

Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

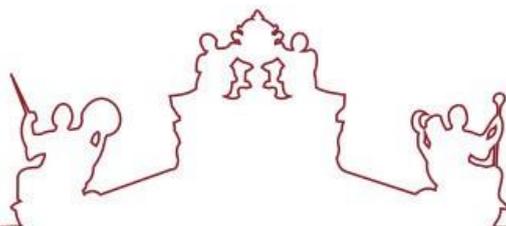
Dissertação

Avaliação dos efeitos da Dirofilariose Cardiopulmonar sobre os parâmetros de função cardíaca e hemodinâmicos em cães na Ilha da Madeira

Ana Maria Freitas Oliveira

Orientador(es) / Maria Teresa Oliveira
Duarte Bruno Castro Correia
Joana Margarida Ferreira da Costa Reis

Évora 2023



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Dissertação

Avaliação dos efeitos da Dirofilariose Cardiopulmonar sobre os parâmetros de função cardíaca e hemodinâmicos em cães na Ilha da Madeira

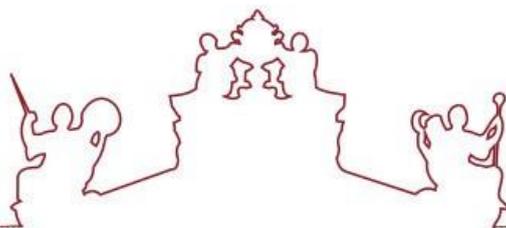
Ana Maria Freitas Oliveira

Orientador(es) / Maria Teresa Oliveira

Duarte Bruno Castro Correia

Joana Margarida Ferreira da Costa Reis

Évora 2023



A dissertação foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Rita Payan-Carreira (Universidade de Évora)

Vogais | Maria Teresa Oliveira (Universidade de Évora) (Orientador)

Sílvia Pires Pinheiro (Pós-Graduação da European School for Advanced Veterinary
Studies em Cardiologia Veterinária) (Arguente)

Évora 2023

Dedicada a todas as pessoas que persistem em tentar fazer dos seus sonhos realidade.

“A change is brought about because ordinary people do extraordinary things.”

- Barack Obama.

Agradecimentos

Em primeiro lugar gostaria de agradecer do fundo do meu coração à minha família pelo apoio incondicional, por serem uma inspiração e por me terem ensinado a nunca desistir dos meus sonhos. Um especial obrigado à minha mãe, pela sua infinita paciência e o amor inesgotável. Ao meu pai, pela compreensão e por estar sempre disposto a me levar num passeio de mota para espairecer. Ao meu irmão, por me dar os melhores conselhos de vida e ser a minha “dor de cabeça” favorita. À minha prima, Beatriz Freitas, por ser como uma irmã e um exemplo a seguir pela sua sabedoria.

Ao meu namorado, João Parodi, por ter sido o meu pilar durante todo este percurso e por me fazer sentir que o céu é o limite.

À Carla Rocha, por ser a melhor amiga que alguém poderia ter, por todos os momentos inesquecíveis que passamos juntas e que me marcaram, fazendo de mim a pessoa que sou hoje.

À minha Champ, por ter sido a minha paz e tranquilidade nos momentos em que a inspiração não chegava.

À Universidade de Évora e a todos os docentes do curso de Medicina Veterinária, com os quais tive o prazer de aprender. Em especial, à Professora Doutora Joana Reis acima de tudo por ter aceitado ser minha orientadora, pela paciência durante todo este processo e os seus sábios conselhos, sem os quais tudo teria sido mais difícil. À Professora Doutora Teresa Oliveira por ter aceitado embarcar nesta viagem e me ter ajudado com a dissertação.

A todos os médicos e enfermeiros veterinários, bem como os auxiliares e rececionistas do Hospital Veterinário da Madeira, sobretudo ao Doutor Duarte Correia, pois sem ele o meu estágio não teria sido possível e, além do mais, por me ter acolhido tão bem e me ter feito sentir “em casa”. À Doutora Raquel Estudante, por toda a partilha de conhecimento e pelo constante apoio. À Doutora Cristina Nóbrega por me ter ajudado durante o estágio e por ser uma inspiração na área da Cardiologia. À Enfermeira Carina Côrte pelo carinho e por tudo o que me ensinou, sem si o estágio não teria sido tão extraordinário. Ao Doutor Levi Gonçalves por ser uma lufada de ar fresco e por tudo o que me ensinou. E à Enfermeira Mafalda Florença pela simpatia e pelo profissionalismo.

Aos meus amigos de longa data, que são praticamente família, Fabrício Sousa, Marco Ramos, Marcello Di Staso, Leandro Fiqueli e Teresa Mendonça, obrigada por fazerem parte da minha vida.

À Doutora Imma Antunes por ter sido e continuar a ser uma pessoa muito especial para mim.

Aos amigos que fiz em Évora e que levo com muito carinho no meu coração, nomeadamente à Joana Silva pelos momentos inesquecíveis e o enorme privilégio que foi viver contigo; à Margarida Boto pela alegria contagiante e as viagens maravilhosas que partilhamos; à Patrícia Gouveia pelos momentos únicos e hilariantes; ao Rodrigo Rodrigues e ao André Brites pelos convívios que me alegraram o dia.

Aos amigos que fiz na Federação Académica de Medicina Veterinária, no mandato de 2019/2020, especialmente à Sara Paiva, ao Gonçalo Portela, à Catarina Teixeira, à Soraia Filipa, à Carolina Câncio e à Inês Moreira por todas as aventuras, os projetos e, acima de tudo pela vossa amizade.

Por fim, não existem palavras para descrever a minha gratidão e o quanto gosto de todos vocês.

Resumo

A dirofilariose cardiopulmonar é uma doença parasitária transmitida por culicídeos que afeta maioritariamente o sistema cardiovascular dos cães. O agente etiológico (*Dirofilaria immitis*) por se encontrar nas artérias pulmonares, irá propiciar o desenvolvimento de hipertensão e tromboembolismo pulmonar. Nos estadios mais avançados da doença, os pacientes podem-se apresentar com a síndrome da veia cava e/ou insuficiência cardíaca congestiva direita.

A presente dissertação inclui uma revisão da literatura sobre a dirofilariose cardiopulmonar, com especial foco na sua fisiopatologia, diagnóstico, monitorização e tratamento a ser instituído, mediante do estadiamento dos pacientes. O seu objetivo primordial é o de avaliar os efeitos desta doença na função cardíaca e hemodinâmica dos cães, além da sua progressão ao longo do tratamento.

Os resultados do estudo revelam que os pacientes com doença severa tendem a apresentar leucocitose, trombocitopenia, evidência de padrão pulmonar intersticial, aumento da artéria pulmonar e uma maior probabilidade de ter hipertensão pulmonar.

Palavras-chave: Dirofilariose Cardiopulmonar, *Dirofilaria immitis*, Cão, Hipertensão Pulmonar e Insuficiência Cardíaca Congestiva Direita.

Abstract

Evaluation of the effects from Heartworm disease on cardiac and hemodynamic function parameters in dogs on Madeira Island

Cardiopulmonary dirofilariasis is a parasitic disease transmitted by a Culicidae mainly affecting the cardiovascular system of dogs. The etiological agent (*Dirofilaria immitis*) lodges itself in the pulmonary arteries, prompting pulmonary hypertension and thromboembolism. In the latest stages of this disease, patients may present themselves with vena cava syndrome and/or right congestive heart failure.

This dissertation includes a literary review on cardiopulmonary heartworm, with an emphasis on its pathophysiology, diagnosis, management, and stage-adjusted treatment of the disease. The primary objective of this study is to evaluate the cardiac and hemodynamic effects of the disease, as well as their progression throughout treatment.

The results observed on this study reveal that patients with severe disease tend to have leukocytosis, thrombocytopenia, interstitial lung pattern, pulmonary artery enlargement and a higher probability of having pulmonary hypertension.

Keywords: Cardiopulmonary Dirofilariasis, *Dirofilaria immitis*, Dog, Pulmonary Hypertension, and Right Congestive Heart Failure.

Índice geral

Dedicatória	I
Agradecimentos	II
Resumo	IV
Abstract	V
Índice geral	VI
Índice de gráficos	VIII
Índice de tabelas	IX
Índice de figuras	X
Lista de abreviaturas e siglas	XI
Prelúdio	XIV
I. Revisão da literatura	1
1. Abordagem ao paciente com suspeita de doença cardiovascular	1
2. Dirofilariose cardiopulmonar	12
2.1 - Ciclo de vida	14
2.2 – Epidemiologia	16
2.3 – Prevenção	18
2.4 – Fisiopatologia	25
2.4.1 – Hospedeiro intermediário (vetor)	25
2.4.2 – Hospedeiro definitivo	26
2.5 – Métodos de diagnóstico	37
2.5.1 – Apresentação clínica	38
2.5.2 – Achados laboratoriais	39
2.5.3 – Achados imagiológicos.....	44
2.5.4 – Estadiamento do paciente.....	48

2.6	– Diagnósticos diferenciais	50
2.7	– Abordagem terapêutica.....	55
2.7.1	– Avaliação pré-adulticida	56
2.7.2	– Estabilização dos pacientes	57
2.7.3	– Tratamento recomendado pela <i>AHS</i>	59
2.7.4	– Terapia cirúrgica	62
2.7.5	– Terapias alternativas.....	64
2.8	– Prognóstico	65
II.	Estudo	65
1.	Introdução	65
2.	Objetivos.....	66
3.	Materiais e Métodos.....	67
3.1	– Plano de estudo	67
3.2	– Colheita e análise sanguínea	68
3.3	– Exames imagiológicos.....	68
3.4	– Análise estatística.....	69
4.	Resultados.....	69
4.1	– Caracterização da amostra	69
4.2	– Sinais clínicos	71
4.3	– Análises sanguíneas	73
4.4	– Exames imagiológicos.....	75
4.5	– Estadiamento e a sua progressão ao longo do tratamento.....	79
5.	Discussão	83
6.	Conclusão.....	89
	Referências bibliográficas	90

Índice de gráficos

Gráfico 1 – Representação da distribuição dos sinais clínicos de acordo com a classe de estadiamento da doença.	72
Gráfico 2 - Representação das alterações nos parâmetros hematológicos.	73
Gráfico 3 - Representação das alterações nos parâmetros bioquímicos.	74
Gráfico 4 – Representação dos achados radiográficos segundo a classe da doença.	75
Gráfico 5 - Representação do registo da mensuração da regurgitação da válvula tricúspide (RVT) de acordo com o estadiamento dos cães avaliados.....	76
Gráfico 6 - Representação dos achados ecocardiográficos gerais.	77
Gráfico 7 - Representação da proporção de animais de acordo com o seu nível de probabilidade de ter hipertensão pulmonar.	79
Gráfico 8 - Representação da associação entre a proporção de animais presentes em cada classe de estadiamento e o seu respetivo nível de risco de desenvolvimento de complicações tromboembólicas.....	80
Gráfico 9 – Representação da proporção de animais que concluíram ou não o protocolo de tratamento.	82
Gráfico 10 - Representação da evolução do estadiamento do paciente ao longo do tratamento preconizado.....	83

