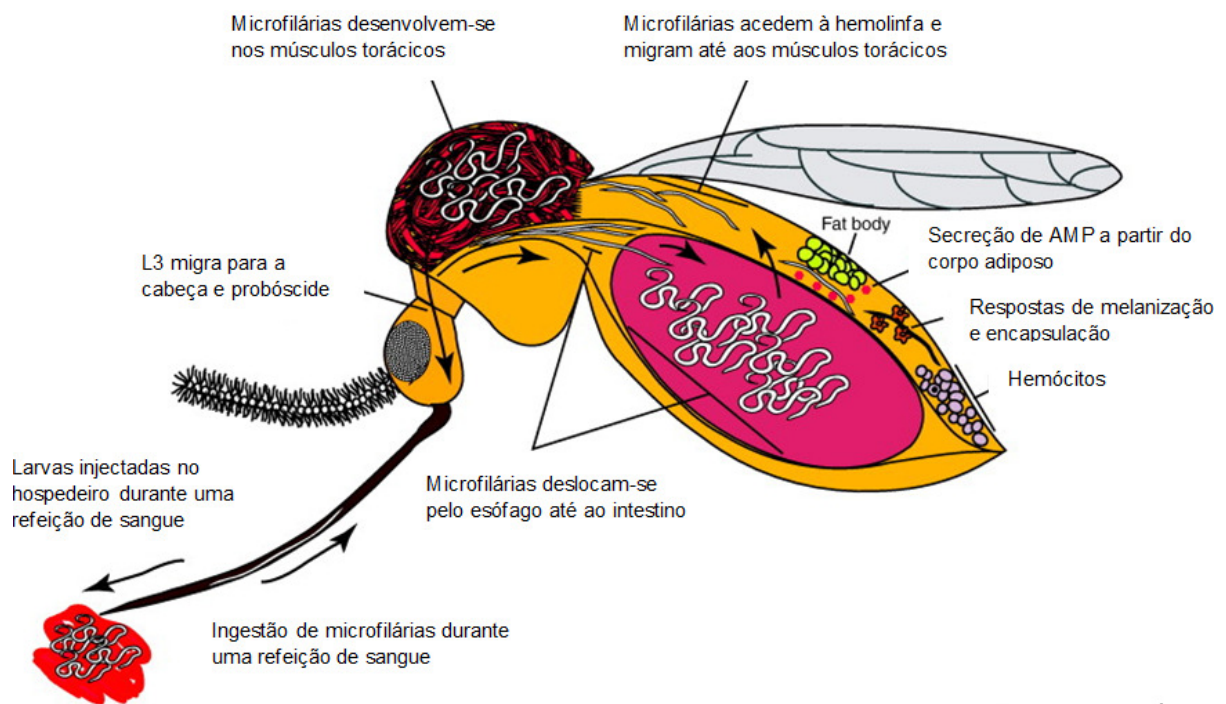


Figura 31 – Interação entre filarídeos e mosquito vetor (AMP – péptidos antimicrobianos; *fat body* – corpo adiposo). Fonte: Castillo et al., 2011.

A presença de uma armadura cibarial é um eficiente mecanismo para danificar microfilárias à medida que estas passam pela faringe, existindo uma actividade de abertura/fecho da bomba cibarial, munida com dentes afiados que lesionam a cutícula das

microfilárias, provocando a sua morte embrionária e consequente eliminação. O tempo de coagulação do sangue ingerido durante a refeição é outro factor que influencia a competência do vector, pois se o sangue coagular rapidamente, as microfilárias ficam presas no trato digestivo e não conseguem alcançar os túbulos (Cancrini & Gabrielli, 2007). Os mosquitos que produzem substâncias anticoagulantes são mais receptivos à infecção, pois facilitam a chegada das microfilárias aos túbulos de Malpighi. Conhecem-se ainda outros mecanismos de defesa e controlo da carga parasitária, como a secreção de substâncias indutoras da lise epicuticular (ocorre, por exemplo, em *Ae. aegypti*). Os hemócitos não são capazes de causar dano algum nas L3 que, ao deixarem os túbulos, migram até à cabeça do insecto (Vegni-Talluri & Cancrini, 1994; Castillo et al., 2011). Outro mecanismo de defesa, embora um pouco menos eficiente, é baseado na habilidade do mosquito para controlar os tempos de desenvolvimento das larvas, que possam tornar-se incompatíveis com a longevidade da vida do mosquito. A receptividade/refratariedade para com a infecção e a eficiência do mosquito enquanto vector, quer para *D. immitis* quer para *D. repens*, é geneticamente determinada e é controlada por um alelo recessivo ligado ao sexo (Cancrini & Gabrielli, 2007).

A importância do mosquito na epidemiologia da dirofilariose não depende só da receptividade à infecção ou da eficiência da transmissão das larvas infectantes, mas também do tamanho da população de vectores, dos seus padrões de alimentação, esperança média de vida e sazonalidade. Para que haja transmissão, o vector deve fazer pelo menos duas refeições hematófagas. As espécies autógenas, que conseguem usar reservas proteicas durante os estádios larvares para produzir o primeiro lote de ovos e completar um ciclo gonotrófico sem necessidade de refeição sanguínea, têm menor importância enquanto vectores do que as espécies que requerem necessariamente várias refeições hematófagas para fazer a ovopostura, aumentando assim as hipóteses de aquisição de larvas e sua transmissão. A longevidade do insecto deve ser longa o suficiente para garantir o desenvolvimento larvar até ao estágio infectante, sendo influenciada pelo comportamento exofágico ou exofílico de certas espécies. A actividade sazonal também é importante e as espécies que se reproduzem activamente durante todo o ano ou diversas vezes durante o verão são mais eficientes. A temperatura, humidade e predação são outros dos factores que influenciam a sobrevivência do mosquito (Cancrini & Gabrielli, 2007).

O aquecimento global afecta o sistema parasita-hospedeiro ao influenciar a amplificação e emergência de populações de parasitas, induzindo alterações nas taxas de desenvolvimento e sobrevivência, quer do parasita quer do vector, e alterando a dinâmica da transmissão sazonal (Morchón, Carretón, González-Miguel & Mellado-Hernández, 2012).

5. *Wolbachia*

Samuel Wolbach e Mashal Hertig desenvolveram os primeiros estudos acerca da presença e identificação de microrganismos em artrópodes, que resultou na descoberta da *Wolbachia* em *Culex pipientis*, em 1924, sendo feita a descrição do gênero *Wolbachia*, em 1936 (Kozek, Gonzalez & Amigo, 2007).

Na década de 70, foram observadas bactérias intracelulares em vários nemátodes filarídeos, incluindo *D. immitis*, *Onchocerca volvulus*, *Litomosoides sigmodontis* e *Brugia malayi*, através da microscopia eletrônica (Bandi, Treesb & Brattig, 2001). A primeira vez que foi descrita a existência de uma estrutura intracelular em filárias, foi numa *D. immitis* (Harada, Maeda, Nakashima, Sadakata, Ando, Yonamine, Otsuji & Sato, 1970), tendo sido mais tarde demonstrado a natureza bacteriana dessas estruturas intracelulares, tendo-se ainda provado que se tratavam de gram-negativos (McLaren, Worms, Laurence & Simpson, 1975). Duas décadas depois, através de estudos com microscopia eletrônica e técnicas moleculares, foi demonstrado que a bactéria observada pertencia à ordem *Rickettsiales*, classe *Alphaproteobacteriae* e gênero *Wolbachia* e é intracelular obrigatória (Sironi M, Bandi C, Sacchi L, Di Sacco B, Damiani G, Genchi C., 1995; Hise, Gillette-Ferguson & Pearlman, 2004).

Existem várias razões que justificam a teoria de que a presença da *Wolbachia* no seu hospedeiro filarídeo é essencial para a sobrevivência deste: a prevalência da bactéria é de 100% nas filárias passíveis de a conter; a evolução da *Wolbachia* acompanha a evolução dos nemátodes filarídeos, os estudos filogénicos provam que os dois organismos se encontram interligados há milhões de anos; a transmissão faz-se da fêmea para as suas microfilárias, aumentando assim não só o número de *Wolbachia* como o de larvas; a eliminação da *Wolbachia* com antibioterapia conduz à esterilidade das fêmeas e morte dos adultos. Ainda não é claro de que forma é que a *Wolbachia* desempenha este papel tão importante para o seu hospedeiro, mas foi sugerido a bactéria poderá produzir moléculas importantes para as larvas do coração, como por exemplo glutathione (Kramer, 2007) e já se demonstrou que as filárias, por sua vez, contribuem para o crescimento bacteriano, fornecendo aminoácidos (Simón et al., 2012; Scott, Ghedin, Nutman, McReynolds, Poole, Slatko & Foster, 2012).

A *Wolbachia* pode ser observada isolada ou em *clusters* (figura 32) e tem uma relação simbiótica com os mais diversos organismos, incluindo a maior parte dos parasitas filarídeos da família *Onchocercidae*, subfamília *Onchocercinae* e *Dirofilarinae*, como a *D. immitis* e *D. repens* (Barton, Slatko, Taylor & Foster, 2010). Em todos os nemátodes que contêm *Wolbachia* e que foram bem examinados, a bactéria foi observada, estando presente em todas as etapas do ciclo de vida do nemátode e em ambos os sexos, nas células hipodérmicas das cordas laterais (invaginações da hipoderme da parede corporal

que se projectam para a cavidade corporal). Também foram encontradas nos ovários, oocistos e em estádios embrionários em desenvolvimento no útero da fêmea, mas nunca no sistema reprodutivo do macho. Isto sugere que a bactéria é transmitida verticalmente através do citoplasma dos ovos (Pfarr, Foster & Slatko, 2007).



Figura 32 – Corte transversal de uma fêmea de *D. immitis* onde foi feita uma marcação com anticorpos policlonais contra a proteína de superfície da *Wolbachia*. Fonte: Kramer, 2006.

Tendo em conta que nos nemátodes passíveis de conter *Wolbachia*, a prevalência da infecção é de 100%, tudo indica que existe uma endossimbiose obrigatória e que a bactéria é necessária para a fertilidade, desenvolvimento e sobrevivência do nemátode (Pfarr et al., 2007; Frank & Heald, 2010). A proporção da *Wolbachia* varia conforme o estágio do ciclo de vida e a sua quantidade mantém-se constante nas microfilárias e nos estádios larvares dentro do mosquito (L2 e L3) mas, pelo contrário, as quantidades de bactéria aumentam dramaticamente durante a primeira semana de infecção no hospedeiro. O aumento persiste durante o estágio de L4. Nas fêmeas, o número de bactérias continua a aumentar à medida que os ovários e os estádios larvares embrionários ficam infectados (Pfarr et al., 2007).

A *Wolbachia* também desempenha um papel muito importante na resposta imunitária do hospedeiro à invasão por filárias e os seus produtos induzem uma potente actividade inflamatória associada à libertação de moléculas de origem bacteriana, especialmente após tratamentos com fármacos que causam a morte do parasita no hospedeiro (reação de Mazzotti). (Kramer, Grandi, Leoni, Passeri, McCall, Genchi, Mortarino & Bazzocchi, 2008). Foram realizados estudos que sugerem que a *Wolbachia* está envolvida nos processos de muda e embriogénese das filárias, tendo sido demonstrados fortes indícios de uma dependência obrigatória da *Wolbachia* no hospedeiro filarídeo, através do uso de antibióticos (doxiciclina, tetraciclina, rifampicina e azitromicina) que exibiram efeitos danosos nos nemátodes que continham *Wolbachia* (fêmeas estéreis, efeitos letais, entre outros), enquanto que em filárias sem *Wolbachia* não se observaram quaisquer efeitos (Pfarr et al., 2007; Simón et al., 2012).

A *Wolbachia pipientis* é a única espécie do género identificada até hoje, no entanto, dadas as observações feitas de *Wolbachia* em nemátodes filarídeos e em artrópodes, nos quais apresenta comportamentos diferentes, esta designação única para todos os indivíduos do género poderá ser meramente semântica. Uma vez que existem incertezas acerca da possibilidade de a bactéria representar diversas espécies, muitos investigadores utilizam simplesmente *Wolbachia*, um termo conveniente e bem aceite, mas que possivelmente não será taxonomicamente correcto (Lo, Paraskevopoulos, Bourtzis, O'Neill, Werren, Bordenstein and Bandi, 2007).

Actualmente, considera-se que a *Wolbachia* é um alvo essencial nos protocolos terapêuticos para controlo da dirofilariose. O princípio de tratamento através de antibióticos está bem estabelecido, baseado em diversos estudos que relatam os efeitos anti-filarídeos de moléculas como a doxiciclina. Os efeitos colaterais nos nemátodes incluem a inibição da embriogénese, infertilidade, inibição do desenvolvimento larvar e actividade macrofilaricida. Estes efeitos indicam claramente que a bactéria proporciona funções essenciais ao hospedeiro nemátode e permite o seu correcto desenvolvimento e viabilidade. Além disso, em nenhum estudo foi possível a produção de larvas viáveis que estivessem totalmente livres das suas *Wolbachia* (Barton et al., 2010).

Foi demonstrado que a antibioterapia tem efeitos benéficos no controlo da dirofilariose. O efeito na diminuição e eliminação da *Wolbachia*, por si só, já é benéfico se se considerar que a bactéria é uma potencial causadora de inflamação no decorrer da dirofilariose. Estudos experimentais em cães naturalmente infectados demonstraram que o tratamento com doxiciclina antes do tratamento com adulticida (melarsomina) ajuda na redução das reacções inflamatórias devido à morte das filárias adultas, havendo níveis mais baixos de anticorpos contra a *Wolbachia* e de interleucina 8 (citoquina envolvida no recrutamento de neutrófilos) (Kramer, 2007).

Uma das áreas de investigação em que se começará a investir futuramente inclui a possibilidade de diagnóstico fazendo uso de respostas imunes específicas à *Wolbachia*, a sua potencial actividade immunomoduladora e os efeitos do tratamento com antibióticos em animais infectados (Kramer, 2007).

6. Epidemiologia

A *D. immitis* é uma doença que afecta essencialmente canídeos e felídeos domésticos e selvagens, distribuindo-se por zonas que apresentam temperaturas altas e humidade em determinada altura do ano, já que estas condições favorecem a manutenção de abundantes populações de mosquitos vectores. Em zonas tropicais, a transmissão ocorre durante todo o ano, enquanto que nas zonas temperadas, o período de transmissão está

dependente das condições do local (Martín, García & González-Miguel, 2010). Enquanto a *D. immitis*, sendo cosmopolita, se distribui pelo mundo inteiro, a *D. repens* é praticamente exclusiva da Europa, Ásia e África. Grande parte da informação disponível tem origem num número limitado de países nos quais a dirofilariose é, há vários anos, considerada um sério problema médico e veterinário. Com o aumento da frequência da doença, os dados já começam a ser gerados em países onde a dirofilariose não tinha ainda sido documentada anteriormente ou onde a informação disponível era muito limitada (Simón et al., 2012).

A população canina em maior risco é a que se encontra mais exposta aos vectores, como é o caso dos cães sem controlo sanitário, em zonas rurais, sem abrigos permanentes, usados para caça, pastoreio, competição ao ar livre e aqueles que fazem movimentações para zonas endémicas (Tzipory, Crawford & Levy, 2010).

Verifica-se alguma preferência (embora pouco marcada) relativamente ao sexo e à raça, uma vez que estes condicionam a aptidão e a exposição do animal. Os machos poderão ter maior probabilidade de se infectar do que as fêmeas, segundo um estudo feito por Montoya, Morales, Ferrer, Molina & Corbera (1998) em que 56,19% dos machos se encontravam infectados contra 43,81% das fêmeas. Isto pode estar relacionado com o facto de os machos serem mais frequentemente escolhidos para defesa de propriedades, passando mais tempo no exterior e estando, por isso, mais expostos (Song, Lee, Hayasaki, Shiramizu, Kim & Cho, 2003). A idade é um factor de risco também importante, dado que quanto mais velho for o animal, naturalmente mais tempo esteve exposto aos vectores (Montoya et al., 1998; Genchi, Guerrero, McCall & Venco, 2007a) e mais numerosas foram as oportunidades para se tornarem infectados (Mircean, Dumitrache, Györke, Pantchex, Jodies, Mihalca & Cozma, 2012). Segundo um estudo de Song et al. (2003) os animais com idade superior a seis anos são os mais afectados. Embora a raça não pareça ter influência na infecção, os mosquitos parecem seleccionar áreas com menos pêlo para picar (Kittleson & Kienle, 1998), pelo que se pode pensar que raças com pêlo mais curto poderão estar mais susceptíveis. Noutro estudo recente, Mircean et al. (2012) demonstraram que não existem diferenças na infecção de animais de raça pura ou cruzados, realçando que, no entanto, poderá ser mais provável os proprietários aderirem a tratamentos profiláticos antihelmínticos em animais de raça pura do que em animais sem raça definida. No entanto, isto é um facto relativo, que depende muito mais do proprietário do que de características intrínsecas do animal.

Até 2001, a dirofilariose cardiopulmonar encontrava-se essencialmente nos países do sul da Europa, como a Espanha, Portugal, Itália e França. A Grécia, Turquia e alguns países orientais relataram alguns casos dispersos, enquanto no centro e no norte da Europa apenas casos isolados foram relatados (Morchón et al., 2012). Em 2011, a dirofilariose permanece endémica e continua a disseminar-se para além dos países do sul da Europa (figura 33) (Morchón et al., 2012).

Em Portugal, o primeiro estudo publicado demonstra prevalências de dirofilariose cardiopulmonar de 16,7% no Ribatejo, 16,5% no Alentejo e 12% no Algarve, tendo a Ilha da Madeira a prevalência mais alta, com 30% dos cães infectados com *D. immitis* (Araújo, 1996). Em 2011, a prevalência global determinada para o norte e centro-norte de Portugal foi de 2,1%, sendo as prevalências mais altas registadas em Aveiro (6,8%) e em Coimbra (8,8%) (Balreira, Silvestre-Ferreira, Fontes-Sousa, Vieira, Carretón & Montoya-Alonso, 2011).

Até há alguns anos atrás, o interesse pela dirofilariose focava-se, essencialmente, na *D. immitis*, dada a sua patogenicidade nos animais de companhia. Com a disseminação da *D. repens* pelo leste e norte da Europa, surge de novo o interesse por esta espécie. Ambas as espécies de *Dirofilaria* são zoonóticas e as infecções por *D. repens* em humanos tem aumentado drasticamente na Europa. Os parasitas não se desenvolvem, geralmente, até ao estágio de adulto nos humanos, mas já foram relatados três casos de microfilarémia em infecções zoonóticas na Europa (Genchi, 2011).

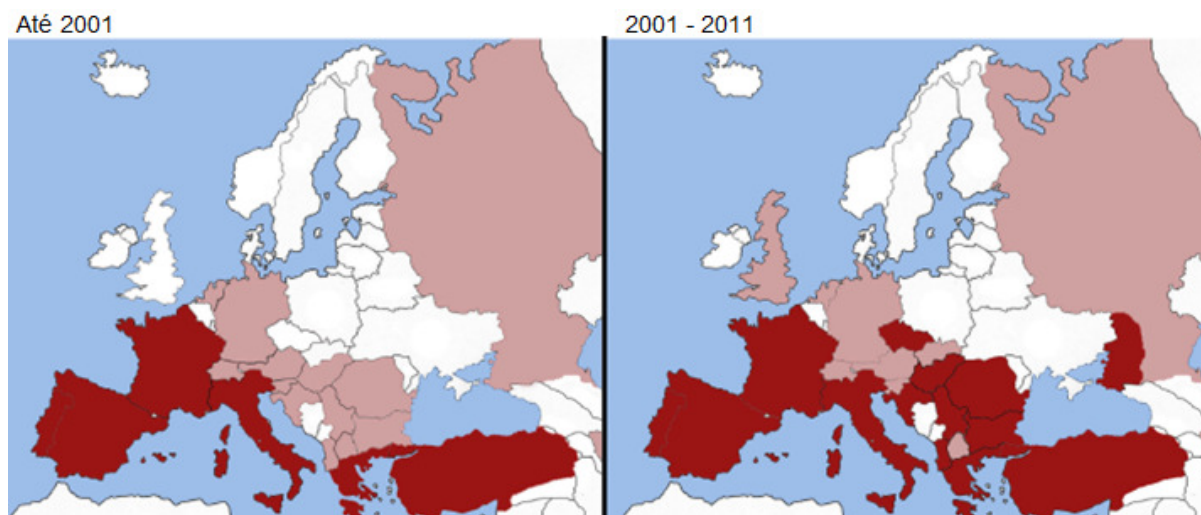


Figura 33 – Comparação da distribuição geográfica na Europa da dirofilariose cardiopulmonar registada em cães entre 2001 e 2011. (Vermelho escuro – zonas endémicas; Rosa – casos esporádicos)

Fonte: Morchón et al., 2012.

As alterações climáticas e ecológicas que o planeta tem vindo a sofrer têm, inevitavelmente, impacto sobre a disseminação das doenças transmitidas por vectores, uma vez que os artrópodes são especialmente sensíveis aos factores climatéricos, que influenciam em grande escala os seus habitats. Segundo Morchón et al. (2012), a prevalência da dirofilariose tem vindo a aumentar e a disseminar-se para o nordeste e centro da Europa. O aumento generalizado do movimento de cães infectados pela Europa, o aumento da preocupação e interesse pela doença, as alterações climáticas, a emergência de novas espécies de vectores e alterações nos ecossistemas devido à actividade humana, poderão ser algumas das causas possíveis para o aumento que se verifica (figura 34) (Morchón et al., 2012). No hemisfério norte, os meses mais favoráveis à transmissão da dirofilariose são Julho e Agosto (Montoya, Morales, Juste & Corbera, 2007).