Índice de tabelas

Tabela 1 – Probabilidade de HP em cães com DCP com base nos achados ecocardiográficos.....	46
Tabela 2 - Locais anatômicos de sinais ecocardiográficos de HP usados para avaliar a probabilidade de HP em cães.....	46
Tabela 3 - Classificação da dirofilariose cardiopulmonar em cães.	48
Tabela 4 - Características morfológicas características de <i>D. immitis</i> , <i>A. vasorum</i> , <i>E. aerophilus</i> , <i>C. Vulpis</i> , <i>A. reconditum</i> e <i>A. dracunculoides</i> e <i>D. repens</i>	53
Tabela 5 - Classificação do nível de risco de desenvolvimento de complicações tromboembólicas.	56
Tabela 6 - Caracterização dos pacientes presentes no estudo.....	70
Tabela 7 – Protocolo terapêutico realizado aos animais inseridos no estudo.....	81

Índice de figuras

Figura 1 - Principais áreas de auscultação cardíaca em cães.....	9
Figura 2 - <i>D. immitis</i> adultas presentes nas artérias pulmonares e câmaras cardíacas direitas do coração de um cão.	12
Figura 3 – Ciclo de vida de <i>D. immitis</i> em cães e gatos.....	14
Figura 4 – Desenvolvimento e migração de <i>D. immitis</i> dentro de um hospedeiro intermediário (mosquito) suscetível.	15
Figura 5 - Mapa mundial demonstrando a prevalência de <i>D. immitis</i> em cães.....	17
Figura 6 - Distribuição da prevalência de <i>D. immitis</i> e <i>D. repens</i> em cães, na Europa.	18
Figura 7 - Papel da p-glicoproteína (p-gp) na distribuição de fármacos.	20
Figura 8 - Ativação da via dos recetores do tipo Toll (TLR) nos mosquitos.	24
Figura 9 - Barreiras fisiológicas do mosquito face ao desenvolvimento de <i>D. immitis</i>	25
Figura 10 - Progressão da DCP canina.....	26
Figura 11 – Análise da formação de armadilhas extracelulares pelos neutrófilos (NETs) induzida pela presença de <i>D. immitis</i>	28
Figura 12 - Eventos imunes decorrentes da infecção por <i>D. immitis</i>	29
Figura 13 - Mecanismos de invasão imune de <i>D. immitis</i>	30
Figura 14 - Cão com síndrome da veia cava.	31
Figura 15 – Esquema referente ao sistema renina-angiotensina-aldosterona.....	33
Figura 16 – Mecanismos de sobrevivência de <i>D. immitis</i>	37
Figura 17 - Microfilária de <i>D. immitis</i> identificada através da técnica de Knott modificado.	40
Figura 18 - Radiografia torácica lateral direito (A) e dorsoventral (B) de um cão com dirofilariose cardiopulmonar.	45
Figura 19 - Imagem ecocardiográfica de um cão com dirofilariose cardiopulmonar.	45
Figura 20 - Períodos de suscetibilidade das lactonas macrocíclicas e do dicloridrato de melarsomina conforme o desenvolvimento de <i>D. immitis</i>	60
Figura 21 - Radiografia torácica lateral direito de um cão com dirofilariose cardiopulmonar moderada (A) e severa (B).	76
Figura 22 - Imagem ecocardiográfica de um cão com dirofilariose cardiopulmonar severa.	78

Lista de abreviaturas e siglas

ACVIM – Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária / *American College of Veterinary Internal Medicine*;

AD – Átrio direito;

AHS – *American Heartworm Society*;

ALP – Fosfatase alcalina / *Alkaline phosphatase*;

ALT – Alanina aminotransferase / *Alanine transaminase*;

ANP – Peptídeo natriurético atrial / *Atrial natriuretic peptide*;

AP – Artéria pulmonar;

BID – Duas vezes por dia / *Bis in die*;

BNP – Peptídeo natriurético de tipo B ou cerebral / *Brain natriuretic peptide*;

CAPC – *Companion Animal Parasite Council*;

CID – Coagulação intravascular disseminada;

CMD – Cardiomiopatia dilatada;

CREA – Creatinina / *Creatinine*;

DC – Débito cardíaco;

DGP – Dirofilariose cardiopulmonar;

DDMV – Doença degenerativa mixomatosa da válvula mitral;

DiE/S – Antígenos excretados e secretados de *D. immitis* / *Excretory/secretor antigens from D. immitis*;

DiSA – Antígeno somático de *D. immitis* / *D. immitis somatic antigen*;

ELISA – Ensaio de imunoabsorção enzimática / *Enzyme-linked immunosorbent assay*;

EUA – Estados Unidos da América;

ESCCAP – *European Scientific Counsel Companion Animal Parasites*;

FC – Frequência cardíaca;

HDL – Colesterol ligado à lipoproteína de alta densidade / *High density lipoprotein cholesterol*;

HP – Hipertensão pulmonar;

HVM – Hospital Veterinário da Madeira;

ICC – Insuficiência cardíaca congestiva;

ICCD – Insuficiência cardíaca congestiva direita;

ICD – Insuficiência cardíaca direita;

IECAs – Inibidores da enzima conversora da angiotensina;

IFN- γ – Interferão-gama / *Gamma interferon*;

IgG – Imunoglobulina G;

IM – Via intramuscular / *Intramuscular*;

IV – Via intravenosa / *Intravenous*;

L1 – Larva no primeiro estadio de desenvolvimento;

L3 – Larva no estadio infetante;

L4 – Larva no quarto estadio de desenvolvimento;

LDL – Colesterol ligado à lipoproteína de baixa densidade / *Low density lipoprotein cholesterol*;

L-Th1 – Linfócitos T *helper* 1;

L-Th2 – Linfócitos T *helper* 2;

NETs – Armadilhas extracelulares formadas pelos neutrófilos / *Neutrophil extracellular traps*;

PDA – Persistência do ducto arterioso;

PFAs – Proteínas de fase aguda;

p-gp – p-glicoproteína;

PO – Via oral / *Per os*;

PON-1 – Paraoxonase 1;

RVT – Regurgitação da válvula tricúspide;

S1 – Primeiro som cardíaco;

S2 – Segundo som cardíaco;

S3 – Terceiro som cardíaco;

S4 – Quarto som cardíaco;

SC – Via subcutânea / *Subcutaneous*;

SDMA – Dimetilarginina simétrica / *Symmetric dimethylarginine*;

SID – Uma vez por dia / *Semel in die*;

SNS – Sistema nervoso simpático;

SpC – Sopro cardíaco;

SRAA – Sistema renina-angiotensina-aldosterona;

SVC – Síndrome da veia cava;

TEP – Tromboembolismo pulmonar;

TID – Três vezes por dia / *Ter in die*;

TLR – Recetores do tipo Toll / *Toll-like receptors*;

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa / *Tumor necrosis factor alpha*;

VC – Veia cava;

VD – Ventrículo direito;

VHS – Índice cardíaco vertebral / *Vertebral heart score*;

VLDL – Colesterol associado à lipoproteína de densidade muito baixa / *Very low density lipoprotein cholesterol*;

VJ – Veia jugular;

VT – Válvula tricúspide;

WSP – Proteína de superfície da *Wolbachia* spp. / *Wolbachia surface protein*.

Prelúdio

O estágio curricular decorreu no Hospital Veterinário da Madeira (HVM), sob a orientação do Doutor Duarte Bruno Castro Correia e teve uma duração de cinco meses, tendo sido iniciado no dia 1 de outubro de 2020 e concluído no dia 7 de março de 2021.

As atividades e/ou procedimentos desenvolvidos no decorrer destes meses incidiram-se fundamentalmente nas áreas da clínica e cirurgia de animais de companhia, bem como de exóticos.

De uma maneira geral, ao longo deste estágio, a autora pôde acompanhar as consultas de rotina; realizar e interpretar diversos exames complementares de diagnóstico; e auxiliar os médicos e enfermeiros veterinários no internamento, na realização dos exercícios de reabilitação e dos exames de ultrassonografia, assim como nas cirurgias realizadas. Adicionalmente, também foi necessário proceder à recolha dos dados referentes aos pacientes referidos nesta dissertação, para que depois os mesmos pudessem ser analisados.

I. Revisão da literatura

1. Abordagem ao paciente com suspeita de doença cardiovascular

De um modo geral, a suspeita de doença cardiovascular surge quando o motivo da consulta é sugestivo de uma alteração na função do sistema cardiovascular, um paciente se apresenta com sintomatologia compatível ou simplesmente através de achados acidentais (por exemplo, sopros cardíacos (SpCs) ou arritmias) recolhidos durante o exame físico de rotina. No entanto, a maior parte dos sinais clínicos de doença cardíaca não são específicos e, além disso, um paciente cardíaco pode ter outras doenças concomitantes, que irão influenciar a sintomatologia apresentada. (Ljungvall & Häggström, 2020)

Numa primeira instância, o médico veterinário deve realizar um exame clínico completo, recolhendo a informação referente ao paciente (espécie, idade, género, estado reprodutivo, raça e localização geográfica) e o motivo da consulta (Durham, 2017; Ljungvall & Häggström, 2020). Em seguida, devem ser realizadas questões referentes à sua condição médica (no que diz respeito à vacinação, desparasitação, testes parasitários realizados, historial de doenças, medicação atual, cirurgias a que foi submetido e se realiza algum tipo de medicação preventiva) e à dieta instituída (Durham, 2017). Adicionalmente, é relevante saber se o animal em questão coabita com outros animais, se tem acesso ao exterior e se foram evidenciadas alterações no seu comportamento ou apetite (Durham, 2017).

Posteriormente, seguir-se-á o exame físico, que inclui a observação do animal, no que diz respeito à sua atitude, condição corporal, mobilidade, comportamento, temperamento e padrão respiratório. Durante a avaliação do padrão respiratório é preciso avaliar a profundidade, a forma como o animal respira, os tipos de movimentos respiratórios, o ritmo e a frequência respiratória (entre 10 e 30 respirações por minuto). Além disso, é pertinente avaliar se existem alterações na parede costal. (Ljungvall & Häggström, 2020)

De seguida, o focinho deve ser inspecionado, de modo a avaliar se existem assimetrias faciais ou secreções (nasais ou oculares), bem como a simetria das colunas de ar, a coloração das membranas mucosas orais e o tempo de repleção capilar (que num

animal com boa perfusão sanguínea periférica deve ser inferior a dois segundos). Subsequentemente, os seios nasais (frontal e maxilar) devem ser avaliados quanto à presença de deformidades, sensibilidade à dor e percussão com o intuito de avaliar o som produzido. Além disso, é pertinente observar o pavilhão auricular e proceder à avaliação do canal auditivo. (Defarges, 2015)

A coloração das membranas mucosas orais e o tempo de repleção capilar irão fornecer informação referente à perfusão periférica, hidratação, débito cardíaco (DC) e à oxigenação do paciente (Ljungvall & Häggström, 2020), contudo o tempo de retração da prega cutânea também é muito útil para avaliar o grau de desidratação do animal (Defarges, 2015). Assim sendo, uma membrana mucosa pálida pode estar associada a anemia ou diminuição do DC por vasoconstrição periférica (Johnson & Fuentes, 2016). Por outro lado, uma membrana mucosa com coloração azulada (cianótica) indica um aumento da concentração de hemoglobina desoxigenada (Durham, 2017). Este aumento pode estar associado com uma diminuição na pressão parcial de oxigênio dissolvido no sangue arterial (cianose central) ou diminuição do conteúdo de oxigênio nos tecidos (cianose periférica) (Durham, 2017).

A cianose central tende a estar relacionada com defeitos cardíacos por desvio de sangue (como a Tetralogia de Fallot), doença respiratória severa secundária a qualquer distúrbio que prejudique a oxigenação ou insuficiência cardíaca congestiva (ICC) com edema pulmonar. Por outro lado, a cianose periférica é observada em animais com hipotermia marcada, obstrução arterial ou condições que promovam um baixo DC, como a cardiomiopatia dilatada (CMD). (Durham, 2017)

Durante o exame ocular, é importante avaliar as estruturas internas e externas através da oftalmoscopia indireta, uma vez que anomalias nos vasos do fundo do olho podem estar associadas a congestão venosa ou policitemia. Além disso, um animal hipertenso poderá exibir diversas alterações oculares, como o descolamento de retina e o aumento da tortuosidade dos vasos da retina. (Durham, 2017)

Posteriormente, é relevante proceder à avaliação da laringe e da traqueia, no que diz respeito à inspeção e palpação de possíveis deformidades nesta área, bem como auscultação dos sons respiratórios característicos (Defarges, 2015). A palpação da traqueia deve ser iniciada ao nível da entrada do peito, sendo que a mesma pode desencadear tosse (Johnson & Fuentes, 2016). A presença de tosse pode estar associada

a diversas patologias pulmonares, como bronquite crônica, colapso das vias aéreas, pneumonia ou edema pulmonar severo (Johnson & Fuentes, 2016). No que diz respeito à auscultação sobre a laringe, esta é realizada com o intuito de estabelecer quais são os sons das vias respiratórias superiores considerados normais para o animal (Johnson & Fuentes, 2016). Os sons respiratórios auscultados ao nível da laringe e da traqueia são altos e ocos (Johnson, 2020) audíveis tanto na inspiração como na expiração (Ljungvall & Häggström, 2020). Posteriormente, a glândula tiroide deve ser avaliada, para averiguar se existe um aumento no seu tamanho (Defarges, 2015).

As veias jugulares (VJs) devem ser inspecionadas, uma vez que a sua distensão persistente pode ser indicativa de insuficiência cardíaca congestiva direita (ICCD) (Durham, 2017). Por sua vez, a pulsação das VJs pode estar relacionada com a regurgitação da válvula tricúspide (RVT), devido ao volume retrógrado que consegue atravessar a válvula durante a sístole ou quando ocorre a contração atrial, mas a válvula tricúspide (VT) encontra-se fechada (Johnson & Fuentes, 2016). A pulsação normal da VJ é observada no terço distal do pescoço, quando o animal está com a cabeça numa posição “normal” e a sua mandíbula encontra-se paralela ao chão (Durham, 2017; Ljungvall & Häggström, 2020). Se o pulso jugular se estender cranialmente numa distância superior ao terço cervical proximal do tórax, o mesmo passará a ser considerado anormal (Aiello & Moses, 2016).

É de extrema relevância saber distinguir a pulsação venosa jugular da pulsação da artéria carótida, através da aplicação de pressão na VJ à entrada torácica e, de seguida, aliviando a pressão inicialmente aplicada. Assim sendo, se se tratar de uma pulsação jugular, esta irá desaparecer. Se, por outro lado, se tratar de pulsação ao nível da artéria carótica, o pulso irá permanecer visível, mesmo depois de já não haver pressão aplicada. (Durham, 2017; Ljungvall & Häggström, 2020)

Seguidamente, é preciso inspecionar e palpar todo o corpo do animal para evidências de parasitismo ou alterações cutâneas, bem como os membros para a presença de edema periférico (Ljungvall & Häggström, 2020). Também devem ser inspecionados todos os linfonodos (mandibular, retrofaríngeo, pré-escapular, axilar, axilar acessório, inguinal superficial e poplíteo), no que confere ao seu tamanho, forma, consistência, existência de dor ou aderências (Defarges, 2015). A palpação abdominal irá possibilitar a avaliação da dor, desconforto ou a presença de massas (Defarges,

2015). Adicionalmente, também pode revelar sinais de ICCD, uma vez que esta promove acumulação de fluidos e congestão das vísceras abdominais, manifestando-se por ascite e hepatomegalia, respetivamente (Ljungvall & Häggström, 2020). Nos casos em que existe uma ascite significativa, o aumento da pressão abdominal sobre o diafragma pode promover taquipneia/dispneia (Durham, 2017).

Apesar de existirem diversas causas para o desenvolvimento de ascite, quando um paciente a evidencia é importante avaliar se as VJs se encontram distendidas, pelo que, se for esse o caso, o médico veterinário deve suspeitar de insuficiência cardíaca direita (ICD). No entanto, se as VJs não estiverem distendidas num cão ou gato com ascite, deverá ser realizado o teste de refluxo hepato-jugular. (Aiello & Moses, 2016)

O teste de refluxo hepato-jugular é realizado com o intuito de revelar aumento de pressão ao nível do átrio direito (AD), em pacientes com ICD. Para proceder à sua realização as VJs devem ser observadas enquanto simultaneamente existe a compressão do abdómen cranial, pelo que um paciente normal não irá exibir alterações nas VJs. Em contrapartida, um animal com elevadas pressões no AD, mas baixa complacência do mesmo, terá as VJs distendidas temporariamente após a compressão abdominal. (Durham, 2017)

Portanto, um animal de companhia que se apresente com ascite sem distensão das VJs e com uma reposta negativa ao teste de refluxo hepato-jugular, terá causas extracardíacas associadas à sua ascite. (Aiello & Moses, 2016)

Quando se procede à avaliação da coloração da membrana mucosa vulvar (nas fêmeas) ou a prepucial (nos machos) é pertinente proceder à sua comparação face à das membranas mucosas orais e/ou conjuntiva ocular. Isto é pertinente sobretudo nos animais com persistência do ducto arterioso (PDA), na medida em que podem exibir uma coloração normal (rosada) das membranas mucosas orais, mas as membranas mucosas genitais estarão cianóticas. (Durham, 2017)

A avaliação do sistema arterial é realizada através da palpação do pulso arterial (normalmente ao nível da artéria femoral), em ambos os membros, num animal em estação (Ljungvall & Häggström, 2020), e posterior caracterização do mesmo, em termos de frequência, ritmo e qualidade (Durham, 2017). No entanto, é relevante referir que a palpação do pulso não avalia a pressão sanguínea, uma vez que esta reflete a diferença entre a pressão sistólica e diastólica, conhecida como pressão de pulso

(Johnson & Fuentes, 2016; Durham, 2017).

O pulso pode ser hiper cinético (ou forte) sendo o resultado de uma pressão de pulso ampla e pode estar presente em estados de aumento do DC, como regurgitação da válvula aórtica ou casos de PDA (Durham, 2017). Em contrapartida, os pulsos hipocinéticos são pulsos fracos e podem ocorrer devido a baixo DC associado à estenose subaórtica, insuficiência cardíaca, choque hipovolêmico ou tamponamento cardíaco (Aiello & Moses, 2016). Além destes, ainda existem pulsos variáveis, que variam na força entre batimentos, estando, portanto, associados a algumas taquiarritmias, como a fibrilhação atrial (Durham, 2017).

A ausência de pulso num ou em ambos os membros, pode ser indicativo de tromboembolismo arterial (Ljungvall & Häggström, 2020). Por outro lado, os défices de pulsos são relativamente comuns nos casos de arritmias, principalmente quando existem despolarizações prematuras, que resultam numa diminuição do período diastólico, onde pouco ou nenhum fluxo sai do ventrículo esquerdo (Durham, 2017). Nestes casos, o som cardíaco pode ser audível, mas a onda de pulso não é palpada. É de salientar que este fenómeno só pode ser apreciado caso a auscultação cardíaca seja realizada simultaneamente à palpação do pulso (Durham, 2017).

A auscultação torácica deve ser realizada com o intuito de avaliar a frequência e o ritmo cardíaco, a presença de sons normais e anormais, sejam cardíacos ou respiratórios, bem como a presença de fluido intratorácico e a frequência respiratória (Pugliese et al., 2021). Idealmente, deve ser realizada numa sala silenciosa e o animal deve estar em estação, com o intuito de manter a posição anatómica normal das várias áreas de auscultação (Ljungvall & Häggström, 2020). A palpação torácica é o primeiro passo para alcançar uma auscultação precisa, uma vez que permite avaliar a força e a localização do choque precordial (Durham, 2017).

O choque precordial (ou impulso apical) é o local da parede torácica compreendido entre o quarto e o sexto espaço intercostal, normalmente na junção costondral ou logo abaixo da mesma, onde se sente o batimento do coração (Durham, 2017). Se existir um desvio na sua localização, é pertinente suspeitar da presença de uma massa torácica ou evidência de cardiomegália (Durham, 2017). Por sua vez, se existir um aumento do impulso apical, a suspeita passa por condições como o *stress* e a anemia, bem como das que promovam sobrecarga de volume cardíaco e cardiomegália

(como a doença degenerativa mixomatosa da válvula mitral (DDMVM) severa ou CMD) (Ljungvall & Häggström, 2020). Em contrapartida, a diminuição do impulso pode ser causada por obesidade, hipovolémia, efusão pleural ou pericárdica, existência de massas torácicas ou pneumotórax (Durham, 2017).