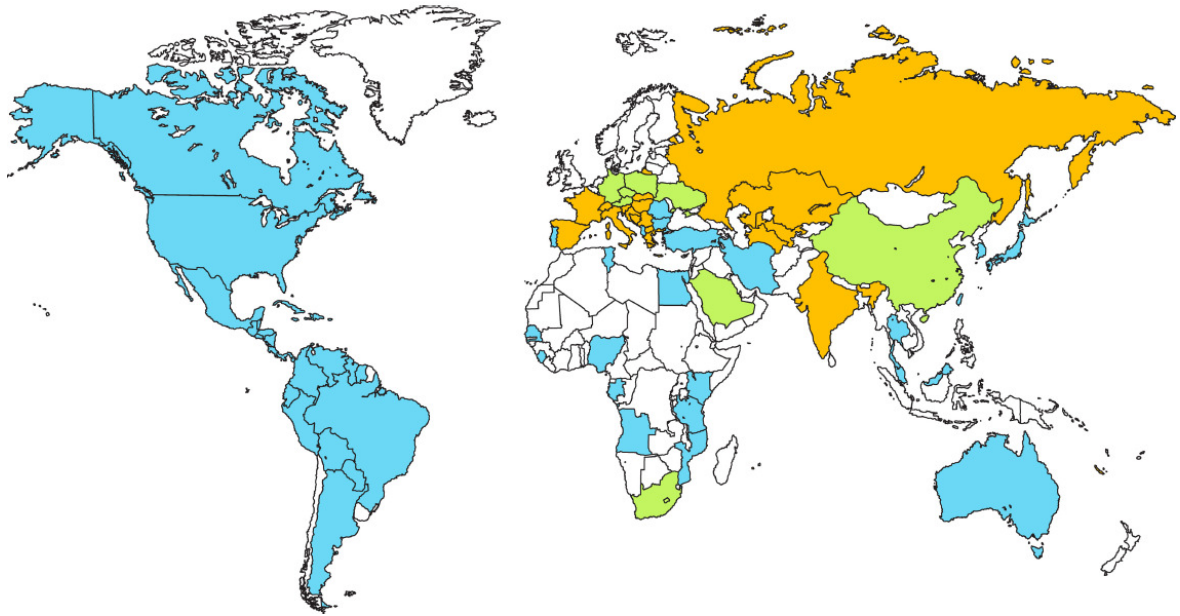


Figura 34 – Actual distribuição geográfica de dirofilariose canina (Azul – *D. immitis*; Verde – *D. repens*; Laranja – ambos). Fonte: Simón et al., 2012)

6.1 Alterações Climáticas

A transmissão da dirofilariose para cães e gatos é influenciada por vários factores, sendo o mais importante a temperatura ambiental. O desenvolvimento da *D. immitis* para L3 nos mosquitos ocorre a um ritmo que depende da temperatura, podendo não se dar o desenvolvimento caso a temperatura se afaste do limiar de cerca de 14°C (Genchi et al., 2007a). Para além disso, as alterações climáticas, influenciadas pelo aquecimento global, criaram condições mais adequadas ao desenvolvimento da população de vectores, levando ao aumento da sua distribuição geográfica e do número de mosquitos capazes de transmitir a doença. Estas alterações não só influenciam a disseminação da dirofilariose como também de outras doenças transmitidas por vectores.

Para ilustrar o impacto do clima na distribuição e prevalência da dirofilariose, existe o exemplo da ilha da Gran Canária, hiperendémica, com 40 km de diâmetro e dividida em quatro diferentes áreas isoclimáticas que dependem da altitude e com diferenças de temperatura e humidade marcadas entre elas. Como consequência, a prevalência da dirofilariose varia entre 12 a 32% entre as populações caninas de cada zona (Montoya-Alonso, Mellado, Carretón, Cabrera-Pedrero, Morchón & Simón, 2010a).

6.2 Actividade Humana e Outros Factores

Há que ter ainda em conta as alterações na ecologia e nos habitats, na disponibilidade da água, a poluição e o desenvolvimento de resistências a insecticidas. A construção de edifícios e a actividade humana em novas zonas também representa um factor importante que aumenta a densidade de potenciais hospedeiros e cria um ambiente adequado à proliferação de certas espécies de mosquitos. A criação de lotes residenciais

em áreas não endêmicas ou com baixas incidências leva à disseminação da dirofilariose, ao alterar a drenagem de terras e providenciar fontes de água em novas zonas urbanas. A expansão urbana tem levado à formação de “ilhas de calor”, uma vez que os edifícios retêm calor durante o dia e, conseqüentemente, irradiam-nos durante a noite, criando microambientes propícios ao desenvolvimento das larvas nos seus vectores durante os meses frios, ampliando assim o período de transmissão da dirofilariose. Tendo estes factores em conta, os ambientes mais favoráveis para a disseminação da dirofilariose caracterizam-se por humidades e temperaturas altas (Morchón et al., 2012). Foi demonstrado que terras irrigadas para a agricultura apresentam prevalências mais altas (Montoya-Alonso, Carretón, Juste, Mellado, Morchón & Simón, 2010b).

6.3 Influência da Profilaxia – o exemplo Canário

Tendo em conta os resultados dos estudos epidemiológicos levados a cabo entre 2001 e 2011, foi registada uma diminuição nas prevalências da dirofilariose nas áreas hiperendémicas. Isto deve-se à implementação de protocolos de prevenção da infecção rigorosos e à informação e educação dos proprietários, acompanhado por uma melhor e maior compreensão acerca da doença (Montoya-Alonso et al., 2010b).

Um bom exemplo da influência da profilaxia é o caso da ilha de Gran Canaria, onde se verificou uma diminuição da prevalência de *D. immitis* de 58,9% para 19,2% no espaço de 13 anos, devido à aplicação generalizada de quimioprofilaxia (Montoya-Alonso, Carretón, Corbera, Juste, Mellado, Morchón & Simón, 2011).

Quadro 1 – Quadro-resumo dos factores que Influenciam a Transmissão e Distribuição de *Dirofilaria* spp. (adaptado de González-Miguel, Gussoni, Morchón, Mellado & Simón, 2012)

Intervenção Humana no Ambiente	Intervenção Humana no Animal	Factores Climáticos
<ul style="list-style-type: none"> ✓ Urbanizações ✓ Áreas irrigadas 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Diagnóstico precoce ✓ Profilaxia adequada ✓ Prevenção das picadas ✓ Viagens ✓ Resistências 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Temperatura ✓ Humidade

7. Aspectos Clínicos e Patogénese da Dirofilariose

7.1 Dirofilariose Cardiopulmonar

A dirofilariose cardiopulmonar canina é uma doença grave e potencialmente fatal causada pelos nemátodes adultos de *D. immitis* e os seus produtos antigénicos, incluindo a bactéria simbiótica *Wolbachia* (Simón et al., 2012). A severidade da patologia cardiopulmonar é determinada pela carga parasitária, pela resposta imunitária do hospedeiro, duração da infecção e nível de actividade física do hospedeiro (Guerrero, 2005).

A infecção por *D. immitis* é caracterizada pela existência de diferentes quadros clínicos, provocados quer pelos adultos quer pelas microfilárias. No entanto, a patofisiologia da dirofilariose cardiopulmonar deve-se, essencialmente, à presença de adultos nas artérias pulmonares (Simón et al., 2012). As microfilárias desempenham um papel menor na patogenia da doença, podendo causar pneumonite, glomerulonefrite e hipersensibilidade às microfilárias nalguns indivíduos. Além disso, quando o tratamento provoca a morte massiva das microfilárias, pode ocorrer choque sistémico (Grandi, Zivicnjak & Beck, 2007).

Como foi referido acima, as filárias adultas localizam-se nas artérias pulmonares e coração direito, no entanto, as L5 imaturas podem, embora raramente, migrar para locais aberrantes, ficando lá presas, como o cérebro, medula, espaço epidural, câmara anterior do olho, vítreo e cavidade peritoneal. Foi relatado, inclusivamente, um caso de achado acidental de vermes na cavidade abdominal aquando de uma cirurgia de rotina (ovariorrectomia) (Oh, Jun, You, Hayasaki & Song, 2008). Embora o espectro de patologias relacionadas com a dirofilariose seja largo, a mais importante no cão é a insuficiência cardíaca congestiva (*cor pulmonale*) (Grandi, Zivicnjak & Beck, 2007).

A dirofilariose cardiopulmonar tem, quase sempre, uma progressão crónica, apresentando primeiramente efeitos pulmonares e vasculares e podendo depois afectar as câmaras do lado direito do coração. Posto isto, embora a designação “doença do verme do coração” sugira um envolvimento cardíaco primário, a localização principal dos parasitas e os primeiros danos causados ocorrem nas artérias pulmonares, pelo que a dirofilariose deveria ser considerada uma doença pulmonar que, nas suas fases finais, envolve o coração direito (Venco, 2007a).

O quadro clínico desenvolve-se como consequência de uma reacção inflamatória nos pulmões e outros órgãos causada pela presença de filárias adultas na artéria pulmonar, ventrículo direito e nos grandes vasos adjacentes como as veias cavas caudal e craneal, e pela presença de microfilárias. A maioria dos canídeos infectados não apresenta sinais clínicos durante anos, dependendo isto dos diversos factores que determinam a severidade da infecção. A lesão arterial é sempre maior em canídeos que pratiquem um exercício físico mais intenso (Grandi, Zivicnjak & Beck, 2007).

Com a chegada dos parasitas às artérias pulmonares, as células endoteliais da túnica íntima vascular proliferam, resultando numa endarterite. Os espaços intercelulares aumentam, as células deformam-se e a elasticidade das paredes arteriais altera-se. A superfície arterial lesada facilita a passagem de albumina, plasma e células sanguíneas para o espaço perivascular, estimulando a proliferação de células musculares lisas na túnica média vascular que migram para o lúmen e induzem a formação de vilosidades intravasculares (endarterite pulmonar proliferativa), cuja severidade está directamente relacionada com a duração da infecção, carga parasitária e intensidade da resposta imunitária do hospedeiro. A parede arterial torna-se rugosa e com aspecto aveludado, ao

mesmo tempo que ocorre uma redução do lúmen e da elasticidade das artérias pulmonares, que não são capazes de se expandir quando é necessário oxigênio durante o exercício (figura 35) (Guerrero, 2005). A doença pulmonar desenvolve-se como consequência destas alterações vasculares. Fluidos e proteínas difundem-se através da parede vascular danificada, causando edema e inflamação do parênquima pulmonar. As lesões vasculares podem levar à ruptura dos vasos pulmonares devido ao aumento brusco da carga cardíaca associado ao esforço e devido a hemoptise e hemorragia pulmonar severas.

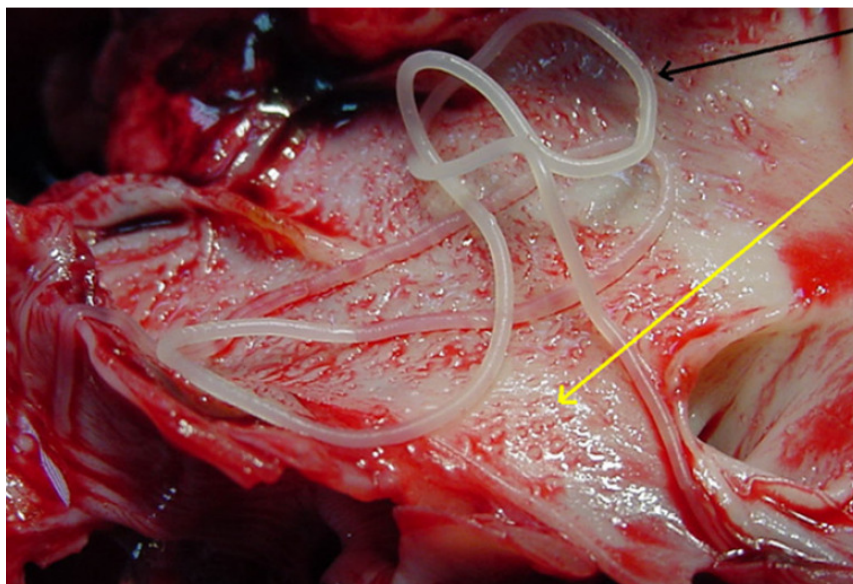


Figura 35 – Alterações patológicas induzidas pelos adultos nas artérias pulmonares (seta preta – adulto; seta amarela – vilosidades intravasculares bem desenvolvidas). Fonte: adaptado de Simón et al., 2012.

Enquanto se dá uma progressão crônica da doença, a morte das filárias – quer espontânea quer devido ao tratamento com filaricidas, causa efeitos adversos agudos caracterizados por tromboembolismo e inflamação severa, podendo ameaçar a sobrevivência do animal.

Durante as fases crônicas da doença podem surgir quadros agudos. Por exemplo, depois de um tromboembolismo espontâneo causado pela morte natural de muitas filárias (principalmente L5 ou pré-adultos) os canídeos podem manifestar dispneia e hemoptise (Corrales, 2011a).

Na dirofilariose, distinguem-se quatro síndromes possíveis: a hipertensão pulmonar, a insuficiência cardíaca congestiva direita, a síndrome de veia cava e a pneumonite alérgica ou dirofilariose oculta. Qualquer destas síndromes pode agravar-se devido a complicações tromboembólicas causadas pela morte dos parasitas (Grandi, Zivicnjak & Beck, 2007).

A hipertensão pulmonar tem origem na redução do diâmetro do lúmen das artérias pulmonares causada pela alteração da parede arterial, podendo haver oclusão por vilosidades, trombos e parasitas, juntamente com mediadores de inflamação. Isto vai gerar uma sobrecarga do lado direito do coração, induzindo *cor pulmonale*, uma insuficiência congestiva direita associado a hipertrofia e dilatação, agravada ainda por alterações na

válvula tricúspide. Na falência cardíaca congestiva direita existe uma congestão venosa generalizada como consequência do aumento da pressão sistêmica venosa (Simón et al., 2012).

A síndrome de veia cava é uma complicação grave frequentemente observada em cães de pequeno porte, geralmente machos (75 a 90%), com cargas parasitárias superiores a 60 parasitas. A síndrome ocorre devido à migração retrógrada dos vermes adultos desde as artérias pulmonares até à veia cava e ao átrio direito, produzindo obstrução ao fluxo sanguíneo e alterando a cinética e função da válvula tricúspide, conduzindo a um aumento de pressão no ventrículo direito e obstrução do lúmen valvular e do sangue circulante, produzindo insuficiência da tricúspide (Atkins & Bowman, 2009). Estes factores geram sobrecargas volumétricas e de pressão no átrio direito e na veia cava caudal, com elevação marcada da pressão venosa e dificultada na circulação de retorno (figura 36). A síndrome de veia cava gera ortopneia e insuficiência respiratória grave, murmúrios cardíacos pansistólicos com regurgitação da tricúspide e hemoglobinúria causada pela hemólise devido à turbulência produzida pela interferência dos parasitas acumulados ao fluxo sanguíneo (Atkins, 2005). Pode também surgir fadiga extrema, intolerância completa ao exercício, pulso jugular, hemólise, hemoglobinúria e coagulação intravascular disseminada (CID), anorexia e morte por choque cardiogénico (Simón et al., 2012).

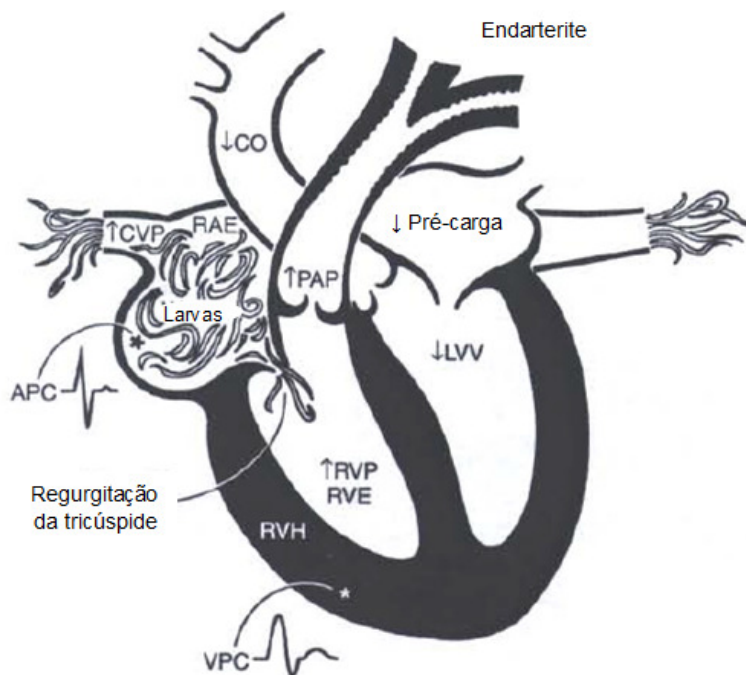


Figura 36 – Patogênese da disfunção cardíaca induzida pela síndrome de veia cava da dirofilariose. A síndrome de veia cava complica a dirofilariose crônica quando ocorre a migração retrógrada dos parasitas das artérias pulmonares para a veia cava e átrio direito. A função da válvula tricúspide é alterada, resultando numa incompetência da mesma. A regurgitação da tricúspide sobrepõe-se à hipertensão pulmonar. A pré-carga ventricular esquerda diminui, seguido de uma falha cardíaca congestiva de baixo *output*. Ocorre desvio do septo à esquerda e movimento septal à direita que contribui para a baixa pré-carga do ventrículo direito. Ocorre desvio do septo à esquerda e movimento septal à direita que contribui para a baixa pré-carga do ventrículo direito. CO – output cardíaco; PAP – hipertensão pulmonar; CVP – pressão venosa central; RAE – aumento do átrio direito; APC – complexo atrial prematuro; VPC – complexo ventricular prematuro; RVH – hipertrofia do ventrículo direito; RVP – pressão ventricular direita; RVE – aumento do ventrículo direito; LVV – volume ventricular esquerdo. Fonte: adaptado e traduzido parcialmente (excepto siglas) de Atkins, 2005.

Alguns cães com dirofilariose oculta exibem pneumonia eosinofílica que produz stress respiratório severo. Este síndrome respiratório é causado pela reacção inflamatória eosinofílica aos antigénios das microfilárias na microcirculação pulmonar, que conduz a uma disfunção alveolar e alterações das trocas gasosas, resultando em hipoxémia, hipóxia e insuficiência respiratória severa. Outra forma de lesão do parênquima pulmonar é a granulomatose eosinofílica, muito pouco comum (Atkins, 2005). As filárias podem produzir lesões noutros órgãos quando adoptam localizações aberrantes como o cérebro, fígado, olhos e cavidade peritoneal. Muitos animais não manifestam sintomas destas lesões durante meses ou anos, dependendo da carga parasitária, reactividade individual e actividade física do animal (Corrales, 2011a).

A nível hepático, a congestão venosa causa esplenomegália e hepatomegália, desenvolvendo-se mais tarde insuficiência hepática acompanhada por icterícia, aumentos das transferases e alterações da coagulação (figura 37) (Simón et al., 2012). O perfil de coagulação apresenta alterações importantes em cães com tromboembolização intensa aguda ou devido ao tratamento adulticida por morte massiva de vermes adultos. Em animais sem sinais clínicos ou com sinais leves de hipertensão pulmonar, não é comum que haja alteração dos factores de coagulação. As enzimas hepáticas, principalmente AST e ALT, podem estar elevadas em cerca de 10% dos canídeos com dirofilariose, sendo mais marcadas em cães com síndrome de veia cava nos quais pode surgir bilirrubinúria e hemoglobinúria de forma brusca e prévia a qualquer outro sinal clínico associado (Corrales, 2011a).



Figura 37 – Congestão hepática crónica em cão com síndrome de veia cava – hepatomegália, parênquima escuro devido a estase sanguínea. Fonte: Ferasin & Knight, 2005.

Os cães com dirofilariose subclínica ou com hipertensão pulmonar ligeira não apresentam nenhuma destas alterações (Corrales, 2011a).

Os animais doentes podem apresentar anemia normocrómica-normocítica e, muitas vezes, eosinofilias marcadas. No entanto, o hemograma não costuma apresentar alterações em animais que não apresentem sinais clínicos (Atkins, 2005).

Não são comuns alterações do perfil proteico mas, quando estas ocorrem pode verificar-se hipoalbuminémia, devido à glomerulopatia e à insuficiência hepática, e um aumento das beta-globulinas e gamma-globulinas e, em menor escala, das alfa-2-globulinas. A azotémia verifica-se em menos de 5% dos cães com dirofilariose. A urianálise apresenta alterações estreitamente relacionadas com a gravidade do processo. Em casos mais simples, não é frequente detectarem-se quaisquer alterações, mesmo com a existência de glomerulonefrite membranosa, que se considera presente em todos os animais com dirofilariose (Corrales, 2011a).

Verifica-se uma proteinúria ligeira em 30% dos animais com sinais clínicos e a maioria dos cães com falha cardíaca congestiva apresentam albuminúria moderada, associada a hipoalbuminémia (Corrales, 2011a).

A morte súbita é rara, mas pode ocorrer como consequência de várias complicações, insuficiência cardiorespiratória, caquexia ou fenómenos tromboembólicos graves (figura 38) (Simón et al., 2012).

A *D. immitis* pode também apresentar alterações não cardiopulmonares, sendo a mais importante a que envolve os rins. Já foi demonstrado que cães infectados podem apresentar alterações microscópicas e da ultraestrutura do rim que incluem o aumento do número de células mesangiais, aumento da espessura da matriz, infiltração celular no interstício, espessamento da membrana basal glomerular e presença de depósito denso na mesma. A dirofilariose associada a glomerulonefropatias deve-se, em parte, à produção e deposição *in situ* de complexos imunes e tem sido relacionada com a presença de microfilárias dentro dos capilares glomerulares e vasos medulares. Os cães com microfilárias circulantes apresentam infiltrados inflamatórios glomerulares e intersticiais muito típicos, assim como espessamento da matriz (Kramer, 2011). A disfunção glomerular provoca proteinúria com isostenúria, cuja determinação é crucial antes de iniciar o tratamento adulticida (dada a sua nefrotoxicidade). Alguns cães apresentam proteinúria grave associada a síndromes nefróticas e amiloidose (Corrales, 2011a). As lesões renais podem progredir para nefroses severas induzidas pela proteinúria, evoluindo para insuficiências renais e azotémias graves (Simón et al., 2012).