Durante a palpação, também pode ser notável a presença de um frémito (vibração sobre o coração) que se encontra associado ao aparecimento de um fluxo sanguíneo turbulento. Assim sendo, a sua presença pode ser a primeira indicação da existência de um SpC. (Durham, 2017)

Após ter sido localizado o choque precordial no hemitórax esquerdo, deve ser realizada a auscultação do paciente. Numa primeira instância, é preciso tentar isolar os sons cardíacos dos pulmonares, com o intuito de identificar o primeiro e segundo som cardíaco (S1 e S2, respetivamente). Seguidamente, deve ser avaliado o tempo cardíaco (sístole e diástole), bem como a frequência e o ritmo cardíaco. (Pace, 2017)

De um modo geral, o ciclo cardíaco é composto por duas fases, a sístole, que compreende a contração muscular das câmaras cardíacas (átrios e ventrículos) e a diástole, que se refere ao relaxamento das mesmas (Durham, 2017). Para ajudar a identificar a sístole, o pulso femoral deve ser palpado simultaneamente com a auscultação cardíaca, uma vez que o mesmo será sentido durante a sístole, que ocorre entre S1 e S2 (Pace, 2017).

Durante a auscultação, a frequência cardíaca (FC) deve ser avaliada, sendo que em cães esta pode variar desde os 70 até aos 180 batimentos por minuto, dependendo do porte do animal. É de salientar que os cães pediátricos apresentam uma FC superior à do animal adulto (normalmente na ordem dos 220 batimentos por minuto). Assim sendo, um cão que se apresente com uma FC inferior, considera-se que está em bradicardia e, por conseguinte, um cão cuja frequência seja superior é considerado que se encontra em taquicardia. (Durham, 2017)

Por via de regra, os cães saudáveis apresentam um ritmo cardíaco regular (ritmo sinusal), no entanto, a presença de uma arritmia sinusal respiratória também é considerada fisiológica (Johnson & Fuentes, 2016). O ritmo cardíaco sinusal diz respeito à presença de um estímulo no nodo sinusal que desencadeia a despolarização dos átrios e ventrículos (Durham, 2017). Por conseguinte, esta despolarização resultará numa contração atrioventricular coordenada e um batimento cardíaco regular com FC

dentro dos parâmetros considerados fisiológicos (Durham, 2017). A arritmia sinusal respiratória, por sua vez, consiste num aumento da FC concordante com a fase de inspiração, e posterior diminuição durante a fase de expiração (Johnson & Fuentes, 2016; Durham, 2017; Ljungvall & Häggström, 2020). Apesar deste fenômeno estar associado ao aumento no tônus vagal e ser considerado fisiológico, a sua evidência exagerada pode estar relacionada com a presença de doença respiratória (Ljungvall & Häggström, 2020).

A arritmia cardíaca consiste numa perturbação na frequência, no ritmo ou no local de formação/condução do impulso elétrico cardíaco (Boller, 2017). No entanto, a sua presença não indica necessariamente a presença de doença cardíaca, uma vez que existem arritmias como a arritmia sinusal respiratória que é considerada fisiológica (Aiello & Moses, 2016; Durham, 2017). Assim sendo, sempre que um animal se apresente com uma arritmia além da sinusal respiratória, deve ser submetido a um eletrocardiograma com o intuito de definir a sua natureza exata (Durham, 2017; Ljungvall & Häggström, 2020).

No que diz respeito aos sons cardíacos, estes podem ser inseridos em dois grupos: sons transientes ou SpCs. Os sons transientes dizem respeito aos sons de baixa frequência e curtos em duração, incluindo os sons cardíacos normais (S1 e S2), assim como alguns sons anormais como os “galopes”, os sons que resultam do desdobramento de outros sons e os cliques sistólicos. Estes sons, por serem de baixa frequência, devem ser auscultados com a campânula do estetoscópio, enquanto os SpCs devem ser auscultados com o diafragma, por serem sons de elevada frequência e mais longos. (Durham, 2017)

Nos animais de companhia, o S1 e S2, que dizem respeito ao encerramento das válvulas atrioventriculares (mitral e tricúspide) e semilunares (aórtica e pulmonar) respetivamente, são sons considerados normais (Pugliese et al., 2021). Assim sendo, o S1 sinaliza o início acústico da sístole e é ouvido com maior intensidade no ápex esquerdo do coração, apesar de ter um tom mais baixo e ser mais longo do que o S2 (Durham, 2017). O S2, por sua vez, marca o fim da sístole e é ouvido com maior intensidade ao nível da base esquerda do coração (Durham, 2017). A diástole irá ocorrer entre o S2 e o próximo S1 (Pace, 2017).

Existem outros dois sons cardíacos (o terceiro e quarto som cardíaco (S3 e S4,

respetivamente)) que no cão e no gato estão associados a condições cardíacas patológicas (Pugliese et al., 2021) e, por isso, são frequentemente referidos como “galopes” (Durham, 2017). Assim sendo, o S3 surge durante um rápido início do enchimento ventricular (diástole ventricular) e a sua presença tende a estar relacionada com a CMD, DDMVM ou PDA em cães (Ljungvall & Häggström, 2020). Por outro lado, o S4 ocorre durante a contração atrial (sístole atrial) e a sua presença tende a estar associada com a cardiomiopatia hipertrófica em gatos (Durham, 2017). Em cães, por sua vez, surge associado aos que apresentam bloqueio atrioventricular de terceiro grau ou com rutura das cordas tendinosas (Ljungvall & Häggström, 2020).

No que concerne ao desdobramento de sons cardíacos, estes são ouvidos quando as duas válvulas (sejam atrioventriculares ou semilunares) se encerram em tempos ligeiramente distintos. Em medicina veterinária, é mais frequente existir o desdobramento de S2, podendo a sua presença estar associada com a doença pulmonar, a presença de bloqueios nos ramos do feixe de His ou a hipertensão pulmonar (HP) associada à dirofilariose cardiopulmonar (DCP). (Durham, 2017)

Por fim, os cliques sistólicos são produzidos quando existe um prolapso do folheto de uma válvula atrioventricular, resultante da associação entre o aumento da pressão ao nível do ventrículo, durante a sístole, e a presença de uma válvula enfraquecida que acaba por colapsar para dentro do átrio correspondente (Ljungvall & Häggström, 2020). Estes sons têm maior tendência em surgir em cães de pequeno porte cujas raças (como o Cavalier King Charles Spaniel) estejam predispostas a doenças degenerativas valvulares crónicas (endocárdioses) (Durham, 2017). Nestes casos, a válvula prolapsada irá permitir que parte do sangue presente nos ventrículos retorne ao átrio o que, conseqüentemente, irá promover a formação de um SpC, que encobrirá o som inicial de clique sistólico (Durham, 2017). Visto que este som é ouvido entre S1 e S2, pode ser facilmente confundido com um galope, uma vez que são ouvidos três sons cardíacos (Durham, 2017). Assim sendo, para diferenciar os cliques sistólicos de galopes, é necessário prestar atenção à frequência exibida, uma vez que os cliques sistólicos têm frequências superiores aos sons de galope (Ljungvall & Häggström, 2020).

Posteriormente a termos auscultado o S1 e S2, bem como identificado outros possíveis sons presentes, é relevante proceder à auscultação das áreas valvulares

precordiais de ambos os lados do tórax (Pugliese et al., 2021), demonstradas na **Figura 1**.

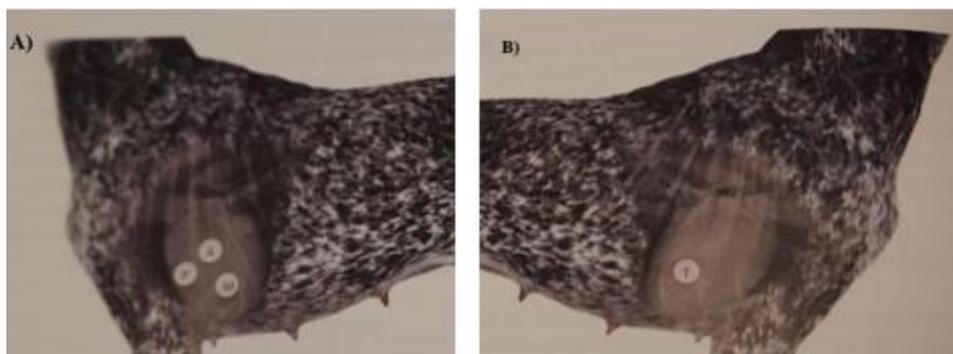


Figura 1 - Principais áreas de auscultação cardíaca em cães. A) Hemitórax esquerdo: M = área da válvula mitral; A = área da válvula aórtica; P = área da válvula pulmonar. B) Hemitórax direito: T = área da válvula tricúspide. Fonte: adaptado de Ljungvall & Häggström, 2020.

Numa primeira instância é pertinente auscultar o hemitórax esquerdo, avaliando a válvula mitral ao nível do choque precordial (sensivelmente entre o 5º e 6º espaço intercostal) (Durham, 2017). Posteriormente, o estetoscópio deve ser deslocado um espaço intercostal cranial e dorsalmente, com o intuito de avaliar a válvula aórtica (aproximadamente no 4º espaço intercostal, acima da junção costo-condral) (Pace, 2017). De seguida, é importante deslocar novamente o estetoscópio um espaço intercostal cranial e ventralmente para poder avaliar a válvula pulmonar (ao nível do 3º espaço intercostal, acima do esterno) (Pace, 2017). Por fim, a região axilar esquerda deve ser auscultada, movimentando uma última vez o estetoscópio um espaço intercostal cranial e dorsalmente, com o propósito de avaliar se existem SpCs contínuos característicos da PDA (Durham, 2017).

No que diz respeito ao hemitórax direito, é preciso avaliar a VT, sendo que para tal a auscultação deve ser realizada ao nível do choque precordial, mas no precórdio direito (Côté et al., 2015). Seguidamente, será necessário movimentar o estetoscópio para a região cranial e dorsal do coração, com o intuito de averiguar se existem SpCs por defeitos do septo interventricular (Durham, 2017). Nos gatos é especialmente relevante auscultar as áreas ventrais do tórax (próximo ao esterno), visto ser a melhor localização para identificar os SpCs e ritmos de galope (Ljungvall & Häggström, 2020).

Os SpCs são sons cardíacos anormais originários da existência de turbulência no fluxo sanguíneo por alterações estruturais e/ou hemodinâmicas nas estruturas hemocárdicas (Pugliese et al., 2021). De uma maneira geral, o fluxo sanguíneo desloca-se segundo um movimento unidirecional suave e silencioso (Pace, 2017). No entanto, se existirem determinadas condições (como defeitos nos septos, regurgitações retrógradas através de uma válvula, elevada velocidade de saída do fluxo sanguíneo ou redução da viscosidade sanguínea) que propiciam uma deslocação do fluxo sob múltiplas direções a velocidades distintas surgirá uma turbulência que poderá ser auscultada ao estetoscópio, como SpC ou até mesmo, em casos extremos, ser sentida à palpação como um frémito (Durham, 2017).

Vale a pena realçar que os SpCs podem ocorrer sem que exista doença cardíaca (Pace, 2017). Como tal, existem SpCs que surgem num coração estruturalmente normal, não estando por isso relacionados com a doença cardíaca, como é o caso dos SpCs não patológicos (Côté et al., 2015; Durham, 2017). Estes, por sua vez, podem ser classificados caso exista ou não uma explicação fisiológica plausível para o seu surgimento, como funcionais ou inocentes, respetivamente (Côté et al., 2015). Por outro lado, existem SpCs que resultam de alterações ou anomalias presentes na arquitetura das estruturas cardíacas (desde defeitos nos septos, desvios, obstruções ao fluxo sanguíneo e até regurgitações ou estenoses valvulares), sendo por essa razão classificados como SpCs patológicos ou orgânicos (Côté et al., 2015; Durham, 2017).

Posteriormente, os SpCs devem ser caracterizados de acordo com a sua intensidade, frequência, qualidade, duração, configuração, localização primária e locais de irradiação (Pugliese et al., 2021).

Apesar da maioria dos cães com doença cardíaca apresentarem um SpC, é de salientar que existem algumas doenças cardíacas (como a doença pericárdica, neoplasia cardíaca, CMD, defeitos do septo atrial, PDA (meramente quando ocorre reversão do fluxo) e doenças primárias do miocárdio em gatos) que não se encontram associadas à existência de SpC, uma vez que a sua presença não influencia o movimento do fluxo sanguíneo (Ljungvall & Häggström, 2020).

No que diz respeito à auscultação pulmonar, numa primeira instância é necessário se abstrair dos sons cardíacos e não respiratórios (como os provocados por tremores musculares e borborigmos). De seguida, é pertinente dividir as áreas

pulmonares em quatro quadrantes de cada lado do tórax, de modo a auscultá-los individualmente e no mínimo durante dois ciclos respiratórios. (Durham, 2017)

Os sons pulmonares normais são sons suaves ouvidos com maior intensidade na inspiração do que na expiração e podem ser definidos como bronquiais, vesiculares e broncovesiculares (Ljungvall & Häggström, 2020). Assim sendo, os sons bronquiais são sons altos e ásperos resultantes da turbulência do fluxo aéreo gerado ao nível da traqueia (Englar, 2019). Além disso, são sons mais altos e longos durante a expiração do que na inspiração, pelo que a sua presença na periferia pulmonar está associada a doença pulmonar (Johnson & Fuentes, 2016). Em contrapartida, os sons vesiculares são os sons pulmonares característicos ao nível dos bronquíolos e são ouvidos durante a inspiração (Englar, 2019). Por fim, os sons broncovesiculares são produzidos durante a inspiração e expiração, resultando na combinação da duração e qualidade dos sons bronquiais e vesiculares (Johnson & Fuentes, 2016).

Existem diversos sons respiratórios cuja presença pode ser considerada anormal (como o caso de crepitações, sibilos, estertores, estridores, sons abafados e até ausência de sons) (Durham, 2017), sendo que a caracterização da fase específica do ciclo respiratório em que ocorrem irá contribuir para a categorização dos mesmos e, consequentemente, associação com possíveis patologias (Johnson & Fuentes, 2016).

As crepitações são sons não musicais, descontínuos (Ljungvall & Häggström, 2020), que podem ser classificados como finos ou grossos (Aiello & Moses, 2016) e são audíveis em qualquer momento da inspiração, podendo ser também durante a expiração (Johnson & Fuentes, 2016). Estes sons resultam da presença de fluido/muco nas vias aéreas ou da sua rápida abertura (Johnson, 2020). As crepitações finas normalmente têm uma origem alveolar ou bronquial (Carey, 2017) e ocorrem quando existe a abertura das vias aéreas inferiores que estavam obstruídas (Englar, 2019). Por outro lado, as crepitações grossas resultam da passagem do fluxo aéreo através das vias aéreas superiores repletas de secreções intraluminais (Carey, 2017; Englar, 2019). É relevante salientar que a presença de crepitações tende a estar relacionada com diversos distúrbios pulmonares, pelo que se o animal apresentar uma FC baixa a normal é pertinente suspeitar de doença pulmonar primária, mas se a FC estiver elevada, o quadro pode ser sugestivo de ICC (Durham, 2017).

Os sibilos são sons musicais contínuos e cuja presença está relacionada com o

estreitamento das vias aéreas (Carey, 2017), por estarem mais espessadas ou reativas (Englar, 2019). A sua ocorrência é evidenciada em fenômenos como o colapso da traqueia e a broncoconstrição por inalação de fumo ou asma (Durham, 2017). Estes sons podem ser de elevada ou baixa frequência, dependendo se o estreitamento ocorre nas vias aéreas inferiores ou superiores, respetivamente (Carey, 2017).

Os estertores são sons de ronco descontínuos produzidos pela passagem do ar através de uma obstrução de tecido mole nas vias aéreas superiores (Johnson, 2020). Por outro lado, os estridores são sons contínuos inspiratórios de elevada frequência (Carey, 2017) indicativos da passagem do ar sobre uma obstrução rígida, que pode surgir desde a laringe até à traqueia cervical (Johnson, 2020). É relevante salientar que tanto os estertores como os estridores são sons que podem ser audíveis sem a utilização do estetoscópio, contudo, nalgumas instâncias, a auscultação cuidadosa ao nível da laringe pode ser necessária para conseguir identificar alguns estridores subtis (Johnson, 2020).

A ausência de sons respiratórios ou abafamento dos mesmos normalmente reflete doença ao nível do espaço pleural, apesar da consolidação de um segmento pulmonar também poder contribuir (Johnson & Fuentes, 2016). Assim sendo, a sua localização será pertinente para identificar a natureza do distúrbio no espaço pleural, uma vez que a acumulação de fluidos tende a promover uma ausência de sons ventralmente, enquanto o pneumotórax promove dorsalmente (Carey, 2017).

2. Dirofilariose cardiopulmonar

A DCP é uma doença parasitária transmitida por vetores que afeta o sistema cardiovascular dos cães e cujo agente etiológico (*Dirofilaria immitis*) se encontra nas artérias pulmonares (APs) (Ljubica & Vesna, 2020), como demonstra a **Figura 2**.

As bactérias gram-negativas do género *Wolbachia* spp. são endossimbiontes obrigatórios de *D. immitis* (ESCCAP, 2019). Esta relação endossimbiótica é fundamental

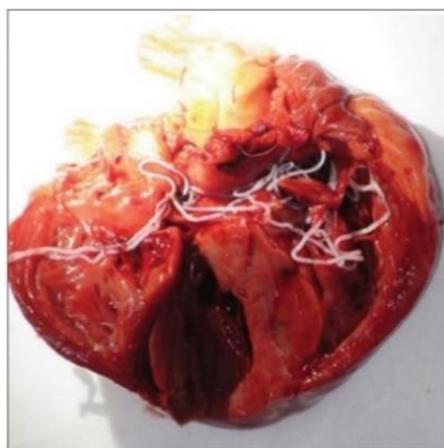


Figura 2 - *D. immitis* adultas presentes nas artérias pulmonares e câmaras cardíacas direitas do coração de um cão. Fonte: Tahir et al., 2019.

para o desenvolvimento normal do parasita, bem como a sua fertilidade e sobrevivência (Carretón et al., 2020a). Assim sendo, a *Wolbachia pipientis* encontra-se em todos os estádios de desenvolvimento da *Dirofilaria* spp. e é transmitida juntamente com o nemátode pelos vetores aos hospedeiros vertebrados (Diniz, 2020). Além disso, esta bactéria parece contribuir para a doença pulmonar e glomerular exibida nos cães com DCP (Diniz, 2020).

Os vetores responsáveis pela transmissão desta doença são dípteros hematófagos, nomeadamente mosquitos pertencentes aos géneros *Aedes*, *Anopheles* e *Culex* (Panetta et al., 2021). Estes culicídeos apresentam uma baixa especificidade nos seus hospedeiros, fazendo com que exista uma panóplia de mamíferos que podem ser infetados (ESCCAP, 2019). Por conseguinte, estes animais poderão desenvolver a doença ou tornarem-se reservatórios domésticos ou selvagens da mesma (Otranto & Deplazes, 2019).

A *Dirofilaria immitis* também apresenta uma baixa especificidade nos seus hospedeiros vertebrados (Alho et al., 2017), contudo só os cães e alguns canídeos selvagens é que são considerados hospedeiros definitivos (AHS, 2020). Os gatos e os furões são considerados hospedeiros suscetíveis, mas não são ideais (ESDA, 2017b). Em termos fisiopatológicos, os gatos demonstram uma certa resistência à infeção, uma vez que nem todas as larvas de *D. immitis* se conseguem desenvolver até ao seu estadio adulto e a vida útil dos parasitas adultos é relativamente reduzida (dois a quatro anos) em comparação com a dos que se encontram nos cães (cinco a sete anos) (ESDA, 2017b). Além disso, os gatos tendem a apresentar alterações pulmonares mais severas e parasitas em localizações ectópicas (Pennisi et al., 2020). Em contrapartida, nos furões é mais característico a evidência da síndrome da veia cava (SVC) (Simón et al., 2012).

No que diz respeito aos hospedeiros selvagens que podem atuar como animais reservatórios, fazem parte os lobos, coiotes, chacais, raposas (Otranto & Deplazes, 2019), guaxinins, felídeos selvagens, ursos pretos, leões marinhos (Pennisi et al., 2020), lontras, focas-comuns e os lobos marinhos da África do Sul (Alho et al., 2017). Em Portugal, os animais que foram identificados com *D. immitis*, permitindo a manutenção da infeção em ambiente silvático (Otranto & Deplazes, 2019), foram os lobos, as raposas (Gomes-de-Sá et al., 2022), os pinípedes identificados anteriormente e as lontras (Alho et al., 2017).

Por fim, é relevante evidenciar que a DCP é uma doença com potencial zoonótico (Hays et al., 2020), na medida em que os humanos podem ser hospedeiros acidentais (Noack et al., 2021).

2.1- Ciclo de vida

A *Dirofilaria immitis* possui um ciclo de vida indireto, como demonstra a **Figura 3**, uma vez que requer mais do que um hospedeiro para completar o seu desenvolvimento e reproduzir-se (ESCCAP, 2021). Assim sendo, o parasita requer, por um lado, um hospedeiro mamífero definitivo, onde consiga atingir a sua fase adulta e se reproduzir sexualmente. Por outro lado, também será necessário um hospedeiro intermediário (vetor), onde a descendência (microfilárias) se irá desenvolver (Noack et al., 2021). Posteriormente, a mesma será inoculada noutra hospedeiro definitivo durante a alimentação do culicídeo (Noack et al., 2021).