Foi também demonstrado recentemente que as microfilárias circulantes são muito provavelmente uma fonte importante de antigénios parasitários, incluindo a *Wolbachia*, em cães afectados, e possivelmente a *Wolbachia* quando se liberta das microfilárias mortas pode induzir inflamação e respostas imunes específicas. Estas microfilárias *Wolbachia*-positivas foram também observadas em tecidos, incluindo nos rins, tendo sido encontradas na urina IgG contra uma proteína de superfície anti-*Wolbachia* (Morchón, Ferreira, Martín-Pacho, Montoya, Mortarino, Genchi & Simón, 2004).

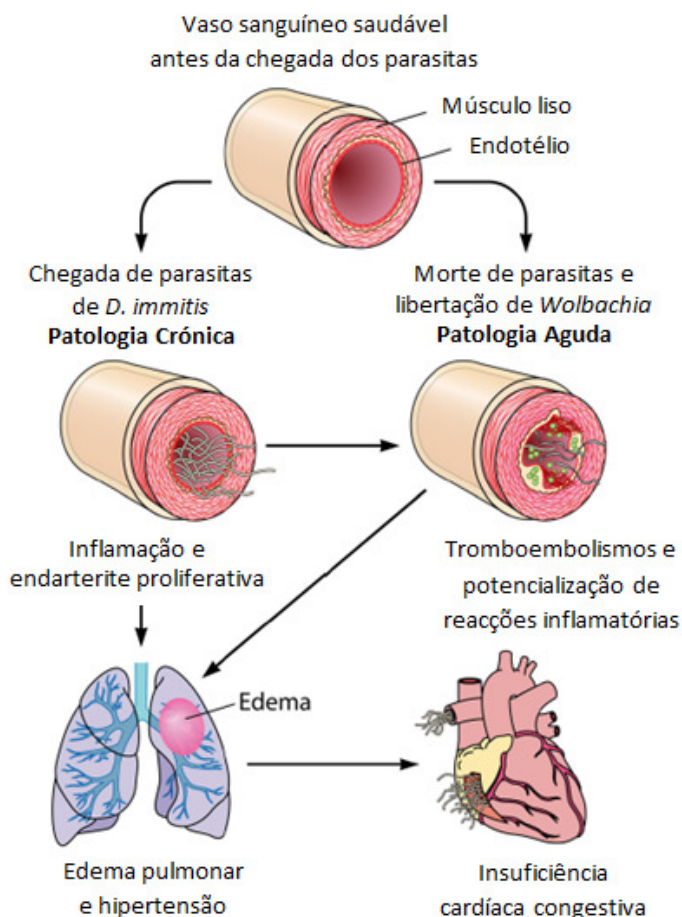


Figura 38 – Progressão da dirofilariose. Fonte: adaptado e traduzido de Simón et al., 2012.

Os sinais clínicos que se desenvolvem dependem sempre da severidade e duração da infecção, reflectindo estes os efeitos do parasita nas artérias pulmonares e pulmões e, secundariamente, no coração. Os sinais relatados em animais infectados incluem: perda de peso, intolerância ao exercício, tosse, letargia, dispneia, síncope e distensão abdominal (ascite). À auscultação pode detectar-se desdobramento do segundo som cardíaco (13%), murmúrio do lado direito devido a insuficiência da tricúspide (13%) e ruídos de galope (Atkins, 2005). Pode conseguir-se também auscultar crepitações pulmonares no lóbulo caudal (Corrales, 2011a). É comum detectarem-se sopros cardíacos devido a insuficiência da válvula tricúspide e alteração do ritmo cardíaco devido a fibrilação aurículo-ventricular (Simón et al., 2012). Um dos sintomas mais frequentes em cães é a tosse crónica persistente e não-produtiva, que aumenta com o exercício e é seguida por uma dispneia moderada ou severa e taquipneia. Os animais podem ainda exibir epistaxis, hemoptise ou hemorragia pulmonar que, se for grave, pode resultar em choque hipovolémico.

Quando se desenvolve insuficiência cardíaca congestiva surge ascite, edema, hidrotórax, hidropericárdio (Simón et al., 2012), anorexia, perda de peso e desidratação (Corrales, 2011a). Ocorre também ingurgitação venosa (jugular, cutânea, episcleral ou retinal) e congestão visceral, o que conduz a variadas sintomatologias. Apesar de tudo, a grande maioria dos cães é assintomática (Atkins, 2005).

7.2 Dirofilariose Subcutânea e Ocular

Esta forma de dirofilariose está associada à presença de nemátodes adultos de *D. repens* em tecidos ou nódulos subcutâneos indolores, embora possam ter outras localizações, como a conjuntiva ocular. A infecção tem um padrão assintomático que parece ser o mais comum e que leva a que muitas vezes a descoberta da infecção seja acidental. A maior parte dos animais infectados não apresenta quaisquer sinais clínicos, embora haja microfilarémia persistente, tornando difícil avaliar a patogenicidade de *D. repens* (Grandi, Zivicnjak & Beck, 2007).

As manifestações clínicas dividem-se em dois síndromes clínicas: dermatite nodular multifocal (geralmente, na face e mais comum) e dermatite pruriginosa papular (raro). São comuns diversos sinais dermatológicos associados à presença de adultos e microfírias na pele, como prurido, em 100% dos animais afectados, eritema (79%), pápulas (62%), alopecia (55%), hiperqueratose (18%), crostas (14%), nódulos (12%) (figura 39), acantose (5%), eczema (3%), pioderma (3%) e edema (1%). Os sintomas extradérmicos mais comuns são conjuntivite, anorexia, vômito, febre, letargia e linfadenomegália. Embora não haja dados experimentais, estas lesões são atribuídas a processos mecânicos e imunopatológicos (Simón et al., 2012).



Figura 39 – Nódulo contendo fêmea adulta de *D. repens*, num cão em Itália. Fonte: Tarello, 2011.

Nos poucos casos relatados em que ocorreu infecção massiva com vermes adultos e microfilarémia alta, observaram-se alterações histopatológicas em muitos órgãos, incluindo baço, fígado, rins, pulmões, coração e cérebro. A natureza destas lesões sugere efeitos mecânicos e imunopatológicos combinados, provocados pelas microfírias e pelos adultos. Pensa-se que a dermatite relacionada com *D. repens* requer a presença de outros agentes infecciosos ou stress para se desenvolver (Grandi, Zivicnjak & Beck, 2007).

Enquanto a patogénese de *D. immitis* é bem conhecida, em relação à da *D. repens* ainda há muito por compreender. Ambos os parasitas são importantes agentes zoonóticos, particularmente a *D. repens*, sendo que os veterinários desempenham um papel essencial na protecção dos humanos contra a infecção. Por este motivo, é essencial que os sinais

clínicos sejam reconhecidos, que seja feito o diagnóstico correcto e aplicados tratamentos e profilaxia eficientes (Grandi, Zivcijnjak & Beck, 2007).

8. Diagnóstico

Os testes antigénicos actuais detectam proteínas produzidas principalmente pelas fêmeas adultas de *D. immitis*. Os testes para microfilárias mais úteis concentram os parasitas e permitem maior precisão (teste da filtração ou teste de Knott modificado) (C. Genchi, Venco & M. Genchi, 2007b).

O mais precocemente que os antigénios e as microfilárias de *D. immitis* podem ser detectados é 5 a 6 meses pós-infecção, respectivamente. A antigenémia pode preceder mas por vezes é mais demorada, sendo a diferença até ao aparecimento de microfilárias de apenas algumas semanas. Os antigénios podem nunca ser detectados em cães com cargas parasitárias muito baixas. Além disso, pode haver supressão dos antigénios até cerca de 9 meses pós-infecção em cães infectados a tomar lactonas macrocíclicas como preventivo (AHS, 2012).

A altura ideal para testar deve contemplar um intervalo razoável entre a data do teste e a data provável da infecção, considerando-se geralmente um intervalo de 7 meses. Deste modo, não se considera necessário nem se justifica testar um cão para antigénios ou microfilárias antes dos 7 meses de idade (AHS, 2012).

Independentemente de se estar a monitorizar uma população de cães assintomáticos ou a tentar detectar uma infecção por *Dirofilaria* num animal suspeito, o método de diagnóstico mais sensível é o teste de antigénios (Atkins, 2005). O teste de detecção de microfilárias é complementar e deve ser feito em conjunto com o de antigénios, determinando-se assim se esse estágio do ciclo de vida também está presente nos cães antigenémicos. Como apenas 1% das infecções são patentes mas não antigenémicas, não se aconselha a execução de testes de detecção de microfilárias isoladamente (AHS, 2012).

8.1 Testes Antigénicos

Os testes antigénicos com ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) e imunocromatografia fazem a detecção dos antigénios circulantes, sendo o *gold standard* para o diagnóstico da dirofilariose (C. Genchi, Venco & M. Genchi, 2007b).

A geração actual de testes antigénicos identifica a maior parte das infecções ocultas (quando estão presentes adultos mas não há microfilárias circulantes) que consistam em, pelo menos, uma fêmea adulta e têm uma especificidade muito próxima dos 100% (C. Genchi, Venco & M. Genchi, 2007b; AHS, 2012).

Para obter um resultado o mais fiável possível, os testes antigénicos devem ser executados cumprindo rigorosamente as instruções do fabricante. A precisão dos testes de *Dirofilaria* em condições não controladas (a campo, por exemplo) é influenciada pelo seguimento rigoroso das instruções, armazenamento e manuseamento correctos do kit de teste e amostras (figura 40). Todo o procedimento tem vindo a simplificar-se com o uso de *kits* que minimizam o número de passos e automatizam ao máximo o processo (AHS, 2012).

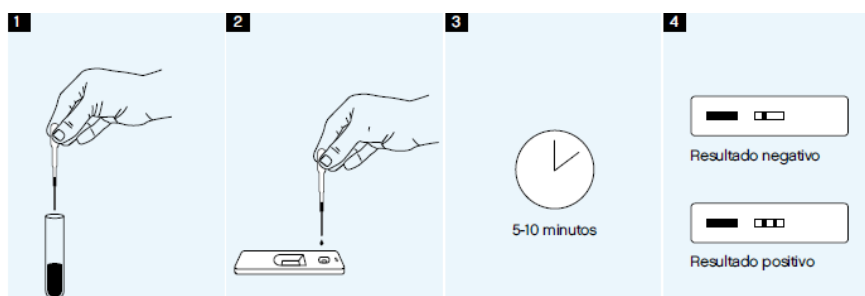


Figura 40 – Instruções do teste Urantest@Dirofilaria, cuja sensibilidade é de 94,4% e especificidade de 100% (1- pipetar a amostra colocada previamente em tubo com EDTA; 2 – colocar duas gotas no poço para o efeito; 3 – aguardar 5 a 10 minutos; 4 – avaliar o resultado). Fonte: Urano@vet, 2012

Se os testes antigénicos forem executados cuidadosamente, é muito raro ocorrerem falsos-positivos. No entanto, podem surgir falsos-negativos em casos de cargas parasitárias baixas, infecções só de machos ou infecções imaturas (Atkins, 2011). Perante a ocorrência de resultados inesperados, deve efectuar-se um novo teste de um fabricante diferente. Se o resultado for ambíguo, é recomendado efectuar a confirmação num laboratório de referência. Testes de concentração de microfílaras, radiografias torácicas e visualização de parasitas à ecografia podem também validar testes antigénicos com fracos positivos. Em casos de exposição mínima, recomenda-se a confirmação de todos os testes antigénicos positivos em cães assintomáticos antes de estabelecer terapia adulticida (AHS, 2012).

A tecnologia antigénica ELISA permite uma semi-quantificação da carga parasitária e da eficácia da terapia adulticida. Cerca de oito a doze semanas após a terapia adulticida bem sucedida, a concentração de antígenos diminui para níveis indetectáveis. No entanto, antigenémias que persistem para além das 12 semanas após a terapia indica uma infecção persistente (Atkins, 2011).

A intensidade da cor de testes antigénicos positivos não pode ser utilizado de forma fiável para determinar a carga parasitária. A quantidade de antígenos circulantes tem uma relação directa, mas imprecisa, com o número de fêmeas adultas. A utilidade do teste ELISA para calcular o grau de parasitismo é limitado, confundindo algumas complicações como o aumento transiente da antigenémia associado com morte recente de parasitas ou baixos valores de antígenos em infecções com fêmeas adultas jovens ou com poucas fêmeas adultas. A análise quantitativa dos resultados antigénicos é altamente especulativa e requer a correlação com outras informações relevantes. Por exemplo, evidências radiográficas de afecção pulmonar e arterial típica de dirofilariose cardiopulmonar crónica, juntamente com a

ausência ou com baixos valores de antígenos circulantes é consistente com o resultado de uma infecção prévia já resolvida, naturalmente ou com tratamento (AHS, 2012).

A grande desvantagem destes testes reside no facto de só detectarem antígenos de fêmeas adultas, produzindo falsos negativos nos primeiros seis (cinco a oito) meses da infecção, nas infecções só com machos e nas infecções com poucas fêmeas (antígenos indetectáveis) (Atkins, 2005). Os falsos negativos ocorrem geralmente em infecções ligeiras, quando as fêmeas ainda são imaturas ou há machos presentes e/ou as instruções do kit não foram seguidas correctamente e, portanto, os resultados são positivos ou estão abaixo dos limites detectáveis, não devendo nunca ser registados como “negativos” (C. Genchi, Venco & M. Genchi, 2007b).

Até ao momento, os métodos de diagnóstico que detectam anticorpos anti-filárias não são específicos, não tendo valor diagnóstico em cães (Corrales, 2011b). No entanto, existem *kits* disponíveis de detecção de anticorpos para uso no diagnóstico da dirofilariose felina, que não podem ser usados em cães (C. Genchi, Venco & M. Genchi, 2007b).

8.2 Testes de Microfilárias

O diagnóstico clínico e epidemiológico é inespecífico na maioria dos casos, sendo necessário realizar um diagnóstico etiológico que inclui a detecção de microfilárias no sangue e posterior identificação específica. Quando se conseguem identificar microfilárias como *D. immitis*, segundo a sua morfologia, considera-se comprovada a infecção específica. O facto de nem todos os cães apresentarem microfilárias circulantes, embora alberguem parasitas adultos, pode dever-se a uma infecção por parasitas adultos do mesmo sexo, à idade dos parasitas (a fertilidade das fêmeas diminui com o tempo, administração simultânea de fármacos microfilaricidas (Corrales, 2011b) (principalmente programas de prevenção com lactonas macrocíclicas) (AHS, 2012) ou destruição massiva de microfilárias no parênquima pulmonar, como consequência da resposta imunitária. As provas de detecção de microfilárias não são, portanto, suficientes para descartar uma infecção em casos negativos.

Deve ter-se em conta que a intensidade da microfilarémia não se correlaciona com a carga parasitária de vermes adultos, pois cães altamente microfilarémicos podem alojar poucos adultos e vice-versa (Corrales, 2011b).

Posto isto, a maior parte dos cães microfilarémicos conseguem ser detectados através do exame microscópico de uma gota fresca de sangue, detectando-se nesta microfilárias móveis. Geralmente, padrões de movimento estacionários em vez de migratórios é indicativo de *Dirofilaria spp.*, sendo quase sempre *D. immitis*. Também é possível visualizar movimentos por baixo do *buffy coat* num tubo de microhematócrito. No entanto, estes são métodos muito pouco sensíveis para examinar amostras de sangue com números muito baixos de microfilárias (50-100/mL). Deve-se usar, pelo menos, 1 mL de

sangue para examinar, recorrendo a técnicas de concentração (teste de *Knott* modificado ou teste de filtração) determinando a ausência ou presença de microfilárias. O teste de *Knott* modificado é o método preferido para a observação da morfologia e medição das dimensões das estruturas, de modo a diferenciar *D. immitis* das espécies de filarídeos não patogénicas. O teste de *Knott* modificado faz-se misturando 1 mL de sangue com 9 mL de formalina a 2% num tubo, invertendo-o várias vezes para misturar bem, causando a lise dos eritrócitos, resultando numa mistura clara, cor de vinho. Esse preparado é centrifugado por 5 minutos e o líquido é decantado, deixando-se o sedimento (AHS, 2012). Adiciona-se uma gota de azul de metileno ao tubo e depois tira-se uma gota de sedimento corado e coloca-se numa lâmina, com uma lamela por cima, para proceder à observação ao microscópio (figura 41). Primeiro examina-se a lâmina procurando a presença de microfilárias com a ampliação x100. Para observar as características das microfilárias, deve-se preferir uma ampliação de x400 (Genchi et al., 2007b).

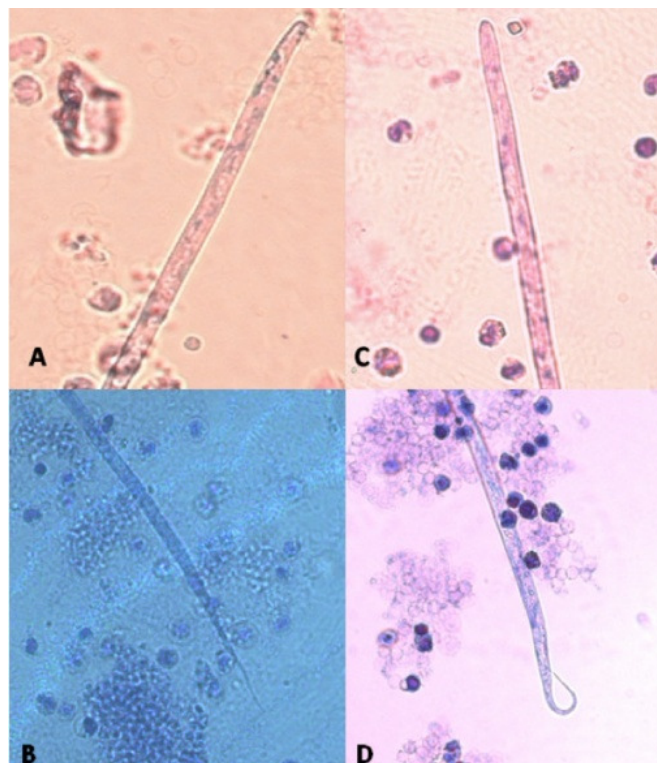


Figura 41 – Técnica modificada de *Knott*: Extremidade anterior e posterior de *D. immitis* (A-B) e *D. repens* (C-D).
Fonte: Traversa, Di Cesare & Conboy, 2010).

Embora a diferenciação através das características morfológicas cefálicas e caudais seja possível, este é um procedimento bastante difícil de conseguir (Simón et al., 2012). Também é possível efectuar a diferenciação por técnicas histoquímicas através da actividade da fosfatase ácida. As microfilárias de *D. immitis* apresentam duas zonas de actividade junto ao poro anal e ao poro excretor, enquanto *D. repens* apenas apresenta uma zona de actividade junto ao poro anal (Chalifoux & Hunt, 1971).

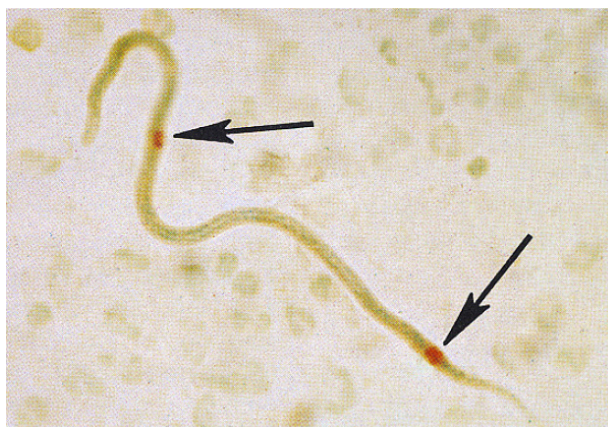


Figura 42 – *D. immitis* com evidências de actividade enzimática junto aos poros anal e excretor. Fonte: Chalifoux & Hunt, 1971.

A diferenciação das espécies pode ainda ser feita através da amplificação do ADN das microfilárias por PCR (Simón et al., 2012).

Os fármacos usados para prevenção como a ivermectina, milbemicina oxima, moxidectina e selamectina resultam numa amicrofilarémia na maior parte dos cães em seis a oito meses. Por isso, o uso de testes para detecção de microfilárias não faz sentido em cães que fazem profilaxia, sendo que o único teste eficiente para o número cada vez maior de cães que recebe prevenção mensal é o teste antigénico (Bowman & Atkins, 2009). Embora o diagnóstico possa ser baseado apenas no teste antigénico, os cães positivos devem também ser testados para microfilárias, uma vez que a microfilarémia valida os resultados serológicos, identifica o paciente como reservatório da infecção e alerta o veterinário para potenciais reacções severas à administração de microfilaricidas a um animal com uma contagem de microfilárias alta (Corrales, 2011b).

Um teste positivo de microfilárias juntamente com um teste antigénico positivo confirma conclusivamente uma infecção por *D. immitis*. Se o teste de microfilárias for positivo, mas o teste antigénico for negativo, então a infecção poderá estar a ser causada por outras espécies que não *D. immitis*, podendo então ser determinada por técnicas histoquímicas ou PCR (Simón et al., 2012).

8.3 Exames Complementares

Para além do diagnóstico específico, são necessários exames complementares que incluem: hemograma, urianálise, radiografias torácicas (figura 42), electrocardiograma e ecocardiograma (quadro 2) (Corrales, 2011b). Estes vão fornecer informações essenciais acerca do estado clínico do paciente, evolução e fase da doença (Simón et al., 2012).

Quadro 2 – Exames complementares de diagnóstico (adaptado de: Corrales, 2011b; Simón et al., 2012)

Hemograma	Avaliação da anemia normocrômica-normocítica, eosinofilia, alterações do perfil de coagulação
Perfil Bioquímico	Hipoalbuminémia, gammopatias, elevações de ALT e AST, azotémia
Urianálise	Proteinúria, bilirrubinúria e hemoglobinúria (em casos graves)
Radiografia torácica	Dilatação das artérias pulmonares, alterações do padrão pulmonar e cardiomegália direita (casos mais graves). Pode ainda confirmar-se a presença de pleurite, efusões pleurais e/ou ascite, mas não tem utilidade na determinação da carga parasitária.
Electrocardiograma	Alterações no eixo eléctrico e no ritmo cardíaco. Fibrilações auriculares (fases terminais) e afecção grave do ventrículo direito.
Ecocardiograma	Detecção de parasitas (estruturas lineares hiperecogénicas duplas e paralelas, livres nas artérias pulmonares, ventrículo e átrio direito e veia cava caudal. Com Doppler, pode avaliar-se o estágio da doença, a severidade da hipertensão pulmonar e estimar a carga parasitária.

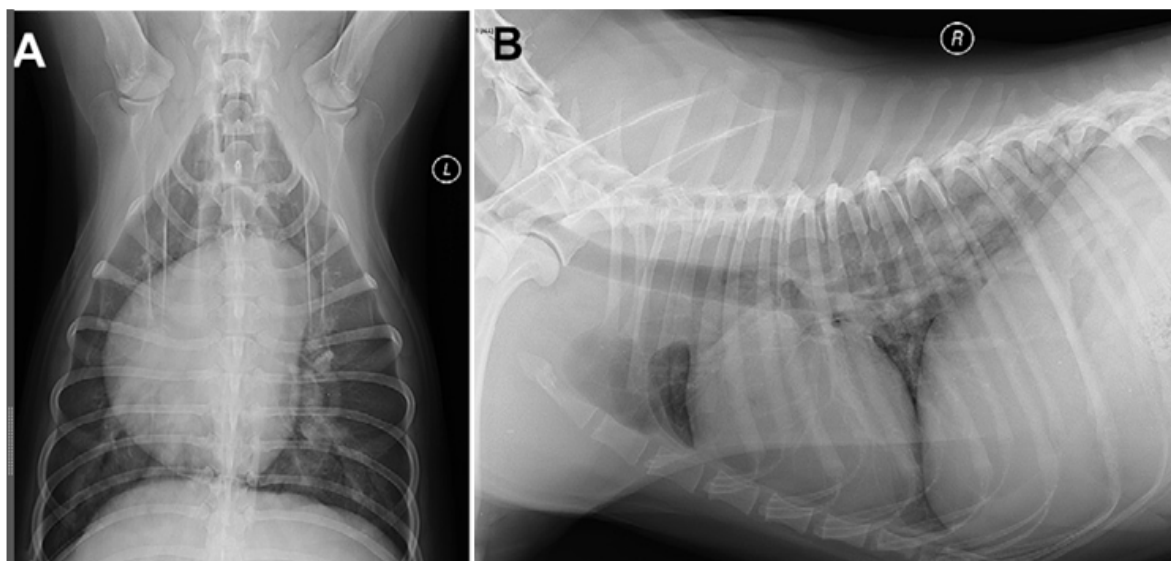


Figura 43 – Radiografia de um canídeo macho com 3,5 anos com dirofilariose. A – Plano ventrodorsal com a típica forma cardíaca de “D invertido”, indicando aumento do lado direito do coração. As artérias pulmonares lobares caudais estão marcadamente aumentadas e tortuosas. B – Plano lateral onde é evidente o contacto entre coração e esterno aumentado. Fonte: Bowman & Atkins, 2009.

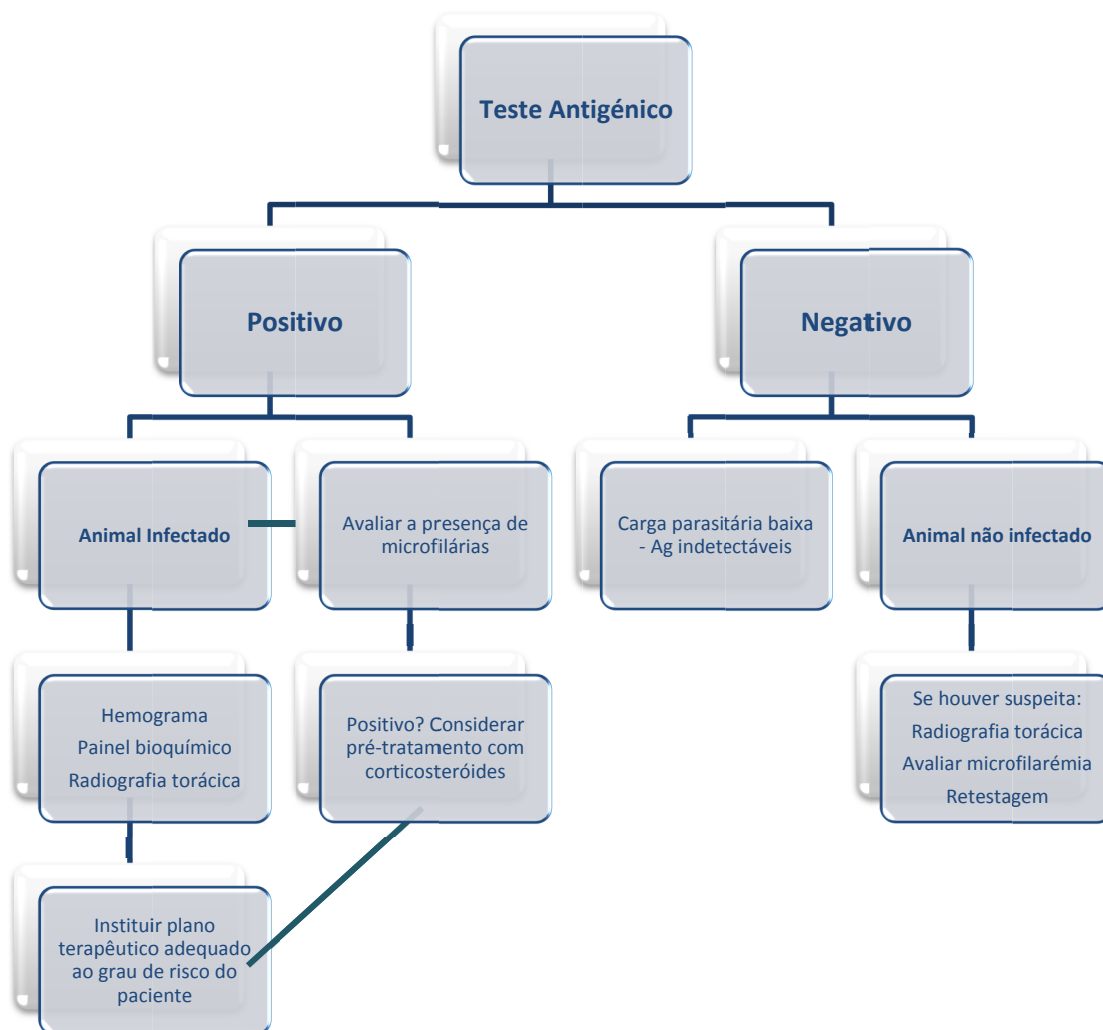


Figura 44 – Resumo da abordagem diagnóstica. Fonte: adaptado de Atkins, 2005 e C. Genchi, 2007b.

As moléculas libertadas no sangue como consequência de dano celular em capilares e tecidos miocárdicos, a perfusão inadequada e a lise de trombos podem servir como marcadores de afecção cardiovascular, tendo aplicação no processo de implementação de terapêutica adequada a cada caso. Os níveis de troponina cardíaca I em cães com dirofilariose e sem dirofilariose foram estudados, tendo-se chegado à conclusão que existem diferenças estatísticas muito significativas entre animais infectados e não infectados, levando a crer que os níveis de troponina cardíaca I poderá ser um indicador importante da lesão miocárdica em cães com dirofilariose (Gazyagci, Dogru & Yagei, 2011). Os biomarcadores cardiopulmonares são parâmetros biológicos que podem ser medidos e quantificados como indicadores de processos patogénicos ou como indicadores da resposta ao plano terapêutico. Os níveis de troponina T e I, mioglobina e dímero-D em cães com dirofilariose também foram estudados recentemente, tendo-se obtido dados que indicam o uso de troponina I e mioglobina como biomarcadores do dano cardíaco e o uso de dímero-D como ferramenta de apoio do diagnóstico de tromboembolismo pulmonar nos cães. Já em relação à troponina T, percebeu-se que os níveis da mesma são igualmente indetectáveis

quer em cães saudáveis quer em infectados, não se reconhecendo a sua utilidade no diagnóstico (Carretón, Corbera, Juste, Morchón, Simón & Montoya-Alonso, 2011).

Finalmente, é recomendada ainda a necrópsia em casos de suspeição, nos quais a morte tenha precedido o diagnóstico ou em casos em que a dirofilariose cardiopulmonar não pôde ser excluída, apesar do diagnóstico negativo em vida, inclusivamente para verificar a hipótese de localizações ectópicas (Simón et al., 2012).

8.4 A *Wolbachia* enquanto ferramenta de diagnóstico

Foi estudada e considerada como ferramenta de diagnóstico a detecção de proteína de superfície da *Wolbachia* (WSP) e IgG anti-WSP. Tendo em conta o óptimo desempenho dos kits comerciais existentes para a detecção de antígenos da dirofilariose canina, a correspondência moderada-baixa dos testes de antígenos da *Wolbachia* com estes kits e a existência de outras técnicas de diagnóstico como a detecção de microfilárias, a aplicação de testes de diagnóstico serológico baseados na detecção de anticorpos anti-*Wolbachia* na dirofilariose animal não demonstra grande utilidade clínica, como meio de diagnóstico. No entanto, a detecção de anticorpos anti-*Wolbachia* poderia ser interessante em estudos epidemiológicos para avaliação da pressão real da infecção numa área endémica, avaliação da eficácia do tratamento macro e microfilaricida, já que a morte das filárias é o principal factor para libertação de *Wolbachia*. A detecção de um aumento dos anticorpos anti-*Wolbachia*, juntamente com uma diminuição dos anticorpos anti-*Dirofilaria*, poderia ser interpretada como um sinal relativamente à eficácia do tratamento (Kramer, 2005; Simón, Kramer, Morchón & Genchi, 2007).

8.5 Diagnóstico de *D. repens*

O diagnóstico baseia-se na detecção de microfilárias circulantes e sua identificação através do método desenvolvido por *Knott*. Os testes antigénicos que detectam *D. immitis* não detectam *D. repens* e não foi descrita nenhuma reactividade cruzada (Venco, 2007).

9. Tratamento

O tratamento da dirofilariose cardiopulmonar canina é complexo e, muitas vezes, arriscado devido aos efeitos secundários da destruição massiva de parasitas na circulação sanguínea (Simón et al., 2012). Antes do tratamento, deve ser avaliada com precaução a situação clínica individual de cada animal, tendo em consideração diversos factores importantes que podem colocar em risco o animal em tratamento (quadro 3). Com base nestes factores, pode determinar-se o risco de complicações tromboembólicas e da presença de síndrome de veia cava (Simón et al., 2012).

Quadro 3 – Classificação dos pacientes nas categorias de baixo e alto risco de ocorrência de complicações tromboembólicas e síndrome de veia cava. Fonte: Venco, 2007a; Simón et al., 2012.

Baixo Risco	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Carga parasitária baixa; ✓ Ausência de lesões do parênquima pulmonar e capilares; ✓ Sintomatologia ausente; ✓ Radiografia torácica normal; ✓ Baixos níveis de antígenos circulantes ou ausência de antígenos juntamente com microfilarémia; ✓ Ausência de parasitas na ecocardiografia; ✓ Ausência de outras doenças concomitantes; ✓ Capacidade de limitar o exercício de forma rigorosa.
Alto Risco	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Carga parasitária alta; ✓ Sintomatologia – tosse, intolerância ao exercício e ascite; ✓ Radiografia torácica com alterações; ✓ Níveis altos de antígenos circulantes; ✓ Visualização de parasitas na ecocardiografia; ✓ Doenças concomitantes; ✓ Impossibilidade de limitar a actividade física.

A obtenção de sucesso no tratamento de animais assintomáticos ou que exibem sinais de doença ligeira é, geralmente, mais simples, podendo por vezes ser mais exigente. Os animais com doença moderada ou severa ou pacientes com outras doenças concomitantes são especialmente difíceis e desafiantes (Atkins, 2005).

O tratamento de suporte é recomendado em cães com sinais de dirofilariose cardiopulmonar em que o tratamento específico não está recomendado ou em cães antes de iniciar o adulticida ou o tratamento cirúrgico (Venco, 2007a). A restrição do exercício, em muitos casos, parece ser a medida mais importante para reduzir as complicações relacionadas com tromboembolismos e hipertensão pulmonar (Dillon, Brawner & Hanrahan, 1995). A abordagem terapêutica de suporte inclui a administração de fármacos com o objectivo de controlar e aliviar os sintomas, melhorando o bem-estar do animal (quadro 4).

Quadro 4 – Possíveis abordagens terapêuticas de suporte. Fonte: Simón et al., 2012; Venco, 2007a.

Grupo Terapêutico	Objectivo	Dose
Anti-inflamatórios Esteróides	Controlo da inflamação pulmonar e de fenómenos tromboembólicos	Prednisona: 1 mg/kg SID durante 4 a 5 dias Prednisolona: 2 mg/kg SID durante 4 a 5 dias
Diuréticos	Redução do edema pulmonar e efusão pleural quando existe insuficiência cardíaca congestiva	Furosemida: 1 mg/kg BID
Oxigénio	Manejo de animais com dificuldades respiratórias.	
Fluidoterapia	Controlo da hipovolémia e restauro da função renal e hemodinâmica	

Os objectivos de qualquer tratamento da dirofilariose consistem em melhorar a condição clínica do animal e eliminar todos os estádios de vida do parasita (microfilárias, estádios larvares, juvenis e adultos) com um mínimo possível de complicações posteriores ao tratamento. Cães com sinais clínicos significados de dirofilariose devem ser estabilizados tanto quanto possível antes da administração de um adulticida, podendo requerer a administração de glucocorticóides, diuréticos, vasodilatadores, agentes inotrópicos positivos e fluidoterapia (AHS, 2012).

9.1 Terapia Adulticida

9.1.1 Dihidroclorato de melarsomina - Immiticide®

É administrada através de uma injeção intramuscular profunda nos músculos lombares epaxiais (figura 44), sendo a única molécula adulticida aprovada pela FDA (Food and Drug Administration) para o tratamento da dirofilariose (Bowman & Atkins, 2009; AHS, 2012).

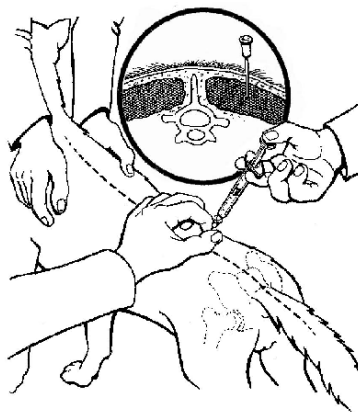


Figura 45 – Apresentação esquemática da injeção intramuscular profunda nos músculos lombares do cão. Fonte: Miller, 2007

Pode ocorrer alguma dor e tumefacção no local da injeção, que passará no espaço de alguns dias. Para minimizar este efeito, há que assegurar a escolha de uma agulha com as medidas apropriadas ao tamanho e condição corporal do cão (AHS, 2012).

Ainda não foi comprovada a actividade da melarsomina contra parasitas com menos de 4 meses de idade, mas surgiram recentemente dados não publicados que sugerem que a molécula pode ter maior eficácia contra larvas jovens do que se pensava anteriormente (AHS, 2012).

O protocolo de duas injeções (2,5mg/kg com 24 horas de diferença) listado no produto para tratamento da dirofilariose de classe 1 e 2 mata apenas 90% das larvas adultas. O protocolo alternativo de três doses (uma injeção de 2,5mg/kg seguida de duas injeções na mesma dose com 24 horas de diferença, um mês depois da primeira injeção) registado para o tratamento da dirofilariose de grau 3 (severa) mata 98% dos parasitas. Estes valores de eficácia reflectem a percentagem de parasitas mortos em grupos de cães e não a percentagem de cães livres de parasitas, que são consideravelmente mais baixos do

que estes valores gerais de eficácia. A classificação da doença e aplicação do protocolo de duas doses tem falhado em assegurar o sucesso do tratamento, pelo que, independentemente da severidade da doença (com a exceção da síndrome de veia cava) o protocolo recomendado pela American Heartworm Society é o das três doses, apresentando este maior segurança e eficácia do que o anterior (AHS, 2012).

9.1.2 Tromboembolismo Pulmonar

Esta é uma consequência inevitável do sucesso da terapia adulticida, podendo ser severa se a infecção for grande e a doença arterial pulmonar for extensa. Se se verificarem sinais de embolismo (febre baixa, tosse, hemoptise, exacerbação de falência cardíaca direita), estes tornam-se evidentes entre os 7 e os 10 dias, mas ocasionalmente prolongam-se até às 4 semanas após o fim da administração de adulticidas (Atkins, 2005). Embolismos ligeiros em áreas relativamente saudáveis do pulmão podem ser clinicamente inaparentes. Um factor crucial na redução do risco de complicações tromboembólicas é a restrição rigorosa do exercício do animal. Os proprietários devem estar, por isso, bem cientes da importância deste cuidado (Bowman & Atkins, 2009).

9.2 Terapia Adjuvante

9.2.1 Corticosteróides

A administração de doses anti-inflamatórias ajuda a controlar os sinais de tromboembolismo pulmonar. Os corticosteróides são úteis para controlar reacções adversas ao tratamento, assim como complicações pulmonares (Bowman & Atkins, 2009).

Os estudos demonstram que a eficácia da melarsomina não diminui quando é administrada prednisona em conjunto. Em áreas altamente endémicas onde os animais têm maior probabilidade de ter cargas parasitárias grandes, é recomendado o uso de glucocorticóides, como a prednisona que é usada na dose de 0,5mg/kg BID na primeira semana e 0,5mg/kg SID na segunda semana, seguindo-se uma a duas semanas de administrações em dias alternados nas mesmas doses (AHS, 2012).

9.2.2 Anti-Inflamatórios Não-Esteróides / Aspirina®

Não é recomendado o uso empírico do ácido acetilsalicílico pelo seu efeito anti-trombótico ou para reduzir a arterite pulmonar, não existindo provas convincentes dos seus benefícios clínicos, havendo até pesquisas que sugerem que a Aspirina® é contraindicada (Bowman & Atkins, 2009).

9.2.3 Lactonas Macroclílicas

É altamente provável que um cão positivo aloje larvas com menos de um mês até cerca de 7 anos. O efeito não confirmado da melarsomina contra estádios inferiores a 4

meses pode representar um problema para alcançar o objectivo de eliminar todas as larvas. O intervalo de susceptibilidade entre as lactonas macrocíclicas e a melarsomina é demonstrado na figura seguinte (figura 45) (AHS, 2012).

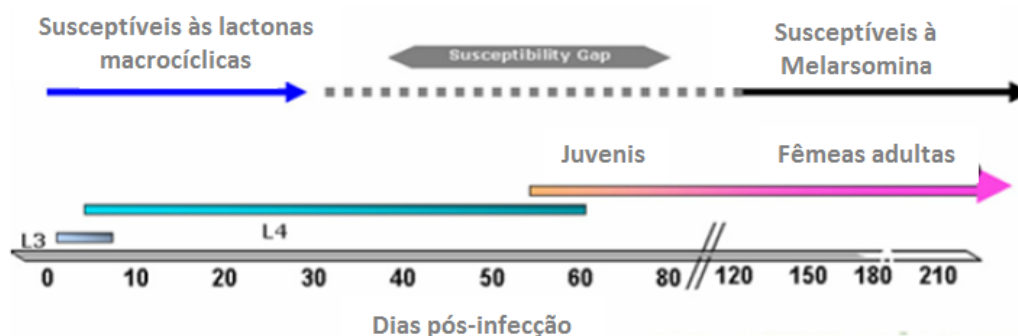


Figura 46 – Cronologia do desenvolvimento de *D. immitis*, com os períodos de susceptibilidade às lactonas macrocíclicas e à melarsomina. O tracejado corresponde ao período durante o qual se considera que *D. immitis* não é susceptível a nenhum dos tratamentos. Fonte: adaptado de AHS, 2012; Merial Limited Duluth, GA, 2008.

Este intervalo de susceptibilidade pode ser eliminado administrando lactonas macrocíclicas preventivas durante 2 a 3 meses antes da administração de melarsomina, eliminando assim as larvas em migração com menos de dois meses de idade e permitindo que as larvas entre os 2 e os 4 meses cheguem à idade em que já são susceptíveis à melarsomina. Este protocolo é benéfico e deve ser usado, desde que o quadro clínico não exija intervenção imediata. Desta forma, matam-se as larvas susceptíveis e previne-se a reinfecção do cão, enquanto se permite que as larvas menos susceptíveis se desenvolvam até adultos susceptíveis. Esta tática aumenta a probabilidade de eliminar a infecção no momento em que as injeções adulticidas são aplicadas. Este protocolo tem ainda o benefício de as lactonas macrocíclicas reduzirem grandemente, senão eliminarem, as microfilárias circulantes, inibindo *D. immitis* imaturas e reduzindo ainda as fêmeas adultas, ao comprometer o sistema reprodutivo (AHS, 2012).