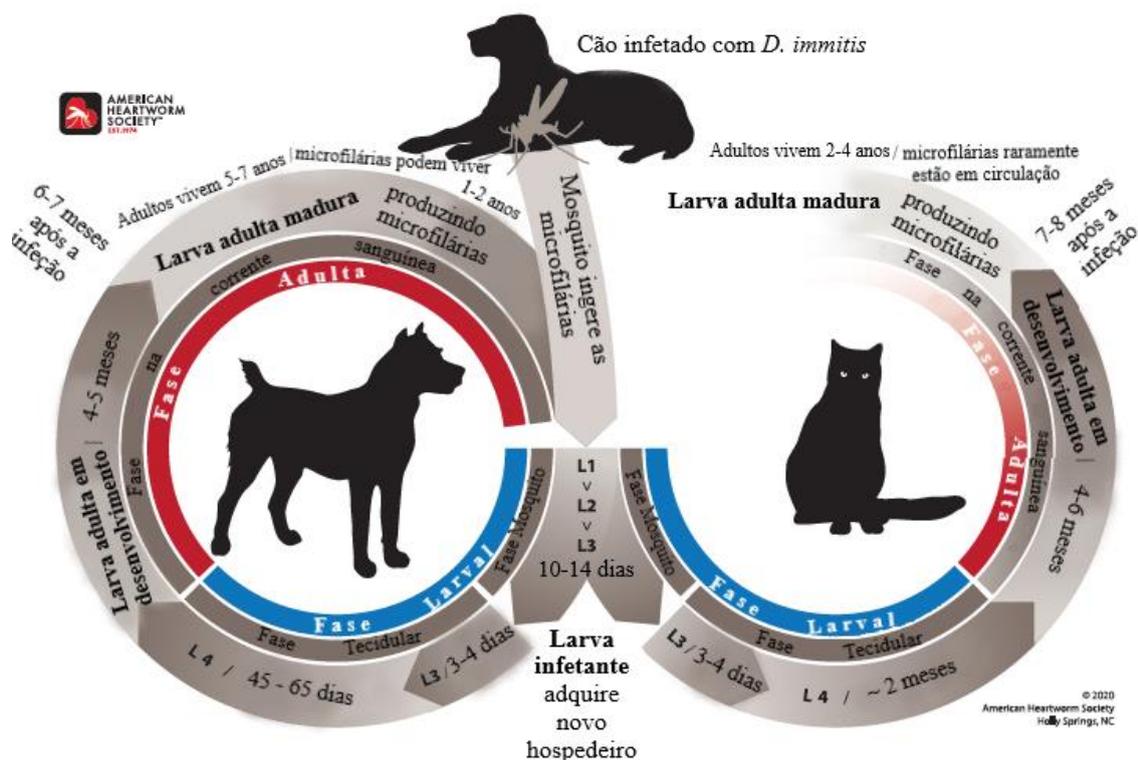


Figura 3 – Ciclo de vida de *D. immitis* em cães e gatos. Fonte: adaptado de AHS, 2020.

O ciclo inicia-se quando um mosquito (vetor) se alimenta de um hospedeiro mamífero definitivo infetado, ou seja, que possua microfilárias (estadio imaturo larvar

do parasita) em circulação (microfilarémico) (AHS, 2020). As microfilárias, que se encontram no primeiro estadio de desenvolvimento (L1), após serem ingeridas pelo mosquito (Moorhead, 2021) irão percorrer o intestino, acabando por migrar até aos túbulos de Malpighi (McCrea et al., 2020). Após chegarem a esta localização, as L1 irão invadir as células com o intuito de se desenvolverem intracelularmente até ao seu estadio infetante (L3) (McCrea et al., 2020). Em seguida, as L3 deslocar-se-ão até às glândulas salivares e o aparato bucal do mosquito (Summers, 2020), como podemos observar através da **Figura 4**.

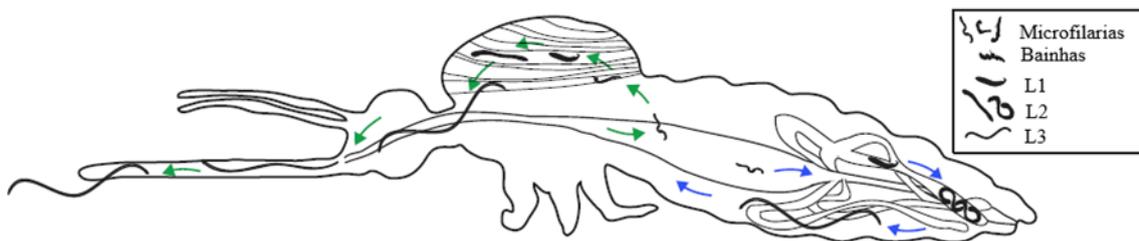


Figura 4 – Desenvolvimento e migração de *D. immitis* dentro de um hospedeiro intermediário (mosquito) suscetível. As microfilárias movimentam-se dentro do intestino médio do mosquito e migram para os túbulos de Malpighi. O desenvolvimento desde L1 até L3 encontra-se representado pelas setas azuis. Fonte: adaptado de Bartholomay, 2014.

É relevante referir que o tempo necessário para o desenvolvimento das microfilárias, desde L1 até L3, dentro do vetor está dependente da temperatura e da humidade relativa (AHS, 2020). Assim sendo, para que todo este processo decorra dentro de 10 a 14 dias é essencial que esta ronde os 27°C e exista 80% de humidade relativa (AHS, 2020).

Por conseguinte, quando o mosquito se for alimentar de outro hospedeiro mamífero definitivo, normalmente os cães, irá introduzir as L3 juntamente com a hemolinfa na ferida infligida pela picada (ESCCAP, 2019), iniciando-se a fase tecidular (AHS, 2020). Após terem sido inoculadas, as L3 permanecerão durante aproximadamente três a quatro dias próximo do local de entrada (Moorhead, 2021). Durante este período ocorrerá a muda para larvas no quarto estadio de desenvolvimento (L4) e, de seguida estas irão migrar ao longo do tecido subcutâneo e da musculatura (Moorhead, 2021).

O estadio adulto inicia-se com a muda final para larva adulta juvenil que ocorre

durante a migração da larva pelo corpo, até que atinja a corrente sanguínea (Summers, 2020). Posteriormente, a larva irá alcançar a vasculatura pulmonar, onde se irá transformar em larva adulta madura (Summers, 2020). A localização das larvas adultas maduras parece estar dependente do tamanho do cão e da sua carga parasitária (AHS, 2020), uma vez que animais com elevadas cargas parasitárias tendem a apresentar *D. immitis* adultas no ventrículo direito (VD) (Noack et al., 2021). Estes animais encontram-se mais propensos a desenvolver a SVC, onde os parasitas presentes no VD podem ter movimentos retrógrados para o AD e as veias cavas (VCs) (AHS, 2020).

A maturidade sexual das dirofilárias ocorre seis a sete meses após a infecção (AHS, 2020), contudo as larvas adultas maduras podem viver até cinco a sete anos, nos cães, onde caso encontrem outra larva do sexo oposto irão acasalar e produzir microfilarías (Moorhead, 2021). Subsequentemente, estas serão libertadas para a corrente sanguínea dando continuidade ao ciclo de vida deste parasita (ESCCAP, 2019).

2.2– Epidemiologia

A emergência ou reemergência de infecções zoonóticas (infecções que podem ser transmitidas dos animais aos seres humanos) tem enfatizado a importância da vida selvagem na dispersão de novos agentes aos humanos (Otranto & Deplazes, 2019).

Existem diversos fatores que contribuem para a dispersão da DCP como é o caso da crescente urbanização (Alho et al., 2018), as alterações climáticas (Pennisi et al., 2020) e a existência de atividades comerciais que possam facilitar a introdução de espécies exóticas de mosquitos (Simón et al., 2017). De uma maneira geral, todos estes fatores irão contribuir para a criação de microambientes favoráveis ao desenvolvimento do parasita (AHS, 2020) e à sua transmissão (Pennisi et al., 2020). Adicionalmente, as falhas nos métodos preventivos implementados em cães (Alho et al., 2018) também desempenham um papel significativo na dispersão da doença (Noack et al., 2021), na medida em que permitem a presença de animais microfilarémicos (ESCCAP, 2019) que, conseqüentemente, poderão ser transportados ou relocados para países considerados livres da doença (Noack et al., 2021). Além disso, é relevante evidenciar que o gênero masculino nos cães foi identificado como fator de risco da DCP (Pariat et al., 2020).

A *Dirofilaria immitis* tem uma distribuição a nível mundial, encontrando-se

presente em regiões tropicais, subtropicais e temperadas. A sua prevalência global de infecção encontra-se na ordem dos 10,91% (com 95% de intervalo de confiança). (Anvari et al., 2019)

No que diz respeito à sua prevalência intracontinental, o continente que demonstrou a prevalência de infecção mais elevada foi a Oceânia (com 22,68%), seguindo-se a Ásia (com 12,07%), a América (com 11,60%), a Europa (com 10,45%) e, por fim, a África (com 7,57%), como demonstra a **Figura 5**. Dentro destes, a Espanha e o Canadá são os países que apresentaram maior e menor prevalência, com os valores de 19,25% e 0,16%, respetivamente. (Anvari et al., 2019)

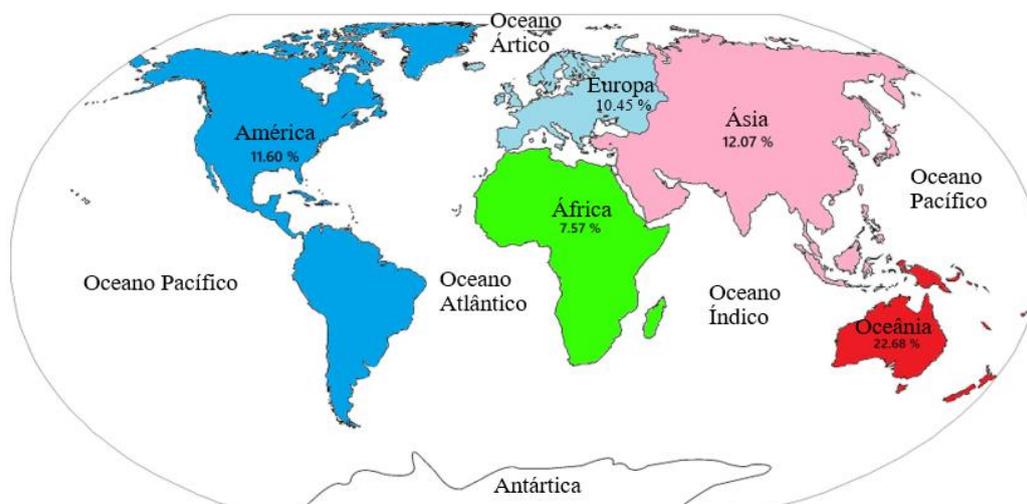


Figura 5 - Mapa mundial demonstrando a prevalência de *D. immitis* em cães.