Deve ser implementada uma restrição rígida do exercício desde o momento do diagnóstico, durante o tratamento e recuperação, sendo o período mais extremo de restrição de exercício recomendado nas quatro primeiras semanas após a administração de melarsomina. As lactonas macrocíclicas administradas enquanto microfilaricidas podem causar uma diminuição rápida no número de microfilárias e devem ser usadas com precaução em cães com microfilarémias altas, recomendando-se o tratamento prévio com antihistamínicos e glucocorticóides para minimizar as reacções (AHS, 2012).

9.2.4 Doxiciclina

A relação simbiótica entre *Wolbachia* e *Dirofilaria spp.* permite a adopção de opções promissoras no tratamento da dirofilariose, usando a *Wolbachia* como alvo terapêutico. O objectivo dessas estratégias é bloquear o desenvolvimento das filárias e diminuir ou eliminar as reacções secundárias derivadas da eliminação das bactérias aquando da morte das filárias (Kramer, Simón, Tamarozzi, Genchi & Bazzocchi, 2005).

A doxiciclina reduz a quantidade de *Wolbachia* em todos os estádios da *Dirofilaria*. A sua administração durante o primeiro ou segundo mês após a infecção foi letal para L3 e L4 em infecções experimentais. Em cães com infecções por adultos, a doxiciclina suprime gradualmente a microfilarémia. Estudos recentes demonstraram que cães pré-tratados com ivermectina e doxiciclina antes das injeções de melarsomina tiveram menos afecções pulmonares associadas à morte de parasitas (figura 46) (Bowman & Atkins, 2009).

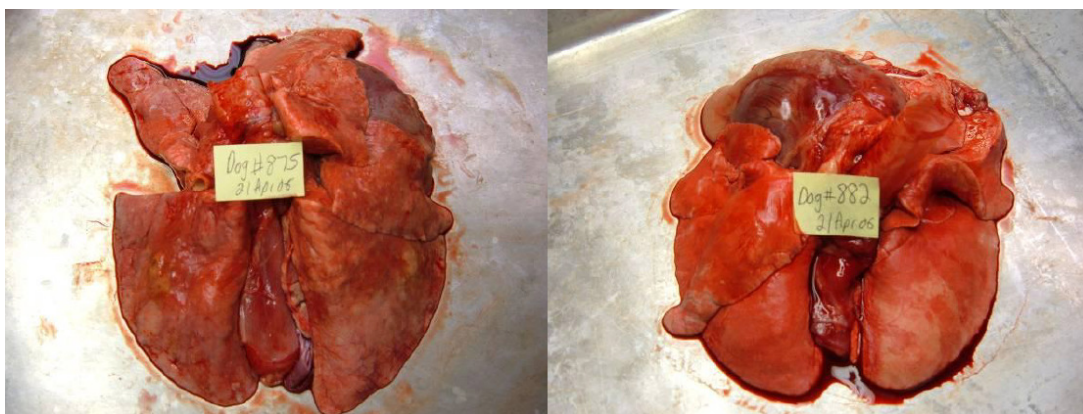


Figura 47 – Pulmões de cães com dirofilariose. À esquerda - tratamento apenas com melarsomina; à direita - tratamento com ivermectina+doxiciclina+melarsomina. Fonte: AHS, 2012 (foto cedida por John McCall)

Ao ser incorporada num protocolo de tratamento de dirofilariose, a doxiciclina deve ser administrada antes da melarsomina de modo a que a *Wolbachia* e os seus metabolites estejam reduzidos ou ausentes no momento da morte das larvas. A doxiciclina deve ser administrada na dose de 10mg/kg BID durante 4 semanas (AHS, 2012).

9.3 Protocolo Recomendado pela American Heartworm Society (2012)

- Dia 0** – Diagnóstico: positivo para Dirofilariose
Iniciar a restrição de exercício (mais rigorosa quanto mais pronunciados os sintomas);
Se animal sintomático:
Estabilizar;
Prednisona – 0,5 mg/kg BID (primeira semana); 0,5 mg/kg SID (segunda semana);
0,5 mg/kg dias alternados (terceira e quarta semana)
- Dia 1** – Administração de lactona macrocíclica
Pré-tratamento com antihistamínicos e glucocorticóides (se ainda não tiver começado a prednisona no dia 0) para reduzir o risco de anafilaxia em animais microfilarémicos
Observar durante 8 horas, procurando sinais de reacções.
- Dia 1-28** – Administração de Doxiciclina
Administrar doxiciclina 10 mg/kg BID durante 4 semanas
- Dia 30** – Administração de lactona macrocíclica
- Dia 60** – Administração de lactona macrocíclica + Primeira injeção de melarsomina
Melarsomina 2,5 mg/kg intramuscular
Recomeçar prednisona segundo o mesmo esquema mencionado para o dia 0.

Restrição ainda mais rigorosa, manter o animal dentro de jaula e à trela sempre que tenha que sair

- ☑ **Dia 90** – Administração de lactona macrocíclica + Segunda injeção de melarsomina
Melarsomina 2,5 mg/kg intramuscular
- ☑ **Dia 91** – Terceira injeção de melarsomina
Melarsomina 2,5 mg/kg intramuscular
Recomeçar prednisona segundo o mesmo esquema anterior
Continuar com a restrição de exercício por mais 6 a 8 semanas após a última injeção.
- ☑ **Dia 120** – Testar a presença de microfilárias
Se positivo – tratamento para as microfilárias com 30 dias adicionais de doxiciclina e refazer o teste em 4 semanas
Estabelecer prevenção anual da dirofilariose
- ☑ **Dia 271** – Teste antigénico 6 meses após o final

9.4 Extracção Cirúrgica dos Parasitas Adultos de *D. immitis*

Muitas vezes, o tratamento adulticida não é tolerado em casos de infecções severas já que isso provocaria uma resposta imunitária severa derivada da morte rápida dos parasitas (Lee, Moon & Hyun, 2008). Nestes casos severos, como é o caso de animais com síndrome de veia cava, os meios mecânicos ou cirúrgicos para a remoção dos parasitas são os mais indicados, devendo ser aplicados o mais rapidamente possível pois, no caso de síndrome de veia cava, a condição clínica poderá evoluir para morte em 2 dias (Lee et al., 2008; AHS, 2012).

A remoção cirúrgica das larvas do átrio direito e do orifício da válvula tricúspide pode ser conseguida usando uma sedação ligeira, anestesia local e pinças crocodilo rígidas ou flexíveis ou outros instrumentos que permitam pinçar e puxar os parasitas (em “cesto” e em “laço”) (figura 47), sendo introduzidos preferencialmente na veia jugular externa direita, através de um cateter, e com o auxílio de fluoroscopia (AHS, 2012; Venco, 2007).

As principais vantagens deste método são o facto de ser pouco invasiva, provocar poucos danos no endotélio vascular e não necessitar de longas anestésias. Segundo um estudo levado a cabo por Yoon, Jeong, Kim, Han, Jang, Lee & Namkang (2005) a taxa de remoção de parasitas usando pinças crocodilo foi de 91,4% durante um procedimento com $30.0 \pm 7,6$ min. Apesar das vantagens da remoção mecânica através de cirurgia, é necessário melhorar estes métodos de modo a conseguir aceder às artérias pulmonares, minimizando a hemorragia durante a cateterização e o processo de remoção. Num estudo desenvolvido por Lee et al. (2008) foi feita uma remoção percutânea modificada, com sucesso, revelando que o método experimentado é uma boa alternativa de tratamento para cães com infecções severas (figura 48). Antes de eleger este método de tratamento, deve-se fazer a observação ecocardiográfica do coração direito e das artérias pulmonares de

forma a determinar que o número de parasitas em localizações acessíveis é suficiente (AHS, 2012).

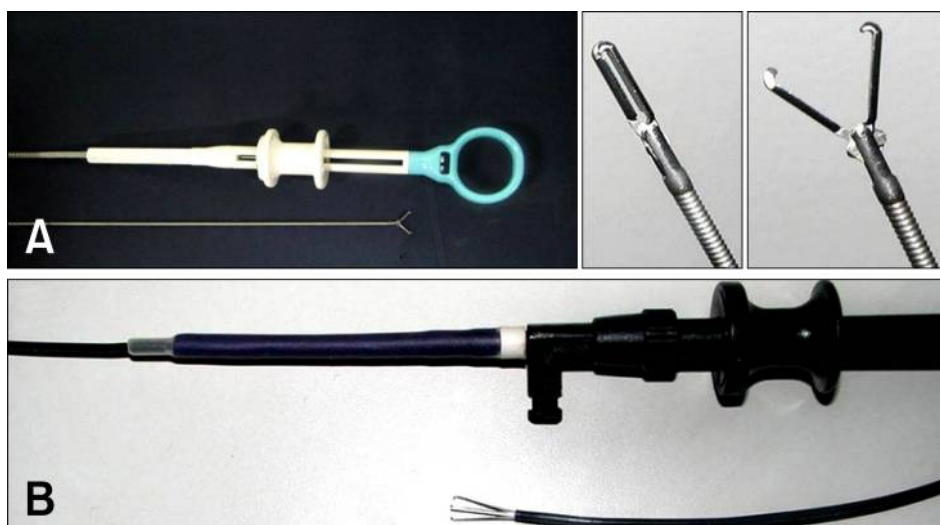


Figura 48 – Exemplo de instrumentos utilizados (A – fórceps endoscópicos com pinças; B – Fórceps flexíveis de três fios). Fonte: Lee et al., 2008

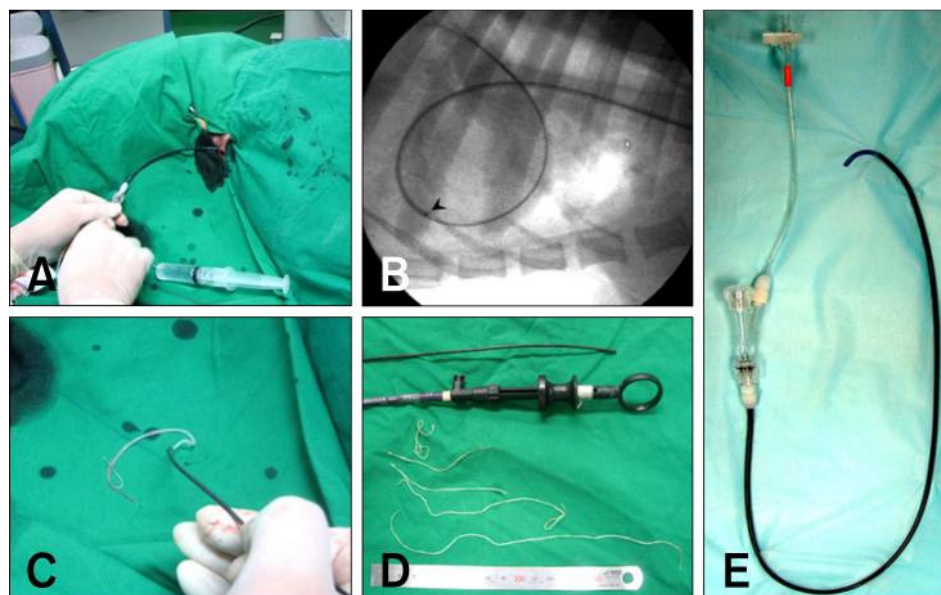


Figura 49 – Procedimento de remoção de filárias (A – inserção do instrumento de remoção até ao lado direito do coração ou artéria pulmonar; B – remoção de filária da artéria pulmonar com fluoroscópio; C – remoção de filárias da baínha; D – parasitas removidos; E – exemplo de baínha que pode ser utilizada). Fonte: Lee et al., 2008

Após a remoção das parasitas, deve proceder-se ao exame clínico dos animais. Nos estudos efectuados, os murmúrios sistólicos desaparecem à auscultação torácica ou tornam-se mais discretos e a hemoglobinúria desaparece em 12 a 24 horas (figura 49) (AHS, 2012; Lee et al., 2008). No estudo levado a cabo por Lee et al. (2008), com a execução de uma nova técnica minimamente invasiva de remoção percutânea, as contracções ventriculares prematuras também desapareceram após a remoção dos nemátodes (figura 50) e no seguimento semanal, os animais apresentaram francas melhoras sem quaisquer complicações. Em animais mais doentes e hipovolémicos, poderá

ser necessário implementar uma fluidoterapia que permita restaurar a função renal e hemodinâmica (AHS, 2012).



Figura 50 – Urina antes e depois (quadrado pequeno) do tratamento cirúrgico, onde se aprecia o desaparecimento da hemoglobinúria. Fonte: Lee et al., 2008

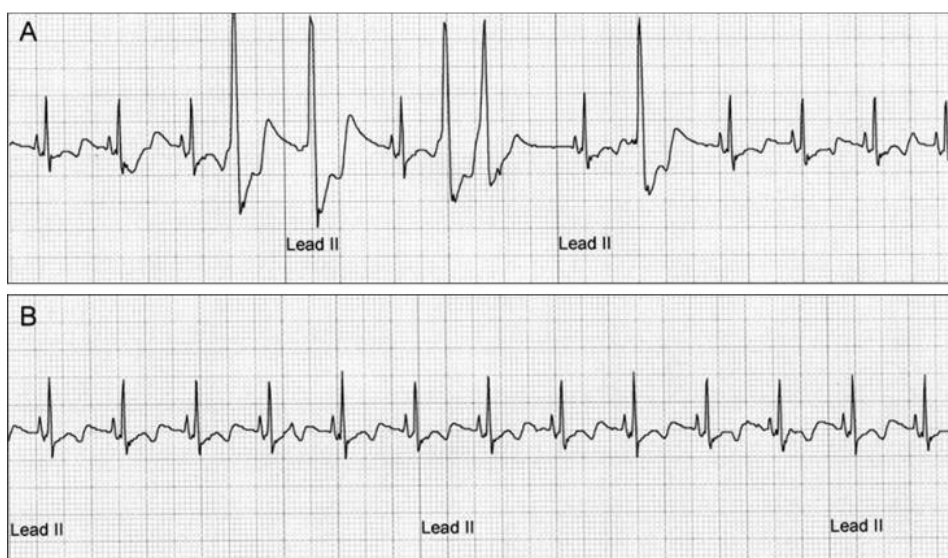


Figura 51 – Electrocardiogramas do animais infectados antes (A) e depois (B) da remoção cirúrgica dos parasitas. Em (A) pode apreciar-se um ritmo sinusal com complexos ventriculares prematuros ocasionais e em (B) não se registaram complexos ventriculares prematuros (durante uma hora de ECG). Fonte: Lee et al., 2008

O risco de mortalidade intraoperatório é muito baixo e a taxa de recuperação relaciona-se com o número de parasitas removidos. Ao contrário dos tratamentos adulticidas, a extracção de filárias pode evitar o risco de formação de tromboembolismos pulmonares (Atkins, 2005).

Os animais tratados cirurgicamente requerem, mesmo assim, melarsomina para alcançar a cura completa (Bowman & Atkins, 2009). É recomendada a terapia adulticida poucas semanas após a recuperação da cirurgia, em particular quando ainda são visíveis algumas filárias na ecocardiografia (AHS, 2012).

9.5 Terapêuticas Alternativas

9.5.1 Administração a Longo Prazo de Lactonas Macroclílicas

Estes protocolos para obter a morte e eliminação lenta das larvas recorrendo a administrações mensais contínuas de doses profiláticas de qualquer que seja a lactona macroclílica não é recomendada, pois quanto mais velhos são os parasitas quando são

expostos pela primeira vez às lactonas macrocíclicas, mais tempo demora a eliminá-los. O efeito adulticida das lactonas macrocíclicas pode demorar mais de dois anos com administração contínua, sendo na mesma necessária restrição rígida do exercício durante todo o período de tratamento. Durante este período, a infecção iria persistir e a doença continuaria a piorar. Para além disso, existe uma preocupação com o uso isolado de lactonas macrocíclicas que diz respeito à possível selecção de subpopulações resistentes (AHS, 2012).

9.5.2 Lactonas Macrocíclicas/Doxiciclina

Em casos em que a terapia com melarsomina não é possível ou está contraindicada, o uso de preventivos mensais juntamente com doxiciclina deve ser considerado.

Estudos comprovaram que o uso de ivermectina e doxiciclina associadas permitia obter animais amicrofilarémicos após a 9ª semana, diminuindo ainda gradualmente os valores relativos aos antígenos. A redução das filárias adultas, neste mesmo estudo, foi de 20,3% com o uso isolado de ivermectina, 8,7% com o uso de doxiciclina, 92,8% com a associação de ivermectina, doxiciclina e melarsomina, 100% com apenas melarsomina e 78% com ivermectina e doxiciclina. Estas observações sugerem que a administração de doxiciclina e ivermectina associadas, durante alguns meses antes da melarsomina, vai eliminar adultos com um menor potencial de gerar tromboembolismos do que se a melarsomina for usada sozinha (McCall, Genchi, Kramer, Guerrero, Dzimiński, Supakordej, Mansoure, McCall, Supakordej, Gradi & Carson, 2008). Está também provado que esta combinação vai diminuir o tempo de vida, embora não elimine a infecção por adultos, vai reduzir as consequências da morte dos parasitas e vai quebrar a transmissão da *Dirofilaria*, embora as microfilárias consigam na mesma infectar mosquitos, o que acontece é que as formas infectantes dos mosquitos não serão tão capazes de infectar outros cães (AHS, 2012).

A American Heartworm Society definiu um protocolo a aplicar sempre que, por algum motivo, o Immiticide® não esteja disponível ou esteja contraindicado. Confirmando-se a microfilarémia, o animal deve ser tratado com corticoesteróides (e eventualmente anti-histamínicos) e administrando-se o preventivo (lactona macrocíclica – ivermectina).

Tratamento Anti-inflamatório: dexametasona 0,25 mg/kg intravenoso e difenidramina 2,2 mg/kg intramuscular OU predisolona 1 mg/kg oral uma hora antes e seis horas depois da administração da primeira dose de preventivo.

Tratamento Preventivo: os animais devem ser mantidos continuamente com preventivos para limitar infecções até o adulticida estar disponível e puder ser aplicado.

Tratamento com doxiciclina: 10 mg/kg BID durante quatro semanas. A dose deve ser repetida trimestralmente até o adulticida ser usado (a dose pode ser reduzida para metade se surgirem problemas de tolerância ao medicamento).

Assim que o adulticida estiver disponível é possível as filárias adultas persistam nos animais que adoptaram o protocolo acima descrito, devendo todos os animais ser sempre retestados para revalidar a presença de adultos na infecção. Se for positivo, o animal deve iniciar o tratamento apropriado com o adulticida (melarsomina) (AHS, 2011).

9.5.3 Terapia Microfilaricida

Actualmente, a FDA não tem aprovada nenhuma droga microfilaricida. Antes da introdução das lactonas macrocíclicas, a eliminação das microfilárias era o segundo passo no tratamento sequencial da dirofilariose. Os protocolos actuais que utilizam a doxiciclina combinada com lactonas macrocíclicas eliminaram a necessidade da eliminação das microfilárias após o tratamento adulticida (Atkins, 2010).

As lactonas macrocíclicas administradas como microfilaricidas podem causar um decréscimo demasiado rápido no número de microfilárias e deve ser usado com precaução em cães com contagens altas de microfilárias, recomendando-se neles o pré-tratamento com antihistamínicos e glucocorticóides.

Quando a eliminação de microfilárias é realizada no curso da prevenção da dirofilariose, deve fazer-se um teste para microfilárias em cães tratados com adulticida ao mesmo tempo que é feito o teste de antígenos, seis meses após o tratamento (AHS, 2012).

9.6 Confirmação da Eficácia da Terapêutica Adulticida

Muitas vezes, as melhorias clínicas e a eliminação eficaz das microfilárias não se acompanham de um efeito adulticida completo. A recorrência da microfilarémia em seis meses pode dever-se ao facto de os adultos não terem sido todos eliminados ou devido à maturação de larvas imaturas, caso não tenha sido administrado preventivo durante a terapia adulticida. Pode ainda ter ocorrido reinfecção, caso tenha ocorrido falhas na prevenção (AHS, 2012).

Os testes antigénicos são a forma mais fiável de confirmar a eficácia da terapia adulticida. Se todas as fêmeas adultas tiverem sido eliminadas, os antígenos serão indetectáveis seis meses após o fim do tratamento. No entanto, este único teste não comprova que o cão é negativo, já que podem estar presentes estádios larvares ou juvenis, sendo assim produzidas quantidades insuficientes de antígenos para criarem um resultado positivo no teste. Isto é particularmente grave caso não tenha sido administrada lactona macrocíclica antes ou durante a terapia adulticida. Como as filárias adultas podem continuar a morrer durante mais de um mês após a administração de adulticida, aos cães que ainda forem positivos para antígenos por volta dos seis meses após o tratamento deve ser dado mais tempo para que a antigenémia desapareça, antes de se considerar logo o retratamento (AHS, 2012; C. Genchi et al., 2007a).

9.7 Tratamento de *D. repens*

O tratamento com adulticidas não está bem descrito, embora haja relatos de tratamento bem sucedido com melarsomina e uma combinação de moxidectina 2,5%/imidaclopride 10% (Advocate®) (Pingen, Lorentz, Magnis, Menn, Schaper & Naucke, 2009).

O tratamento sintomático é indicado em animais com sinais clínicos como tumefacção e inflamação cutânea, nódulos subcutâneos e prurido. A administração de corticosteróides e antibióticos e a remoção cirúrgica dos nódulos é recomendada nestes casos para alívio dos sintomas (Venco, 2007b).

10. Profilaxia

A profilaxia da *D. immitis* é um acto essencial, se se pensar no quão severa é a doença e na dificuldade e riscos que a terapia acarreta (Simón et al., 2012).

É aconselhável dar início à profilaxia um mês antes do período de transmissão e um a três meses depois do final deste período. Em regiões endémicas ou onde o clima permite a transmissão durante todo o ano, é aconselhável um protocolo profilático que confira protecção durante todo o ano (C. Genchi et al., 2007a).

Antes de iniciar a quimioprofilaxia pela primeira vez é essencial fazer o teste antigénico e verificar a presença de microfilárias no sangue, em cães com mais de sete meses a um ano sem historial anterior de toma de preventivos. É importante também testar anualmente animais que já têm estabelecido e seguem um plano profilático (Simón et al., 2012).

As várias opções para prevenção incluem formulações orais, tópicas ou parenterais, administradas em intervalos mensais ou de seis meses. O tratamento profilático de eleição em termos de eficácia e segurança consiste na administração de lactonas macrocíclicas como: ivermectina, milbemicina oxima, moxidectina ou selamectina. Estas drogas não previnem a inoculação das larvas, mas impedem o seu desenvolvimento (AHS, 2012). A combinação de imidaclopride e permetrina, aplicada topicamente, tem um efeito não só insecticida como repelente da picada do mosquito, inibindo e prevenindo a sucção e a consequente infecção por *D. immitis* (Hayasaki & Saeki, 2009). Um exemplo comercializado é o Advantix®, que proporciona efeito contra mosquitos que dura duas a quatro semanas.

Os cachorros devem iniciar a prevenção tão cedo quanto possível, a partir das oito semanas de idade. Os animais que começarem a tomar preventivo após as oito semanas de idade devem ser testados seis meses após a dose inicial e depois sempre anualmente, daí em diante. Antes de iniciar a prevenção em cães com mais de sete meses, deve fazer-se um teste antigénico e, se se considerar necessário, testar para a presença de microfilárias.

Isto vai evitar atrasos desnecessários na detecção de infecções subclínicas e potenciais confusões no que diz respeito à eficácia do plano profilático, caso se torne evidente uma infecção pré-existente após o início da administração de preventivos (preventivos iniciados durante o período pré-patente). Há evidências que sugerem que a redução da população reservatório através do aumento do número de cães que recebe preventivos cria uma protecção colateral ao causar uma diminuição desproporcional na prevalência da infecção em cães não protegidos (Genchi et al., 2007a).

Embora possa não ocorrer transmissão durante todo o ano, é aconselhável que se opte por preventivos de largo espectro e que protejam o ano inteiro, com actividade endoparasiticida e até ectoparasiticida, prevenindo assim infecções patogénicas e até zoonóticas (Simón et al., 2012).

10.1 Lactonas Macroclínicas

As lactonas macroclínicas são moléculas que têm uma excelente relação terapêutica/toxicidade, interrompendo o desenvolvimento das microfilárias, L3 e L4 e, nalguns casos, adultos jovens, durante os primeiros dois meses de infecção (Atkins, 2011). Todas as lactonas macroclínicas administradas oral e topicamente estão indicadas com um intervalo de 30 dias. A eficácia contra as L4 vai declinando e é imprevisível. As formas juvenis, que podem ser encontradas aos 52 dias pós-infecção são ainda menos susceptíveis aos preventivos. A eficácia das lactonas macroclínicas que se estende pós-infecção é útil, em parte, para salvaguardar qualquer atraso ou omissão das doses agendadas mas não justifica o aumento do intervalo recomendado de um mês entre doses para as formulações orais e tópicas. Este prolongamento da eficácia contra L4 e juvenis tem implicações importante na prevenção em cães que falharam doses durante a época de transmissão ou que já estão na época de transmissão antes de iniciarem os preventivos, podendo já estar infectados. Considera-se essencial a administração de preventivos durante todo o ano (AHS, 2012).

Alguns Collies e outros cães com deficiências na glicoproteína-P são sensíveis a uma variedade de fármacos de uso veterinário, estando as lactonas macroclínicas incluídas na lista de toxicidades registadas com *overdoses*. No entanto, demonstrou-se que as doses *standard* profiláticas são seguras em todas as raças.

Em relação a *D. repens*, sabe-se que pode ser prevenida com quimioprofiláticos eficazes e seguros, em cães e gatos. A prevenção de infecções patentes por *D. repens* com lactonas macroclínicas é questionável e, até à data, apenas microsferas de moxidectina de libertação contínua demonstraram eficácia em estudos experimentais (M. Genchi, Pengo & C. Genchi, 2010; Rossi, Ferroglio & Agostini, 2004), devendo ser administrada anualmente nas mesmas doses eficazes para *D. immitis*. Apesar de tudo, a ivermectina e selamectina

também demonstram bons resultados administradas por via oral, mensalmente. (C. Genchi et al., 2007a).

10.1.1 Administração Oral

A ivermectina (por exemplo, Heartgard®) e a milbemicina oxima (por exemplo, Interceptor®) encontram-se disponíveis para administração oral mensalmente. Algumas das formulações destas moléculas têm sabor e são mastigáveis de modo a facilitar a sua administração. As doses são apresentadas nas embalagens, consoante intervalos de peso. De forma a obter o máximo de eficácia, estes produtos devem ser administrados todo o ano, no entanto, se for decidido implementar uma profilaxia sazonal, deve iniciar-se um mês antes do início da transmissão, continuando-se por três meses após o seu final (AHS, 2012).

10.1.2 Administração Tópica

A moxidectina (por exemplo, Advocate®) e a selamectina (por exemplo, Stronghold®) estão disponíveis sob a forma de um líquido aplicado topicamente sobre a pele do animal. A aplicação deve ser reforçada também todos os meses, tal como os produtos orais (AHS, 2012).

10.1.3 Administração Parenteral

Existe uma formulação de microsferas lipídicas impregnadas com moxidectina de libertação lenta (Guardian®), que administrada subcutaneamente confere protecção durante seis meses, podendo ser aplicada em cães com mais de seis meses, desde que já não se encontrem num processo de crescimento marcado. Recomenda-se assim que o tratamento seja iniciado em cães com peso já estável (pois a dose é peso-dependente), a cada seis meses ou anualmente, conforme a epidemiologia da zona, para obter protecção máxima durante a época de transmissão (AHS, 2012; M. Genchi, Pengo & C. Genchi, 2010; Genchi et al., 2007a).

10.2 Falhas na Eficácia

As falhas registadas na eficácia da profilaxia devem-se, essencialmente, a falhas de comunicação entre proprietários e veterinários, à não adesão ao plano profilático por desconhecimento dos proprietários em relação à gravidade da doença e ao seu potencial patogénico, acompanhada de incumprimento do calendário de administrações (Hampshire, 2005).

10.3 Testagem Anual e Retestagem

A realização de testes permite que o veterinário se assegure de que a profilaxia está a ser feita devidamente, garantindo e mantendo assim a segurança do animal.

Em casos de incumprimento dos proprietários ou trocas de marca ou tipo de preventivo, deve determinar-se se o animal está ou não infectado, devendo para isso proceder-se a um teste antigénico antes do início de um novo protocolo ou produto, sete a oito meses após a última possível exposição, de modo a verificar se ocorreu infecção.

Os testes antigénicos devem ser realizados anualmente, incluindo em animais que seguem protocolos de prevenção com lactonas macrocíclicas e que poderão ser amicrofilarémicos (Atkins, 2011; AHS, 2012).

11. Prognóstico

O prognóstico das infecções por *D. immitis* é geralmente bom nos casos em que o animal não se faz acompanhar por sinais clínicos. Quando isto não acontece e a doença mostra quadros clínicos severos, o prognóstico é reservado, embora em muitos casos se consigam abordagens bem-sucedidas. O prognóstico é pior sempre que a apresentação inicial da doença está associada com coagulação intravascular disseminada, síndrome de veia cava, embolização massiva, granulomatose eosinofílica, doença arterial pulmonar severa e insuficiência cardíaca (Atkins, 2005). A função renal é outro dos parâmetros mais importantes a ter em conta na avaliação do prognóstico do animal (Kitagawa, Kitoh, Iwasaki & Sasaki, 1997).

Geralmente, as lesões radiográficas tornam-se mais discretas após três a quatro semanas de terapia adulticida, reduzindo-se a hipertensão pulmonar em poucos meses. As alterações do parênquima pulmonar exacerbam-se durante os primeiros seis meses após o tratamento adulticida, mas começam a melhorar – e geralmente resolvem-se – nos 2 a 3 meses seguintes. A persistência das lesões do parênquima sugere insucesso do adulticida. Sinais de insuficiência cardíaca também devem desaparecer com o auxílio de tratamentos de suporte, restrição de exercício e remoção bem-sucedida das filárias (Bowman & Atkins, 2009).

Mesmo com a eliminação bem sucedida dos parasitas, algumas lesões como a fibrose pulmonar, cardiomegália e as lesões renais e hepáticas poderão ser irreversíveis, acabando por a curto-médio prazo provocar o agravamento do estado clínico e a morte do animal. Poderá estabelecer-se um protocolo terapêutico de suporte, no entanto, há sequelas que permanecem mesmo em animais curados da infecção (Kitagawa et al., 1997).

12. Novas Tendências de Investigação

Tem-se verificado, recentemente, um interesse crescente por parte da comunidade científica em relação à questão da dirofilariose, o que tem levado a grandes avanços no

conhecimento da dita parasitose. As tendências que marcam actualmente a investigação científica englobam a área das ferramentas diagnósticas, da quimioterapia, do estudo da epidemiologia e do estudo da relação parasita/hospedeiro a nível molecular.

Em relação a novos métodos de diagnóstico, foi recentemente desenvolvida uma técnica baseada na amplificação de regiões da citocromo-oxidase 1 (COX1) de fragmentos de ADN mitocondrial do parasita, através de PCR múltiplo. Assim, é possível o diagnóstico diferencial e simultâneo de *D. immitis*, *D. repens*, *Acanthocheilonema reconditum* e *Cercopithifilaria sp.* em cães. Existe outra técnica semelhante que permite distinguir *D. immitis* de *D. repens*, tanto em cães como em mosquitos (Latrofa, Dantas-Torres, Annoscia, Genchi, Traversa & Otranto, 2011).

Outros estudos no âmbito dos biomarcadores, sugerem a possibilidade de utilizar a troponina I e mioglobina como marcadores do dano cardíaco e o uso do dímero-D como marcador de dano vascular (Carretón et al., 2011).

Relativamente a opções de tratamento, foi estudada a relação simbiótica da bactéria *Wolbachia* com as diversas espécies de filárias, encontrando nesta relação um alvo de tratamento, através da incorporação de antibióticos (doxiciclina) como foi referido no ponto relativo ao tratamento. Actualmente, estão a investigar-se os mecanismos que poderiam estar envolvidos na diminuição da produção de microfílaras após a diminuição de *Wolbachia* dos tecidos das filárias, subsequente a um tratamento com antibióticos (Landmann, Voronin, Sullivan & Taylor, 2011). Isto, juntamente com a exploração da possibilidade de aplicar novos antibióticos e a identificação de genes e enzimas importantes para a fisiologia da *Wolbachia*, poderá constituir metas futuras para ensaios terapêuticos (González-Miguel et al., 2012).

Tendo em conta que o clima tem um papel crucial na epidemiologia da dirofilariose, é importante e necessária a aplicação de protocolos de vigilância que consigam detectar as alterações climáticas, antes da implementação de medidas preventivas (González-Miguel et al., 2012). Recentemente, a aplicação de novas tecnologias baseadas num sistema de informação geográfico (GIS – *Geographic Information System*) e em RS (*Remote Sensing*) tem vindo a permitir cartografar a dirofilariose relacionando-a com os factores climáticos, ambientais e antropogénicos, com consequente elaboração de modelos de predição da dinâmica de transmissão da doença. Estudos realizados na Europa com estas técnicas permitiram determinar o número anual de gerações de *D. immitis* e a duração dos períodos de risco de infecção em diversas áreas do continente (figura 51) (González-Miguel et al., 2012; Rinaldi, Musella, Genchi & Cringoli, 2007).

O GIS e o RS podem ainda contribuir para determinar potenciais emergências de novas áreas endémicas, facto que faz destas técnicas absolutamente essenciais para determinar medidas de controlo de parasitas (Simón et al., 2012).

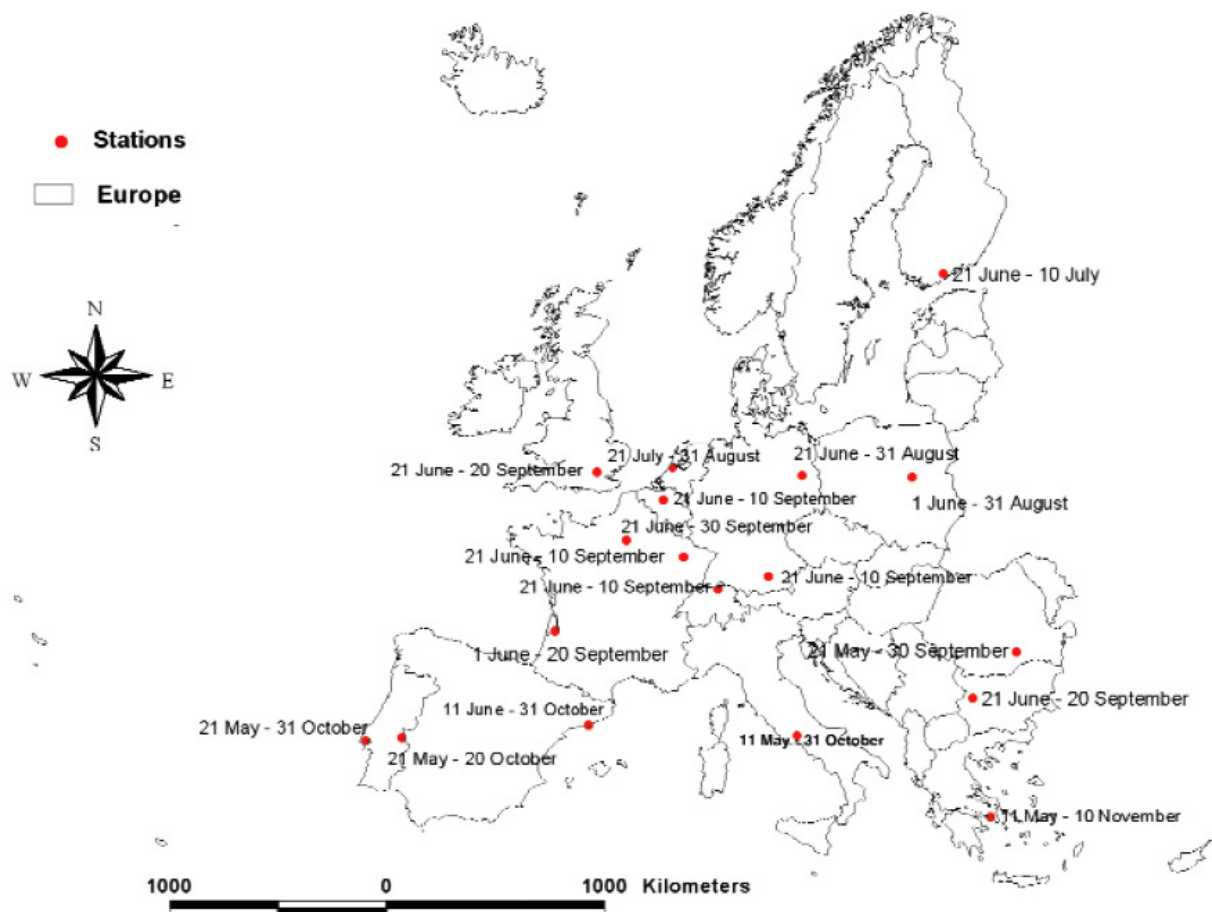


Figura 52 – Modelo preditivo de dirofilariose baseado em GDD (growing degree days), uma medida de acumulação de calor. Início e final do período de transmissão da dirofilariose em algumas localidades da Europa. Fonte: Genchi et al., 2005

O estudo das relações parasita/hospedeiro representa outra área de interesse para a comunidade científica. As técnicas proteômica e imunômica, juntamente com a espectrometria de massas, permitiram identificar pela primeira vez numerosas proteínas de *D. immitis*, relacionando-as com as suas funções e atribuindo-lhes um possível papel nos mecanismos de relação entre parasita e hospedeiro (González-Miguel, Morchón, Siles-Lucas, Oleaga & Simón, 2010). A observação da correlação entre o número e tipo de proteínas reconhecidas por cada hospedeiro e o nível de adaptação dos parasitas e características clínicas da doença foi um feito de grande importância ao sugerir que estas diferenças poderão ter uma base molecular. Um conhecimento profundo do parasita e de como este interage com o seu hospedeiro é de fundamental importância para o desenvolvimento futuro de novas ferramentas de controlo e diagnóstico (González-Miguel et al., 2012).

O conhecimento do genoma, proteoma, bioquímica, metabolismo, muda, patogénese e mecanismos de sobrevivência da *D. immitis* e *D. repens* é ainda limitado, pelo que em estudos futuros estes tópicos poderão conferir informações acerca de novas terapêuticas e alvos de controlo de infecção, para além de explicar as diferenças nas relações entre estes parasitas e os seus hospedeiros (Simón et al., 2012).

A pesquisa e desenvolvimento de vacinas para a dirofilariose não tem progredido desde que os primeiros testes foram executados em larvas (Simón et al., 2009). São necessárias investigações relativamente à complexidade molecular, ao número vasto de isoformas de muitos antígenos e à falta de imunogenicidade de algumas proteínas em infecções naturais. Este conhecimento permitiria aos investigadores efectuar estudos com uma abordagem mais racional às formas de interferir com vários processos chave no ciclo de vida do parasita simultaneamente (Simón et al., 2012).

12.1 Nova Espécie de *Dirofilaria*

Foi detectada uma nova espécie de *Dirofilaria*, em Hong Kong, que afecta canídeos e humanos. Foram registados três casos em humanos que apresentavam linfadenopatia cervical, massas subcutâneas abdominais e nódulos subconjuntivais. As filárias recuperadas das lesões apresentavam características morfológicas e genéticas compatíveis com *Dirofilaria*. Esta mesma espécie foi encontrada em seis cães (mas em nenhum gato) cujo teste antigénico apresentava resultados negativos para *D. immitis*, excepto num caso onde estava presente uma infecção mista, detectada por PCR. O nome proposto para esta espécie é “*Candidatus Dirofilaria hongkongensis*” (To, Wong, Poon, Trendell-Smith, Ngan, Lam, Tang, Ahchong, Kan, Chan & Yuen, 2012).

CAPÍTULO IV - APRESENTAÇÃO ESTATÍSTICA DOS CASOS DE DIROFILARIOSE

1. Caracterização da Zona

Portugal Continental tem um clima temperado subtropical, com verões secos, englobando dois subtipos de clima (figura 52):

a) ameno com verões quentes e secos (Csa) – vale do Douro e regiões a sul do sistema montanhoso Montejunto-Estrela (excepto litoral oeste do Alentejo e Algarve).

b) ameno com verões secos e suaves (Csb) – quase em todas as regiões a Norte do sistema montanhoso Montejunto-Estrela e nas regiões do litoral oeste do Alentejo e Algarve.

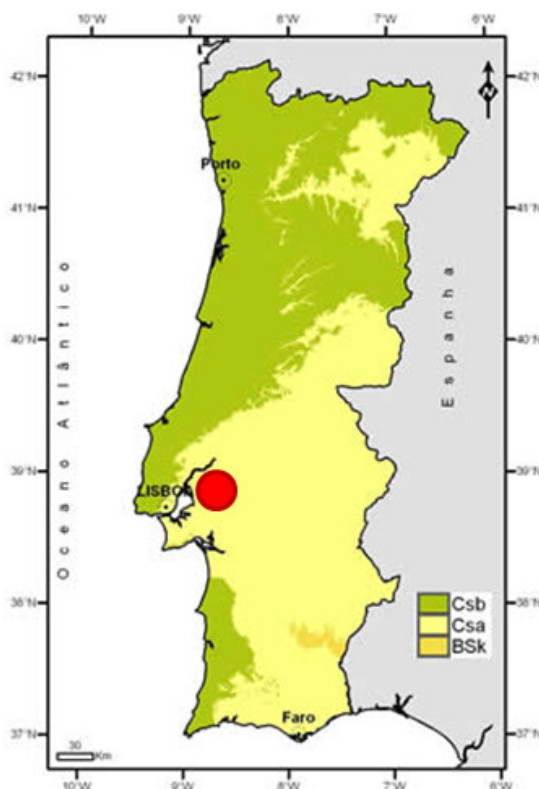


Figura 53 - Classificação climática de Köppen-Geiger de Portugal Continental. A vermelho está representada a zona do concelho de Benavente, de onde têm origem quase todos os pacientes positivos. Csa - clima temperado com Verão quente e seco; Csb - clima temperado com Verão seco e suave; BSk – clima de estepe fria da latitude média. Fonte: adaptado de Instituto de Meteorologia (www.meteo.pt)

O território do concelho de Benavente em geral situa-se no domínio ecológico sub-mediterrânico numa zona de mosaico de montado e campina, e de terrenos alúvio-mediterrânicos de natureza hidromórfica, com características naturais de paus e sapais, em parte empregues na orizicultura ou noutras culturas de regadio mediterrânico. É uma zona rica em montados de quercíneas e em pinhais mansos, estando ainda repleto de campos e searas. Os vales aluvionares ligados aos rios Tejo, Sorraia e Almansor e as zonas ribeirinhas, juntamente com todas as áreas encharcadas, constituem zonas de grande

diversidade biológica. Esta zona é marcada pela presença de biótopos húmidos, terrenos pantanosos e extensas áreas de arrozal e outras áreas de elevado valor ornitológico e entomológico (figura 53).