Fonte: adaptado de Anvari et al., 2019.

Em relação à distribuição europeia de *D. immitis*, os países endémicos encontram-se em grande parte na região mediterrânea, apesar de também ter sido identificada em países da Europa Central, bem como países da Europa de Leste, como evidencia a **Figura 6**. Assim sendo, os países mediterrâneos endémicos são Portugal, Espanha, Itália, Eslovénia, Croácia, Sérvia, Bósnia e Herzegovina, Montenegro, Albânia, Macedónia, Grécia e Chipre. Os que são considerados na Europa Ocidental, são a Hungria e a Áustria, apesar de no sul da Suíça e da França terem sido reportados casos. Por fim, os países endémicos da Europa de Leste são a Rússia, a Ucrânia, a Eslováquia, a Moldávia, a Roménia, a Bulgária e a Turquia. (ESCCAP, 2021)



Figura 6 - Distribuição da prevalência de *D. immitis* e *D. repens* em cães, na Europa.
 Fonte: ESCCAP, 2021.

De uma maneira geral, todos os países europeus com prevalência de *D. immitis* também reportaram casos de *Dirofilaria repens*. No entanto, existem países onde só foram reportados casos de *D. repens*, como o caso da Bélgica, dos Países Baixos, da Chéquia, da Polónia, da Bielorrússia, da Letónia, da Lituânia e algumas zonas na Alemanha (próximo de Frankfurt e Berlim). (ESCCAP, 2021)

Em Portugal continental, a infeção canina varia, aproximadamente, entre 4% (em cães aparentemente saudáveis) e 9% (em cães suspeitos clinicamente) (Grenchi & Kramer, 2019). Existe maior prevalência nas regiões do sul (nomeadamente Algarve, Alentejo e Lisboa), apesar de relatórios epidemiológicos e clínicos recentes sugerirem uma mudança no padrão de distribuição do parasita, para áreas de maior latitude e climas mais frios. (Alho et al., 2018)

A ilha da Madeira é considerada uma área hiperendémica por apresentar números de casos relativamente estáveis com o passar dos anos e prevalências elevadas, rondando os 30% (Alho et al., 2018).

2.3– Prevenção

A DCP é uma doença que pode ser prevenida (ESDA, 2017a). A abordagem

multimodal de controlo de risco encontra-se recomendada, uma vez que permite quebrar o ciclo de transmissão (Ljubica & Vesna, 2020). Esta metodologia consiste na administração de lactonas macrocíclicas juntamente com a utilização de repelentes ou ectoparasiticidas tópicos em cães, bem como a implementação de outras medidas que visam controlar o vetor (AHS, 2020).

As lactonas macrocíclicas são os únicos fármacos preventivos da DCP atualmente aprovados pela *Food and Drug Administration* no mercado (AHS, 2020). Estas podem ser divididas em dois grupos: as avermectinas (ivermectina e selamectina) e as milbemicinas (milbemicina oxima e moxidectina) (Noack et al., 2021). O seu mecanismo de ação passa pelo bloqueio da transmissão de sinais neuronais do parasita, através da sua capacidade de ligação aos canais de cloro mediados pelo glutamato e pelo ácido gama-aminobutírico presentes nas células nervosas e musculares dos invertebrados (Vardanyan & Hruby, 2016). Assim sendo, este bloqueio ao promover a paralisação do parasita, irá influenciar a sua reprodução e alimentação, o que, consequentemente, contribuirá para a sua morte (Vardanyan & Hruby, 2016).

Neste caso, a utilização destes fármacos visa destruir os estadios juvenis de *D. immitis* antes da sua migração até à AP, de modo a prevenir o desenvolvimento em dirofilárias adultas e o início dos sinais clínicos de infeção (ESCCAP, 2021). A sua administração em cães pode ser feita por três vias: oral, tópica ou parentérica (AHS, 2020).

No que diz respeito às avermectinas, a ivermectina demonstra atividade num amplo espectro de parasitas nemátodes, bem como em artrópodes como pulgas, ácaros, piolhos e algumas espécies de carraças, apesar de não atuar contra os cestodes e trematodes (Noack et al., 2021). Por outro lado, a selamectina tem atividade contra *D. immitis*, pulgas, piolhos, ácaros auriculares e ascarídeos intestinais (Allerton, 2020).

A milbemicina oxima demonstra-se eficaz contra estadios imaturos e adultos de nemátodes gastrointestinais (como ancilostomídeos, tricurídeos e ascaridóides), parasitas cardiopulmonares e ácaros (Noack et al., 2021). Por sua vez, a moxidectina é eficaz contra nemátodes cardiopulmonares e gastrointestinais, tendo sido comprovada a sua capacidade de promover uma menor seleção dos parasitas para a resistência das lactonas macrocíclicas, em comparação com as avermectinas (Prichard & Geary, 2019). Além disso, é a lactona macrocíclica mais lipofílica, conferindo uma maior distribuição

tecidualar (Savadelis et al., 2022).

Não obstante o facto das lactonas macrocíclicas serem agentes eficazes e seguros na prevenção da DCP, existem alguns cães que estão mais propensos a desenvolver efeitos neurológicos após a sua administração (Geyer & Janko, 2012). Isto pode resultar de interações farmacológicas (Gwaltney-Brant et al., 2018) ou destes animais apresentarem uma mutação no gene MDR1 (também conhecido como gene ABCB1) (Marelli et al., 2020).

O gene MDR1 é responsável por codificar a p-glicoproteína (p-gp), que faz parte da superfamília de transportadores de efluxo ABC (Bloise & Matthews, 2019). Estes transportadores são responsáveis por atuar na membrana das células com o intuito de transportar diversos fármacos, limitando a sua acumulação intracelular ou dos seus metabolitos (Bloise & Matthews, 2019), como demonstra a **Figura 7**.

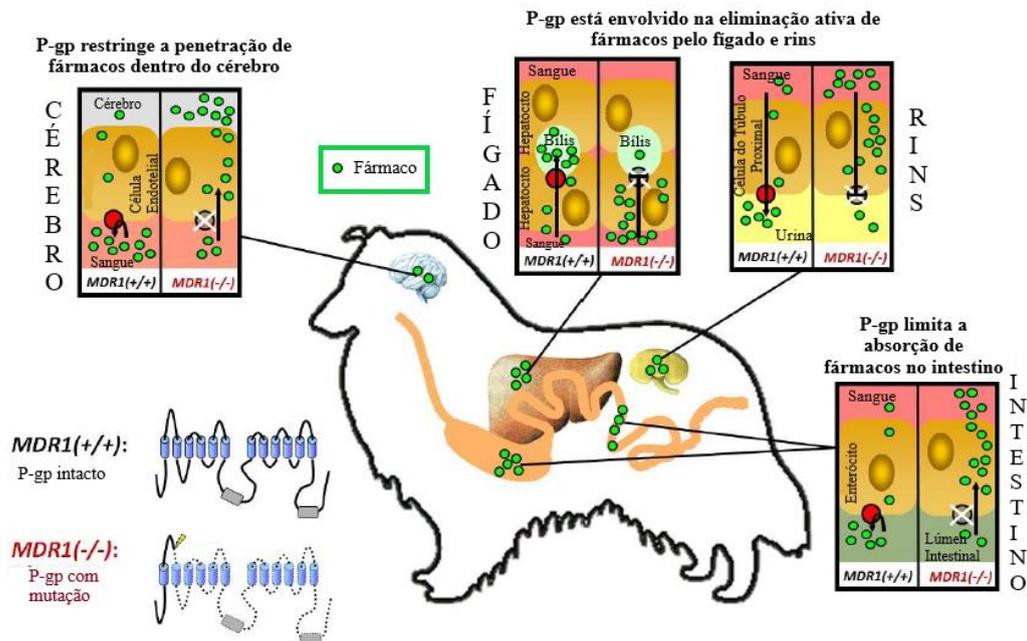


Figura 7 - Papel desempenhado pela p-glicoproteína (p-gp) na distribuição de fármacos pelo organismo dos cães. A p-gp (representada como um círculo vermelho) é um transportador de efluxo ABC, que transporta os seus substratos para o exterior das células. Os cães que possuem a p-gp intacta, vão limitar a entrada destes substratos em diversos tecidos, como o cérebro, e irão promover a sua eliminação pela bÍlis e urina. Em contrapartida, os cães com mutação na p-gp, apresentarão um aumento da absorção entérica dos seus substratos, redução na sua eliminação biliar e urinária e aumento da permeabilidade das barreiras hematotécidualares. Fonte: adaptado de Geyer & Janko, 2012.

A expressão da p-gp foi observada em diversos tecidos com funções secretórias ou excretórias, como as glândulas adrenais, o pâncreas, os intestinos, os rins e o fígado (Soussa et al., 2019), bem como em tecidos com funções protetoras como o cérebro (barreira hematoencefálica), os testículos (barreira hemato-testicular), o útero e a placenta (barreira placentária) (Firdova et al., 2016).

A p-gp tem um amplo espectro de substratos que inclui: hormonas (glucocorticoides endógenos, aldosterona, estriol, estrona, pregnenolona, hidroxiprogesterona e testosterona), citoquinas anti e pró-inflamatórias (interleucinas, interferão-gama (IFN- γ , do inglês *gamma interferon*) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α , do inglês *tumor necrosis factor alpha*)), quimiocinas e xenobióticos, incluindo toxinas ambientais (pesticidas e herbicidas), glucocorticoides sintéticos (betametasona, dexametasona, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisona e prednisolona), agentes antidepressivos (amitriptilina, doxepina, fluvoxamina, imipramida e paroxetina) (Bloise & Matthews, 2019), analgésicos (butorfanol, morfina, buprenorfina, fentanil e loperamida), sedativos (acepromazina), eméticos (apomorfina), inotrópicos (digoxina), antiparasitários (ivermectina, selamectina, milbemicina oxima e moxidectina), antibacterianos (doxiciclina), imunossupressores (ciclosporina) e antineoplásicos (vincristina, vimblastina, doxorubicina e paclitaxel) (AHS, 2020).