Figura 54 – Paisagens do concelho de Benavente. A – Rio Almansor, Samora Correia. Fonte: Câmara Municipal de Benavente, 2012; B – Arrozais na várzea de Santo Estêvão; C – Zonas pantanosas. Fonte: fotos gentilmente cedidas por Ana e António Oliveira.

2. Diagnósticos Efectuados

A época das prevenções da dirofilariose (Guardian®), que acarreta a realização de testes antigénicos antes do início de um novo protocolo de prevenção, inicia-se, geralmente no mês de Março. Para além deste período, fazem-se testes antigénicos sempre que existe uma suspeita, em animais que não seguem um plano profiláctico correctamente ou que estão prestes a iniciar um (gráfico 22).

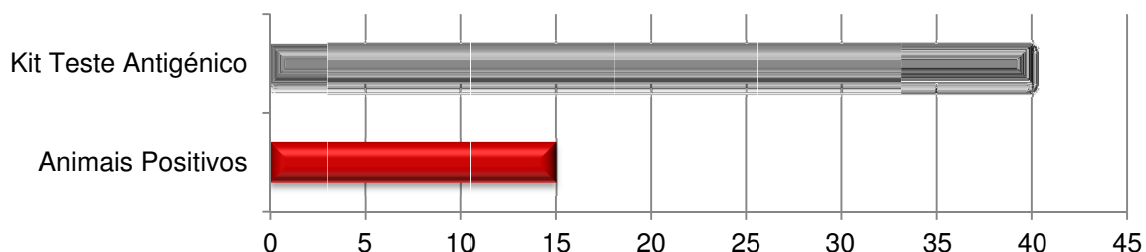


Gráfico 22 – Número de testes antigénicos realizados e número de animais positivos, no período de estágio.

Para além dos testes antigénicos, fizeram-se observações ao microscópio de gotas frescas de sangue, verificando-se microfilarémia em sete dos quinze animais (figura 54).



Figura 55 – Microfilária observada em exame de gota fresca (objectiva: 10x)

3. Caracterização da População – Animais Positivos

Dos 40 animais testados, 15 eram positivos e cerca de um terço nunca tinha feito prevenção da dirofilariose, sendo que os restantes tinham iniciado um plano profilático onde, durante as consultas, se detectaram falhas por parte dos proprietários no cumprimento do calendário de prevenções.

A maior parte dos animais positivos tinha entre os 2 e os 7 anos, havendo também um maior número de casos na categoria dos 10 anos (gráfico 23). Dos 15 animais positivos, 9 deles eram machos e 6 eram fêmeas (gráfico 24).

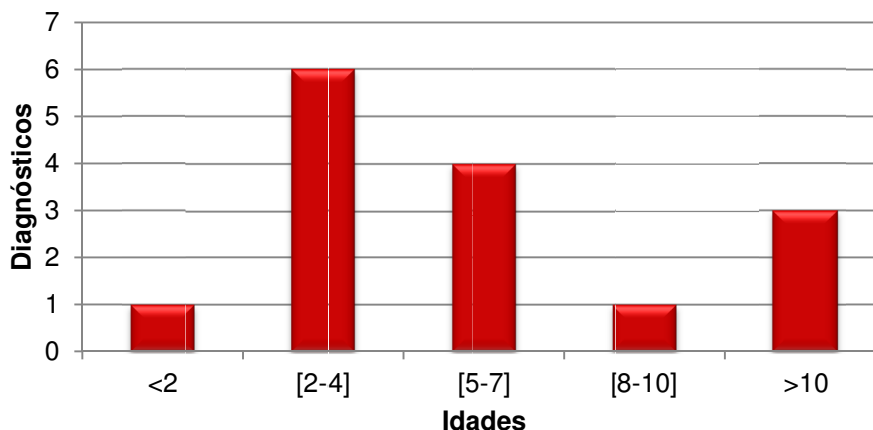


Gráfico 23 – Relação entre as idades e o número de diagnósticos positivos.

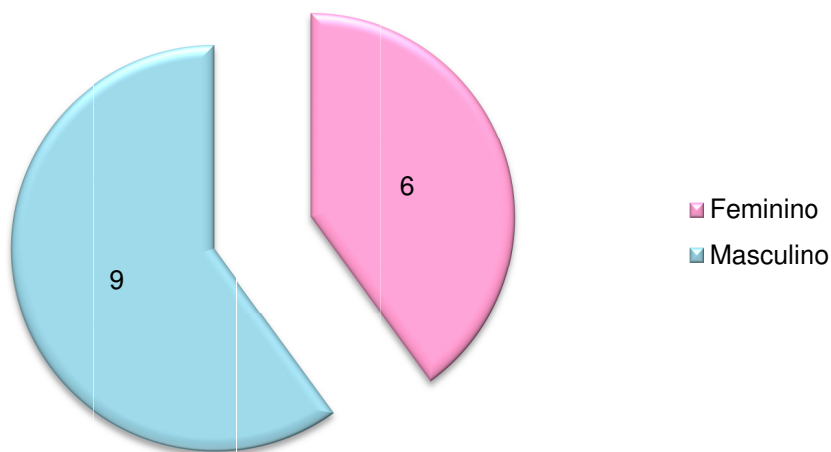


Gráfico 24 – Distribuição dos casos positivos em animais do sexo feminino e masculino.

Outras características destes quinze animais positivos incluem:

- **Pelagem:**
 - Curta: 9
 - Média: 2
 - Comprida: 4

- **Acesso ao exterior:**
 - Permanente: 4
 - Controlado: 11
- **Aptidão:**
 - Caça: 1
 - Guarda: 3
 - Companhia: 11
- **Zona de Residência**
 - Ribatejo: 13
 - Lisboa: 2
- **Profilaxia:**
 - Ausente ou com falhas: 15

4. Motivos de Consulta

Os motivos de consulta que conduziram aos 15 diagnósticos de dirofilariose incluíram, para além dos casos em que se efectuou o teste por “rotina”, pelos motivos já contemplados acima, animais com tosse, intolerância ao exercício, perda de condição corporal, anorexia, prostração, distensão abdominal, mau estado do pelo e nódulo subcutâneo (gráfico 25).

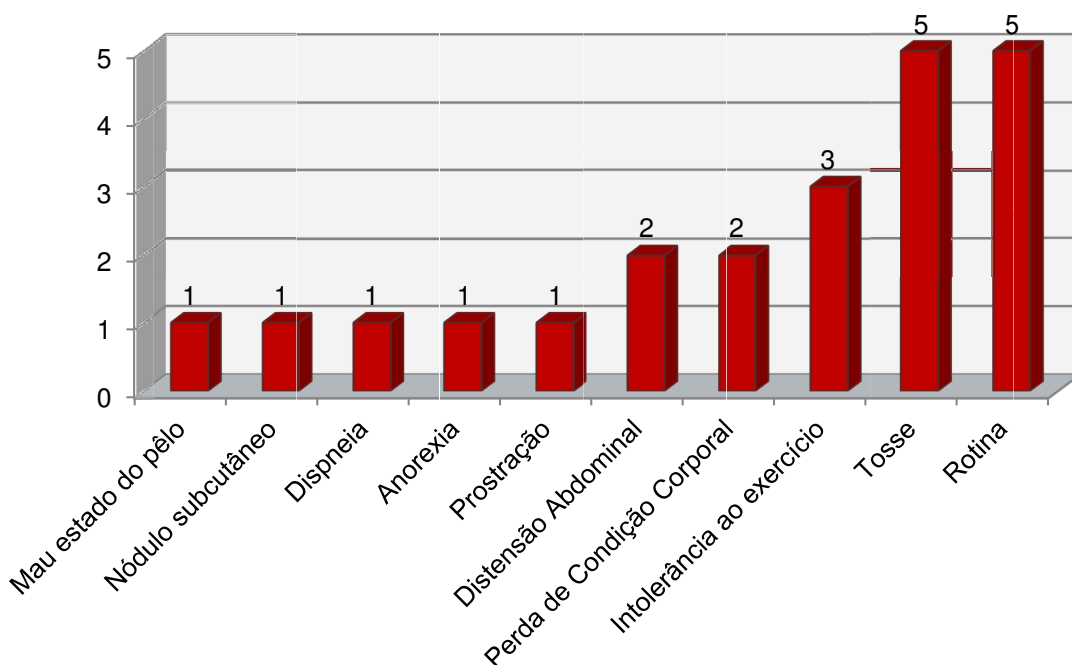


Gráfico 25 – Motivos de consulta que conduziram à realização dos testes antigénicos com resultados positivos.

O principal sintoma que levava os animais à consulta era a tosse, seguido da intolerância ao exercício, perda de condição corporal e distensão abdominal. De referir que

o número de sintomas/motivos descrito não corresponde exactamente ao número de diagnósticos porque no mesmo animal por vezes registou-se mais do que um sintoma. Nalguns casos, os sintomas estavam associados a outras condições patológicas concomitantes, como foi o caso de um animal com dirofilariose e leishmaniose. O animal com nódulo subcutâneo (microfilária subcutânea detectada) apresentava microfilarémia e era positivo para *D. immitis* no teste antigénico. Embora não tenha sido feita a identificação laboratorial da microfilária, as hipóteses incluem: *D. repens*, *Dipetalonema reconditum* e *D. immitis* (localização errática), podendo por isso tratar-se de uma infecção mista ou não.

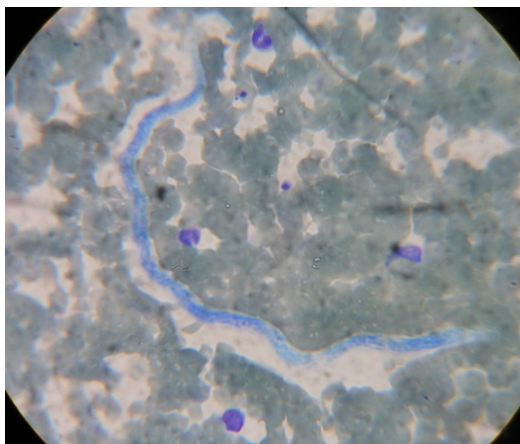


Figura 56 – Microfilária detectada em nódulo subcutâneo (corado com DiffQuick®; objectiva - 1000x).

5. Terapêutica

Após o exame clínico e determinação do risco em cada um dos animais diagnosticados com dirofilariose, foi instituído um plano terapêutico adequado em 13 deles, sendo que dois apresentavam sinais tão severos (síndrome de veia cava) que seria impossível tolerarem o tratamento adulticida. Optou-se sempre pelo tratamento em três fases, sendo a primeira fase a administração de doxiciclina, tendo como alvo terapêutico a *Wolbachia*, iniciando-se posteriormente uma segunda fase de administração mensal de lactona macrocíclica e, por fim, uma terceira fase – a mais crítica e com maior probabilidade de ocorrência de complicações ou reacções adversas – consistindo na administração de um adulticida (melarsomina). A opção pelo esquema de duas ou três doses de adulticida baseou-se sempre no estado clínico do paciente, na carga parasitária e algumas vezes teve em conta, inevitavelmente, as possibilidades económicas e disponibilidade dos proprietários. Como prevenção de reacções anafilácticas, era feita a administração de um anti-inflamatório esteróide sempre que a fase de tratamento o requeria, como é o caso do momento da administração do adulticida, com a consequente morte massiva de parasitas adultos. Após a administração do adulticida, nos casos mais críticos, os animais eram mantidos em observações de modo a ser possível controlar atempadamente possíveis reacções adversas, caso estas ocorressem.

6. Complicações

Segundo a classificação actualmente utilizada e descrita no capítulo III, cinco dos quinze animais eram de alto risco e os restantes dez de baixo risco.

Apenas um dos animais apresentou sintomas de tromboembolismo posterior à administração de aduvida, tendo sobrevivido sem outras complicações. Dois animais evoluíram para síndrome de veia cava, tendo ambos acabado por morrer. Um dos animais de alto risco morreu devido a doença concomitante. Dos restantes animais em tratamento, todos recuperaram bem sem complicações associadas.

7. Discussão

Nos casos descritos, embora a amostragem seja reduzida para poder alcançar conclusões precisas, pode-se dizer que aquilo que foi observado vai de encontro com o que é descrito nos estudos consultados e referidos na monografia.

É necessário ter em conta que, embora o teste antigénico seja o *gold standard* para o diagnóstico da dirofilariose, existe a possibilidade de ocorrência de falsos negativos em casos específicos de infecções com machos apenas, fêmeas imaturas ou quando a quantidade de antígenos é indetectável. Ainda assim, neste caso, dentro do grupo de 25 animais testados com resultados negativos nenhum dos suspeitos obteve um resultado positivo aquando da repetição do teste antigénico, meses depois.

Verificou-se uma maior prevalência de infecções por dirofilariose em animais do sexo masculino tal como descrito no capítulo III. Tal facto pode dever-se, como já foi dito, à exposição aos vectores a que estes são sujeitos, dada preferência dos machos como cães de guarda. Para além disso, é comum na zona em questão ser permitido o acesso à rua com frequência, para além de também ser uma zona com muitas quintas, onde os animais andam quase sempre no exterior estando, por isso, mais expostos à infecção pelos mosquitos.

As idades registadas concentram-se entre os 2 aos 7 anos, o que poderá relacionar-se com o facto de o tempo de exposição ser longo o suficiente para aumentar as probabilidades de infecção.

A maior parte dos animais infectados tinham pêlo curto, o que vai de encontro com a teoria de que os mosquitos procuram sempre zonas mais fáceis de penetrar, o que não acontece em pelagens compridas.

Embora a maior parte dos animais infectados seja de companhia, podendo pensar-se que estes passam mais tempo em casa e estão, por isso, menos expostos, há que ter em conta o que foi referido acima em relação à abundância de quintas na zona, onde os animais andam livremente na rua, passando pouco tempo em casa. A crença de que um animal que está sempre em casa não pode ser infectado é comum entre os proprietários,

que descuram na prevenção pensando ter o seu animal a salvo. Isto é falso dado que é necessária apenas uma picada para infectar o animal e, para além disso, muitas vezes as áreas urbanas criam microambientes altamente favoráveis para os mosquitos, atraindo-os.

Todos os animais infectados, excepto 2, residiam no concelho de Benavente ou nos arredores, onde os extensos arrozais, pântanos, vales, ribeiras e áreas de regadio tornam o ambiente propício ao desenvolvimento dos vectores da *Dirofilaria*.

De referir que pelo menos dois dos proprietários dos animais infectados, já tinham tido animais que não sobreviveram à dirofilariose. No geral, os proprietários seguiam o protocolo terapêutico, aparecendo nas consultas nas datas agendadas e cumprindo as indicações dadas. Infelizmente, não se verificou igual adesão com os planos profilácticos, onde os esquecimentos por parte dos proprietários eram muitos, tendo havido também alguns casos onde houve incompreensão dos protocolos ou desvalorização da importância da prevenção.

As falhas no cumprimento dos planos profilácticos definidos foram, sem dúvida, as principais causas que, juntamente com o clima e biótopos altamente favoráveis da região, fazem com que a região tenha um registo extremamente alto de animais com dirofilariose.

Capítulo V - CONCLUSÃO

O estágio na clínica veterinária Vetsam foi uma experiência enriquecedora e bem sucedida, tendo superado as expectativas no que diz respeito à casuística e à aquisição e consolidação de conhecimentos e competências. Foi uma passagem essencial no percurso da formação da estagiária enquanto futura médica veterinária, sentindo-se esta mais e melhor preparada para enfrentar o mundo real daqui em diante.

A dirofilariose possui vários pontos de interesse essenciais: o facto de estarem presentes duas espécies diferentes de *Dirofilaria* que infectam, essencialmente, três hospedeiros – os cães, os gatos e os humanos – para além dos reservatórios silvestres, que complicam bastante a epidemiologia da doença; a existência de uma bactéria simbiótica (*Wolbachia*) cujo estudo conduziu a novos conhecimentos acerca da biologia das dirofilárias e dos seus mecanismos e proporcionou novas formas de tratamento; a distribuição por todo o mundo e a sua modificação motivada pelas alterações climáticas globais que afectaram a transmissão pelos vectores. Apesar de este ser um tema com crescente interesse por parte da comunidade científica, ainda se encontram muitos aspectos por estudar melhor. Não se sabe ainda o suficiente acerca do genoma, proteoma, bioquímica, metabolismo, patogénese ou mecanismos de sobrevivência da *Dirofilaria*, sendo necessários mais estudos sobre estas questões, podendo as respostas às mesmas proporcionar novos protocolos de controlo e tratamento. Para além de tudo isso, desde que foram feitos os primeiros testes com larvas irradiadas nunca mais surgiram avanços significativos no desenvolvimento de vacinas.

Os casos de dirofilariose registados e analisados durante o estágio corresponderam ao esperado, seguindo estes os padrões normais já verificados antes noutros estudos. Obviamente que, pela amostragem não ser suficientemente representativa, não foi possível retirar conclusões fiáveis ou definitivas. No entanto, pôde observar-se que os animais positivos em questão eram maioritariamente machos, adultos, de pêlo curto, residentes em zonas com ambiente favorável aos vectores e com um estilo de vida essencialmente passado no exterior, indo tudo isto de encontro ao que se encontra descrito na bibliografia consultada, no que diz respeito a prevalências e factores de risco.

Tornou-se bastante clara, durante o estágio, a importância de alertar e informar o melhor possível os proprietários, visto que muitos continuam a descurar os actos profilácticos, acreditando em mitos como “se o animal permanecer em casa, não poderá ficar infectado”. Deve-se, por isso, recorrer a todos os meios para tornar claros quais os factores de risco, assim como informar acerca das consequências da dirofilariose e dos benefícios de seguir um plano profiláctico correctamente, sem esquecimentos.

BIBLIOGRAFIA

American Heartworm Society – AHS (2009). An Early and Interesting History of Heartworm in Dogs. Acedido a 15/07/2012, pelas 19h05, em http://www.heartwormsociety.org/enewsletter/june2009/enewsletter_p=4.html

American Heartworm Society – AHS (2011). Guidance for Heartworm Disease Management During the Adulticide Unavailability. Acedido a 02/08/2012, pelas 16h50, em <http://www.heartwormsociety.org/UrgentAlert-8-9-11.pdf>

American Heartworm Society – AHS (2012). Current Canine Guidelines for the Diagnosis, Prevention and Management of Heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in Dogs. Acedido a 10/07/2012, pelas 21h20, em <http://www.heartwormsociety.org/veterinary-resources/canine-guidelines.html>

Anderson, R.C. (2000). *Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission* (2ª ed.). Wallingford, Oxon UK, CABI Publishing, p. 650.

Araújo, A.M. (1996). Canine and human *Dirofilaria immitis* infections in Portugal. A review. *Parassitologia*; 38, 366.

Atkins, C. (2005). Canine Heartworm Disease. In E. J. Stephen, & E. C. Feldman (Ed), *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (Vol. 2, pp. 1118-1136). Philadelphia, Elsevier.

Atkins, C. (2010) Heartworm Disease. In: E. J. Stephen; E. C. Feldman, Eds. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 7th Ed. St Louis, Missouri, Saunders Elsevier Inc. pp. 1353-1380.

Atkins, C. (2011). Heartworm Disease in Dogs: An Update. *16th Annual North Carolina Veterinary Conference Proceedings*: NC Veterinary Medical Association.

Balreira, A.C., Silvestre-Ferreira, A.C., Fontes-Sousa, A.P., Vieira, L., Carretón, E. & Montoya-Alonso, J.A. (2011). Epidemiological survey of *Dirofilaria immitis* infection in dogs on the North and North Centre of Portugal – Preliminary results. In: *Libro de ponencias e*

comunicaciones, *International Workshop of Dirofilariosis*, Las Palmas de Gran Canaria, 18-19 Noviembre. pp. 40-41.

Bandi, C., Trees, A.J. & Brattig, N.W. (2001). *Wolbachia* in filarial nematodes: evolutionary aspects and implications for the pathogenesis and treatment of filarial diseases. *Vet Parasitol.* 98 (1-3), 215-38.

Biskin, Z., Düzlü, O., Yildirim, A. & Inci, A. (2010). The molecular diagnosis of *Dirofilaria immitis* in vector mosquitoes in Felahiye district of Kayseri. *Turkiye Parazitol Derg* 34, 200–205.

Bowman, D.D. & Atkins, C.E. (2009). Heartworm Biology, Treatment and Control. *Vet Clin Small Anim.* 39 (6), 1127–1158

Bradley, R.E. (1976). Levamisole resinate as a *Dirofilaria immitis* microfilaricide in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 169 (3), 311-6.

Cancrini G., Kramer L. (2001). Insect vectors of *Dirofilaria spp.*. In: Simón F., Genchi C. (Eds.), *Heartworm Infection in Humans and Animals*. Salamanca: Ediciones Universidad de Salamanca, 63–82.

Cancrini, G. & Gabrielli, S. (2007). Vectors of *Dirofilaria* nematodes: biology, behaviour and host/parasite relationships. In: Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G. (Eds.), *Mappe Parassitologiche* 8. Rolando Editore Naples.

Cancrini, G., Magi, M., Gabrielli, S., Arispici, M., Tolari, F., Dell'Omodarme, M., Prati, M. C. (2006). Natural vectors of dirofilariasis in rural and urban areas of the Tuscan region, central Italy. *J. Med. Entomol.* 43, 574–579.

Canestri, T. G., Pampiglione, S. & Rivasi, F. (1997). The species of the genus *Dirofilaria*, Railliet & Henry, 1911. *Parassitologia*, Italy. 39 (4), 369-74.

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. *Vet Parasitol.* 176 (4), 313-6.

Castillo, J.C., Reynolds, S.E. & Eleftherianos, I. (2011). Insect immune responses to nematode parasites. *Trends in Parasitology*, 27 (12), 537-547.

Chalifoux, L. & Hunt, R. (1971). Histochemical Differentiation of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum*. *J.A.V.M.A.*, 158(5).

Chopra, R., Bhatti, S.M., Mohan, S. & Taneja, N. (2012). *Dirofilaria* in the anterior chamber: a rare occurrence. *Middle East Afr J Ophthalmol.* 19 (3), 349-51.

Corrales, G.M. (2011a). Clínica de la *Dirofilariosis* canina. In: *Libro de ponencias e comunicaciones, International Workshop of Dirofilariosis*, Las Palmas de Gran Canaria, 18-19 Noviembre. pp. 51-53.

Corrales, G.M. (2011b). Diagnóstico de la *Dirofilariosis* canina. In: *Libro de ponencias e comunicaciones, International Workshop of Dirofilariosis*, Las Palmas de Gran Canaria, 18-19 Noviembre. pp. 57-59.

DeVries, P. (2006). *Culex pipiens* Linnaeus 1758. Acedido a 17/08/2012, pelas 13h30, em <http://lod.geospecies.org/ses/pZDDU.html>

Di Sacco, B., Cancrini, G., Genchi, C. (1992). Studio del tropismo nei riguardi del cane e del gatto da parte dei ditteri potenziali vettori delle filariosi in provincia di Pavia. *Parassitologia* 34, 11-12.

Dillon, R., Brawner, W.R., Hanrahan, L. (1995). Influence of number of parasites and exercise on the severity of heartworm disease in dogs. In: Soll MD and Knight DH Eds. *Proceedings of the '95 Heartworm Symposium*, American Heartworm Society, Batavia, IL, 113-120 pp.

Ferasin, L & Knight, D. (2005). Filarial infections. In: Shaw, S.E. & Day, M. J. *Arthropod borne Infectious Diseases of the Dog and Cat*, London, Manson Publishing Ltd

Frank, K. & Heald, R.D. (2010). The Emerging Role of *Wolbachia* Species in Heartworm Disease. CE Article. *Compend Contin Educ Vet.* 32 (4), E1-5.

Gazyagci, S., Dogru, M.T. & Yagei, B.B. (2011). Cardiac Troponin I Levels in Dogs with *Dirofilariosis* and without *Dirofilariosis*. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 6 (7), 738-743.

Genchi, C. (2011). Epidemiology of canine and feline dirofilariosis in Europe. In: *Libro de ponencias e comunicaciones, International Workshop of Dirofilariosis*, Las Palmas de Gran Canaria, 18-19 Noviembre. pp. 21-22

Genchi, C., Guerrero, J., McCall, J.W. & Venco, L. (2007a). Epidemiology and prevention of *Dirofilaria* infections in dogs and cats. In: Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G. (Eds.), *Mappe Parassitologiche 8*. Rolando Editore Naples.

Genchi, C., Rinaldi, L., Cascone, C., Mortarino, M. & Cringoli, G. (2005). Is heartworm disease really spreading in Europe? *Vet Parasitol.* 133 (2-3), 137-148.

Genchi, C., Rinaldi, L., Mortarino, M., Genchi, M. & Cringoli, G. (2009). Climate and *Dirofilaria* infection in Europe. *Vet Parasitol.* 163 (4), 286-292.

Genchi, C., Venco L. & Genchi, M. (2007b). Guideline for the laboratory diagnosis of canine and feline *Dirofilaria* infections. In: Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G. (Eds.), *Mappe Parassitologiche 8*. Rolando Editore Naples.

Genchi, M., Pengo, G., Genchi, C. (2010). Efficacy of moxidectin microsphere sustained release formulation for the prevention of subcutaneous filarial (*Dirofilaria repens*) infection in dogs. *Vet Parasitol*, 170, 167–169.

González-Miguel, J., Morchón, R., Siles-Lucas, M., Oleaga, A. & Simón, F. (2010). Identification of *Dirofilaria immitis* immunoreactive proteins recognized by sera from infected cats using two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry. *Mol Biochem Parasitol*, 174, 78-82.

Grandi, G., Zivicnjak, T. & Beck, R. (2007). Pathogenesis of *Dirofilaria spp.* Infections. In: Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G. (Eds.), *Mappe Parassitologiche 8*. Rolando Editore Naples.

Guerrero, J. (2005). Heartworm Pathophysiology in Dogs and Cats. *Proceedings of the 30th World Congress of the World Small Animal Veterinary Association*. Mexico City - Mexico, May 11-14. Acedido a 12/07/2012, pelas 17h00, em <http://www.vin.com/proceedings/Proceedings.plx?CID=WSAVA2005&PID=10906&O=Generi>
[c](#)

- Hampshire, V.A. (2005). Evaluation of efficacy of heartworm preventive products at the FDA. *Vet Parasitol*, 133, 191-195.
- Harada, R., Maeda, T., Nakashima, A., Sadakata, Y., Ando, M., Yonamine, K., Otsuji, Y. & Sato, H. (1970). Electron-microscopical study on the mechanism of oogenesis in *Dirofilaria immitis*. In: Sasa, M. (ed), *Recent advances in researches of filariasis and schistosomiasis in Japan*. Baltimore University Press, Baltimore, MD. 99-121
- Hayasaki, M. & Saeki, H. (2009). Inhibition and Prevention Efficacy against Mosquito Bloodsucking and *Dirofilaria immitis* infection by Administration of Topical Insecticide. *J Vet Med Sci*, 71 (8), 1049-1052.
- Hoerauf, A. & Rao, R.U. (2007). *Wolbachia: A Bug's Life in Another Bug*. Issues in Infectious Diseases. Karger, Basel. Vol. 5.
- Jackson, R.F. (1969). The vena cavae or liver failure syndrome of heartworm disease. *J Am Vet Med Assoc*. 194, 384.
- Kitagawa H, Kito K, Iwasaki T, Sasaki Y (1997). Comparison of laboratory data in dogs with heartworm caval syndrome surviving and nonsurviving after surgical treatment. *J Vet Med Sci*;59:609-611.
- Kittleson, M.D., Kienle, R.D. (1998). *Small Animal Cardiovascular Medicine*. St. Louis, Mosby Inc.
- Kotani, T., Powers, K.G. (1982). Developmental stages of *Dirofilaria immitis* in the dog. *Am J Vet Res*. 43 (12), 2199–206.
- Kozek, W., Supakorndej, P. & Landmann, F. (2012). *Wolbachia* in the larval stages of *Dirofilaria immitis*. 7th International *Wolbachia* conference. St. Pierre d'Oléron, 7-12 June, Atlantique, Poitiers.
- Kozek, W.J., Gonzalez Jr., J.A. & Amigo, L.A. (2007). *Wolbachia* of *Dirofilaria immitis*: an historical perspective and morphological characteristics. In: Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G. (Eds.), *Mappe Parassitologiche 8*. Rolando Editore Naples.

Kramer, L. (2011). Non-cardiopulmonary pathology of canine and feline *Dirofilaria* disease. In: *Libro de ponencias e comunicaciones, International Workshop of Dirofilariosis*, Las Palmas de Gran Canaria, 18-19 Noviembre. pp. 54-55.

Kramer, L., Grandi, G., Leoni, M., Passeri, B., McCall, J., Genchi, C., Mortarino, M., Bazzocchi, C. (2008). *Wolbachia* and its influence on the pathology and immunology of *Dirofilaria immitis* infection. *Vet Parasitol.* 158 (3), 191-5.

Kramer, L., Grandi, G., Leoni, M., Passeri, B., McCall, J., Genchi, C., Mortarino, M. & Bazzocchi, C. (2008). *Wolbachia* and its influence on the pathology and immunology of *Dirofilaria immitis* infection. *Vet Parasitol*, 158 (3), 191-5.

Kramer, L., Simón, F., Tamarozzi, F., Genchi, M., Bazzocchi, C. (2005). Is *Wolbachia* complicating the pathological effects of *Dirofilaria immitis* infections? *Vet Parasitol*, 133, 133–136.

Kramer, L.H. (2006). How *Wolbachia* / *Dirofilaria immitis* interact? *Proceedings of the North American Veterinary Conference – Small Animal Edition. Parasitology*. Florida, NACV. 7-11 January. Vol. 20.

Kramer, L.H. (2006). The role of *Wolbachia* in the inflammatory and immune response in *D. immitis* infected animals. *Proceedings of the North American Veterinary Conference – Small Animal Edition. Parasitology*. Florida, NACV. 7-11 January. Vol. 20.

Kramer, L.H. (2007). Immunopathogenesis of filarial infections in dogs and cats: a role for *Wolbachia* endosymbiont? In: Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G. (Eds.), *Mappe Parassitologiche 8*. Rolando Editore Naples.

Landmann, F., Voronin, D., Sullivan, W. & Taylor, M.J. (2011). Anti-filarial activity of antibiotic therapy is due to extensive apoptosis after *Wolbachia* depletion from filarial nematodes. *PLoS Pathog*, November Issue.

Latrofa, M.S., Dantas-Torres, F., Annoscia, G., Genchi, M., Traversa, D. & Otranto, D. (2011). A duplex real-time polymerase chain reaction assay for the detection of and differentiation between *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in dogs and mosquitoes. *Vet Parasitol*, 185 (2-4), 181-5.

Lee, S.G., Moon, H.S, Hyun, C. (2008). Percutaneous heartworm removal from dogs with severe heart worm (*Dirofilaria immitis*) infestation. *J Vet Sci*, 9 (2), 197-202.

- Lichtenfelds, J.R., Pilitt, P.A., Kotani, T. & Powers, K.G. (1985). Morphogenesis of developmental stages of *Dirofilaria immitis* (Nematoda) in the dog. *Proc Helminthol Soc, Washington* 52, 98-113.
- Lo, N., Paraskevopoulos, C., Bourtzis, K., O'Neill, S.L., Werren, J.H., Bordenstein, S.R. & Bandi, C. (2007). Taxonomic status of the intracellular bacterium *Wolbachia pipientis*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57, 654-657.
- Manfredi, M.T., Cerbo, A.d., Genchi, M. (2007) Biology of filarial worms parasitizing dogs and cats. In: Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G. (Eds.), *Mappe Parassitologiche 8*. Rolando Editore, Naples.
- Mattingly, P. F. (1969). *The Biology of Mosquito-Borne Disease*. Carthy and Sutcliffe, London.
- McCall, J.W., Genchi, C., Kramer, L., Guerrero, J., Dzimianskia, M.T., Supakorndej, P., Mansoure, A.M., McCall, S.D., Supakorndej, N., Grandi, G. & Carsone, B. (2008). Heartworm and *Wolbachia*: Therapeutic implications. *Vet Parasitol*, 158 (3), 204-14.
- McCall, J.W., Genchi, C., Kramer, L.H., Guerrero, J. & Venco, L. (2008). Heartworm disease in animals and humans. *Adv Parasitol*. 66, 193–285.
- McLaren, D.J., Worms, M.J., Laurence, B.R. & Simpson, M.G. (1975). Microorganisms in filarial larvae (Nematoda). *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 69 (5-6), 509 –514.
- Miller, M.W. (2007). Canine and Feline Heartworm Disease: Clinical Essentials. Acedido a 24/07/2012, pelas 23h40, em <http://www.dcavm.org/07apr.html>
- Mircean, V., Dumitrache, M.O., Györke, A., Pantchev, N., Jodies, R., Mihalca, A.D. & Cozma, V. (2012). Seroprevalence and geographic distribution of *Dirofilaria immitis* and tick-borne infections (*Anaplasma phagocytophilum*, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, and *Ehrlichia canis*) in dogs from Romania. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 12 (7) – 595-604.
- 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). *Vet Parasitol*. 75 (2-3), 221-6.

Montoya, J.A., Morales, M., Juste, M.C. & Corbera, J.A. (2007). Heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs: current update in Spain. In: Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G. (Eds.), *Mappe Parassitologiche 8*. Rolando Editore Naples.

Montoya-Alonso, J. A., Carretón, E., Corbera, J.A., Juste, M. C., Mellado, I., Morchón, R., and Simón, F. (2011). Current prevalence of *Dirofilaria immitis* in dogs, cats and humans from the island of Gran Canaria, Spain. *Vet. Parasitol.* 176, 291–294.

Montoya-Alonso, J.A., Mellado, I., Carretón, E., Cabrera-Pedrero, E.D., Morchón, R. & Simón, F. (2010a). Canine dirofilariosis caused by *Dirofilaria immitis* is a risk factor for the human population on the island of Gran Canaria, Canary Islands, Spain. *Parasitol Res.* 107 (5), 1265-9.

Montoya-Alonso, J.A., Mellado, I., Carretón, E., Cabrera-Pedrero, E.D., Morchón, R. & Simón, F. (2010b). Canine dirofilariosis caused by *Dirofilaria immitis* is a risk factor for the human population on the island of Gran Canaria, Canary Islands, Spain. *Parasitol Res*, 107(5), 1265-9.

Montoya-Alonso, J.A., Carretón, E., Juste, M.C., Mellado, I., Morchón, R. & Simón, F. (2010a). Epidemiological survey of canine heartworm disease on the island of Gran Canaria (Canary Islands–Spain) between 2000 and 2008. *Vet. Parasitol.* 173, 165–168.

Morchón, R., Bargues, M. D., Latorre, J. M., Melero-Alcíbar, R., Pou-Barreto, C., Mas-Coma S. & Simón F. (2007). Haplotype H1 of *Culex pipiens* implicated as a natural vector of *Dirofilaria immitis* in an endemic area of Western Spain. *Vector Borne Zoonot. Dis.* 7, 653–658.

Morchón, R., Bargues, M. D., Latorre, J. M., Pou-Barreto, C., Melero-Alcíbar, R., Moreno, M., Valladares, B., Molina, R., Montoya-Alonso, J. A., Mas-Coma, S. & Simón, F. (2011a). Molecular characterization of *Culex theileri* from Canary Islands, Spain, a potential vector of *Dirofilaria immitis*. *J Clin Experiment Pathol.* S3:001.

Morchón, R., Carretón, E., González-Miguel, J. & Mellado-Hernández, I. (2012). Heartworm Disease (*Dirofilaria immitis*) and Their Vectors in Europe – New Distribution Trends. *Front Physiol.* 3, 196.

Morchón, R., Ferreira, A.C., Martín-Pacho, J.R., Montoya, A., Mortarino, M., Genchi, C. & Simón, F. Specific IgG antibody response against antigens of *Dirofilaria immitis* and its

Wolbachia endosymbiont bacterium in cats with natural and experimental infections. *Vet Parasitol.* 125 (3-4), 313-21.

Oh, H.W., Jun, H.K., You, M.J., Hayasaki, M. & Song, K.H. (2008). Ectopic Migration of an Adult Heartworm in a Dog with Dirofilariasis. *Korean J Parasitol.* 46 (3), 171–173.

Pampiglione, S. & Rivasi, F. (2007). Human dirofilariasis due to *Dirofilaria (Nochtiella) repens*: an update of world literature from 1995 to 2000. In: Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G. (Eds.), *Mappe Parassitologiche 8*. Rolando Editore Naples.

Pampiglione, S., Rivasi, F. (2000). Human dirofilariasis due to *Dirofilaria (Nochtiella) repens*: an update of world literature from 1995 to 2000. *Parassitologia.* 42, 235–242.

Pfarr, K., Foster, J. and Slatko, B. (2007). It Takes Two: Lessons From the First Nematode *Wolbachia* Genome Sequence. In: Hoerauf, A. & Rao, R. *Wolbachia, A Bug's Life in Another Bug*. Issues in Infectious Disease. Karger, Basel. 5, 52-65

Pingen, C.H., Lorentz, S., Magnis, J., Menn, B., Schaper, R. & Naucke, T.J. (2009). Successful treatment of *Dirofilaria repens* infections in dogs with melarsomine (Immiticide®, Merial) against adults and a combination of moxidectin 2,5%/imidacloprid 10% (Advocate®, Bayer) against microfilaria. *World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology*, Calgary, Canada.

Pollono, F., Cancrini, G., Rossi, L. (1998). Indagine sui culicidi attratti da esca canina in Piemonte. *Parassitologia.* 40, 439-445.

Reinhardt, M.C. (1980). Parasitic Infections in Pregnancy: Filariasis. In: *Ciba Foundation Symposium – Perinatal Infections*.

Rinaldi, L. & Cringoli, G. (2008). Disease mapping in Veterinary Parasitology: Methodology and Examples of Vector-Borne Diseases (Heartworm Focus). 6th *Merial Symposium on Parasitosis & Arthropod-Borne Diseases: New challenges for Europe and Mediterranean Basin*. Tunis, April 9th-11th.

Rinaldi, L., Musella, V., Genchi, C. & Cringoli, G. (2007). Geographical Information Systems in health applications: experience on filariasis. In: Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G. (Eds.), *Mappe Parassitologiche 8*. Rolando Editore, Naples.

- Rossi, L., Ferroglia, E. & Agostini, A. (2004). Use of an injectable, sustained-release formulation of moxidectin to prevent canine subcutaneous dirofilariosis. *The Veterinary Record*, 154, 26-27
- Santa-Ana, M., Khadem, M., Capela, R. (2006). Natural infection of *Culex theileri* (Diptera, Culicidae) with *Dirofilaria immitis* (Nematoda, Filarioidea) on Madeira Island, Portugal. *J Med Entomol.* 43 (1), 104–106.
- Scott, A.L., Ghedin, E., Nutman, T.B., McReynolds, L.A., Poole, C.B., Slatko, B.E. & Foster, J.M. (2012) Filarial and *Wolbachia* genomics. *Parasite Immunol*, 34 (2-3), 121-9
- Simón, F., Kramer, L.H., Morchón, R. & Genchi, C. (2007). A possible role for *Wolbachia* in the diagnosis of *Dirofilaria* infections. In: Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G. (Eds.), *Mappe Parassitologiche 8*. Rolando Editore Naples.
- Simón, F., Kramer, L.H., Román, A., Blasini, W., Morchón, R., Marcos-Atxutegi, C., Grandi, G. & Genchi, C. (2007) Immunopathology of *Dirofilaria immitis* Infection. *Vet Res Commun.* 31 (2),161-71.
- Simón, F., López-Belmonte, J., Marcos-Atxutegi, C., Morchón, R. & Martín-Pacho, J.R. (2005). What is happening outside North America regarding human dirofilariosis? *Vet. Parasitol.* 133, 181–189.
- Simón, F., Siles-Lucas, M., Morchón, R., González-Miguel, J., Mellado, I., Carretón, E. & Montoya-Alonso, J.A. (2012). Human and animal dirofilariosis: the emergence of a zoonotic mosaic. *Clin Microbiol Rev.* 25 (3), 507-44.
- Simón, F., Morchón, R., González-Miguel, J., Marcos-Atxutegi, C. & Siles-Lucas, M. (2009). What is new about animal and human dirofilariosis? *Trends Parasitol.* 25 (9), 404–409.
- Sironi, M., Brandi, C., Sacchi, L., Di Sacco, B., Damiani, G. & Genchi, C. (1995). Molecular evidence for a close relative of the arthropod endosymbiont *Wolbachia* in a filarial worm. *Mol Biochem Parasitol.* 74 (2), 223-7.
- Slatko, B.E., Taylor, M.J. & Foster, J.M. (2010). The *Wolbachia* endosymbiont as an anti filarial nematode target. *Symbiosis.* 51 (1), 55-65.

Song, K.H., Lee, S.E., Hayasaki, M., Shiramizu, K., Kim, D.H. & Cho, K.W. (2003). Seroprevalence of canine dirofilariosis in South Korea. *Vet Parasitol* 114 (3), 231–236.

Song, K.H., Tanaka, S. & Hayasaki, M. (2009). Scanning electron microscopic observation of ultrastructure of *Dirofilaria immitis* microfilaria. *J Vet Med Sci.* 71(6), 779-83.

Tarello, W. (2011). Clinical Aspects of Dermatitis Associated with *Dirofilaria repens* in Pets: A Review of 100 Canine and 31 Feline Cases (1990–2010) and a Report of a New Clinic Case Imported from Italy to Dubai. *J Parasitol Res.*

To, K.K., Wong, S.S., Poon, R.W., Trendell-Smith, N.J., Ngan, A.H., Lam, J.W., Tang, T.H., Ahchong, A.K., Kan, J.C., Chan, K.H., Yuen, K.Y. (2012). A novel *Dirofilaria* species causing human and canine infections in Hong Kong. *J Clin Microbiol.*

Traversa, D., Di Cesare, A. & Conboy, G. (2010). Canine and feline cardiopulmonary parasitic nematodes in Europe: emerging and underestimated. *Parasit Vectors*, 3, 62.

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. *Vet Parasitol*, 171, 136-139.

Vegni-Talluri, M. & Cancrini, G. (1994). An ultrastructural study on the early cellular response to *Dirofilaria immitis* (Nematoda) in the Malpighian tubules of *Aedes aegypti* (refractory strains). *Parasite.* 1, 343-348.

Venco, L. (2007a). Heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in dogs. In: Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G. (Eds.), *Mappe Parassitologiche 8*. Rolando Editore Naples.

Venco, L. (2007b). *Dirofilaria (Nochtiella) repens* infection in dogs and cats. In: Genchi, C., Rinaldi, L., Cringoli, G. (Eds.), *Mappe Parassitologiche 8*. Rolando Editore Naples.

Vieira, L., Morchón, R., Fontes-Sousa, A.P., Silvestre-Ferreira, A.C., Vilhena, H., Carretón, E., Mellado, I., Simón, F. & Montoya-Alonso, J.A. (2011). Epidemiological survey of *Dirofilaria immitis* and its *Wolbachia* endosymbiont bacterium in cats on the North and North Centre of Portugal. In: *Libro de ponencias e comunicaciones, International Workshop of Dirofilariosis*, Las Palmas de Gran Canaria, 18-19 Noviembre. pp. 38-29.

Yildirim, A., Inci, A., Duzlu, O., Biskin, Z., Ica, A., Sahin, I. (2011). *Aedes vexans* and *Culex pipiens* as the potential vectors of *Dirofilaria immitis* in Central Turkey. *Vet. Parasitol.* 178, 143–147.