Existem diversas raças que já foram identificadas por apresentarem cães com a mutação no gene MDR1, como é o caso da: Border Collie, Rough Collie, Smooth Collie, Bearded Collie (Marelli et al., 2020), Pastor Australiano, Pastor Alemão, Old English Sheepdog, Whippet de pêlo longo, Silken Windhound, Pastor de Shetland, Wäller e Pastor Branco Suíço (Gwaltney-Brant et al., 2018). É relevante referir que as doses preventivas padrões de todas as lactonas macrocíclicas demonstraram-se seguras em todas estas raças (AHS, 2020), desde que seja respeitada a via de aplicação e a dose preventiva recomendada (Geyer & Janko, 2012). Ainda assim, é prudente que seja realizado um teste genético para esta mutação em todos os cães destas raças ou resultantes do cruzamento com estas, antes de serem administrados fármacos que sejam substratos da p-gp (Noack et al., 2021).

De uma maneira geral, a prevenção através da administração mensal de lactonas macrocíclicas deve ser iniciada antes da época sazonal dos mosquitos, que normalmente se inicia na primavera e prolonga-se até ao fim do outono (ESCCAP, 2019). Além

disso, os cachorros devem iniciar o seu regime profilático, entre as seis e as oito semanas de idade (Ljubica & Vesna, 2020). Caso a prevenção seja iniciada após as oito semanas de idade, os animais devem ser testados seis meses após a dose inicial de lactona macrocíclica e, posteriormente, anualmente para a presença de microfilárias e antigénio de *D. immitis* (AHS, 2020).

Para cães que vivam em áreas com baixa incidência de *D. immitis*, a administração de lactonas macrocíclicas ao longo do ano encontra-se recomendada, uma vez que a existência de microambientes favoráveis aos vetores faz com que os animais possam estar expostos durante todo o ano (ESDA, 2017a). Em contrapartida, em áreas consideradas endêmicas ou hiperendêmicas é recomendada uma abordagem multimodal anual (AHS, 2020).

No que diz respeito aos cuidados a ter antes de serem realizadas viagens com os animais de companhia, no caso destas serem efetuadas de áreas endêmicas para áreas não endêmicas, os cães devem ser submetidos a um exame completo incluindo a testagem para a presença de microfilárias e dirofilárias adultas, podendo vir a ter de ser submetidos a tratamento caso estejam infetados. Se a história clínica do animal for desconhecida, deve ser instituído um tratamento profilático durante dois meses, com o intuito de destruir as larvas imaturas que possam estar a migrar. Além disso, o animal deve ser testado para a presença de microfilárias e parasitas adultos seis a doze meses mais tarde. (ESCCAP, 2019)

Por outro lado, se as viagens forem realizadas de áreas não endêmicas para áreas endêmicas, os animais devem ser tratados com lactonas macrocíclicas dentro de 30 dias após a chegada às áreas de risco (ESCCAP, 2019). Assim sendo, se a estadia não ultrapassar um mês, pode ser feito um único tratamento mensal que pode ser iniciado quando regressarem ao país de origem (ESDA, 2017a). Por outro lado, se a estadia for mais longa, deverá ser iniciado um regime de tratamento mensal dentro de 30 dias após a chegada do animal à área endêmica, prolongando-se até 30 dias após a chegada ao país de origem (ESDA, 2017a).

É relevante salientar que apesar da ocorrência de resistência às lactonas macrocíclicas ser reconhecida pela *American Heartworm Society (AHS)* e *Companion Animal Parasite Council (CAPC)* (Noack et al., 2021), ainda não foi comprovada a existência de resistência na Europa (ESCCAP, 2019). No entanto, com o intuito de

evitar que tal ocorra num futuro próximo, a *European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (ESCCAP)* realizou algumas recomendações que podem auxiliar na diminuição do risco de seleção para a resistência (ESCCAP, 2019). Estas recomendações incluem a adoção de uma abordagem multimodal para a prevenção da DCP canina, bem como a realização de testes para a detecção de antígeno de *D. immitis* e microfilárias em circulação no sangue dos cães, antes destes iniciarem o tratamento preventivo anual (ESCCAP, 2019). Adicionalmente, nos cães infetados também se encontra recomendada a realização de um tratamento antibiótico prolongado, com o intuito de remover as bactérias *Wolbachia* spp. que estejam nas microfilárias em circulação (ESCCAP, 2019). Estes cuidados são especialmente importantes a ser implementados em zonas onde exista uma densa população canina, como o caso dos *canis* (ESCCAP, 2021).

Não obstante o facto de terem sido realizados diversos estudos com o intuito de desenvolver vacinas eficazes contra a DCP canina, atualmente não existe comercialização de qualquer tipo de vacinas contra este agente, uma vez que a resposta imunitária promovida se demonstrou ser inferior à desencadeada pelas lactonas macrocíclicas (Carithers, 2017).

A utilização de repelentes tópicos contendo piretrinas sintéticas, deltametrina ou permetrina é importante no controlo dos vetores (Tahir et al., 2019), na medida em que impossibilita a alimentação realizada pelos mosquitos (AHS, 2020). Além disso, a administração tópica de permetrinas com dinotefuran demonstrou ser um repelente eficaz durante pelo menos quatro semanas (ESCCAP, 2021). No entanto, a utilização de ectoparasiticidas que promovam a morte do mosquito três dias após ter entrado em contacto ou se alimentado de um animal tratado, também contribui para a redução da população local dos vetores (AHS, 2020).

Atualmente, existem diversas formulações disponíveis no mercado de combinações entre lactonas macrocíclicas e agentes repelentes, com o intuito de conferir proteção a um maior número de agentes parasitários (Savadelis et al., 2022). As formulações orais Heartgard Plus® (Boehringer Ingelheim Animal Health USA Inc., Duluth, Georgia, Estados Unidos da América (EUA)), NexGard Spectra® (Boehringer Ingelheim Animal Health USA Inc., Duluth, Georgia, EUA) e Credelio Plus® (Elanco France S.A.S., Huningue, França) demonstraram níveis de eficácia preventiva contra o

isolado JYD-34 resistente de *D. immitis* de 37,7%, 70% e 100%, respetivamente (Bowman et al., 2017; Young et al., 2021; Savadelis et al., 2022). Por sua vez, Simparica Trio® (Zoetis Inc., Parsippany-Troy Hills, New Jersey, EUA) demonstrou um nível de eficácia contra o isolado ZoeLA resistente de 97,2% (Savadelis et al., 2022). Por outro lado, a formulação tópica Advantage® Multi (Elanco US Inc., Greenfield, Indiana, EUA) apresentou níveis de eficácia de 100% face ao isolado JYD-34 resistente às lactonas macrocíclicas (Savadelis et al., 2022).

Para além disso, estudos mais recentes demonstraram a possibilidade de promover a ativação da imunidade do mosquito, com o intuito de inibir o desenvolvimento parasitário (Edgerton et al., 2020). Esta ativação pode ser desencadeada através da estimulação promovida por bactérias geneticamente modificadas (Epis et al., 2020), da ativação dos recetores do tipo Toll (TLR, do inglês *Toll-like receptors*), evidenciada na **Figura 8** (McCrea et al., 2020) e/ou da via de imunodeficiência nos túbulos de Malpighi dos mosquitos (Edgerton et al., 2020).

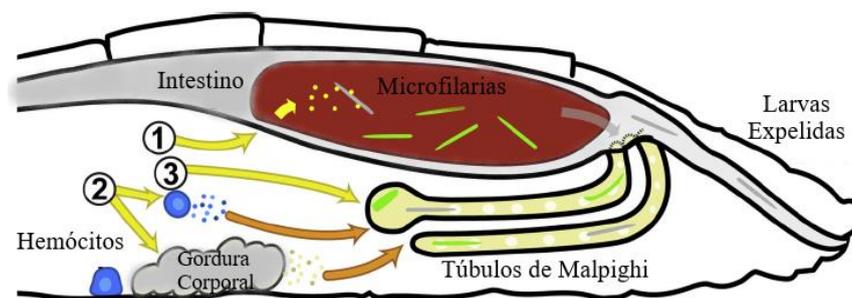


Figura 8 - Ativação da via dos recetores do tipo Toll (TLR) nos mosquitos, com o propósito de reduzir a infeção por *D. immitis*. (1) A ativação dos TLR no intestino, promove a secreção de moléculas imunes, que irão danificar uma fração das microfilárias ingeridas. (2) A ativação dos TLR nos tecidos imunes, como a gordura corporal e os hemócitos, confere alterações na hemolinfa, que irão interferir com a função dos túbulos de Malpighi. (3) A ativação direta dos TLR nos túbulos de Malpighi, causa a rejeição de uma fração de microfilárias. Em todos os casos, as microfilárias/larvas danificadas ou mortas (representadas a cinzento) irão para o intestino posterior e serão eliminadas junto com os resíduos do mosquito. As microfilárias/larvas vivas encontram-se representadas a verde. Fonte: adaptado de McCrea et al., 2020.

Outras medidas de controlo dos vetores passam por colocar armadilhas para

mosquitos adultos (por exemplo, telas com redes mosquiteiras) (Alho et al., 2018), proceder à aplicação local de *sprays* inseticidas ou nevoeiros (AHS, 2020) e eliminar as fontes de água estagnada, onde os mosquitos se possam reproduzir (Alho et al., 2018). Se não for possível eliminar a água estagnada, esta deverá ser tratada com produtos químicos e/ou biológicos (AHS, 2020). Por fim, é de extrema relevância promover modificações de comportamentos de risco por parte da população, salientando a importância de limitar a exposição dos cães a áreas e períodos do dia em que os mosquitos se encontram mais ativos (AHS, 2020).

2.4– Fisiopatologia

2.4.1 – Hospedeiro intermediário (vetor)

Não obstante o facto das microfilárias de *D. immitis* terem de se desenvolver inicialmente no interior de um culicídeo, todo esse processo irá acarretar lesões significativas nos tecidos envolvidos. No entanto, dependendo do grau de resistência por parte da espécie de mosquito face à infeção, o desenvolvimento parasitário poderá ser comprometido. (Bartholomay, 2014)

Numa primeira instância, o parasita vai-se deparar com diversas barreiras fisiológicas presentes tanto no início do intestino médio, como no próprio lúmen intestinal (Bartholomay, 2014), estando estas evidenciadas na **Figura 9**.

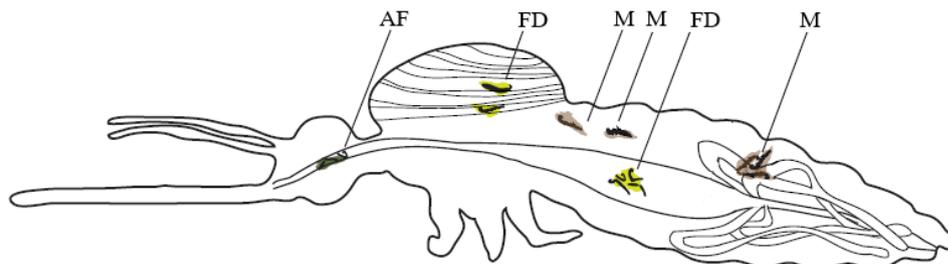


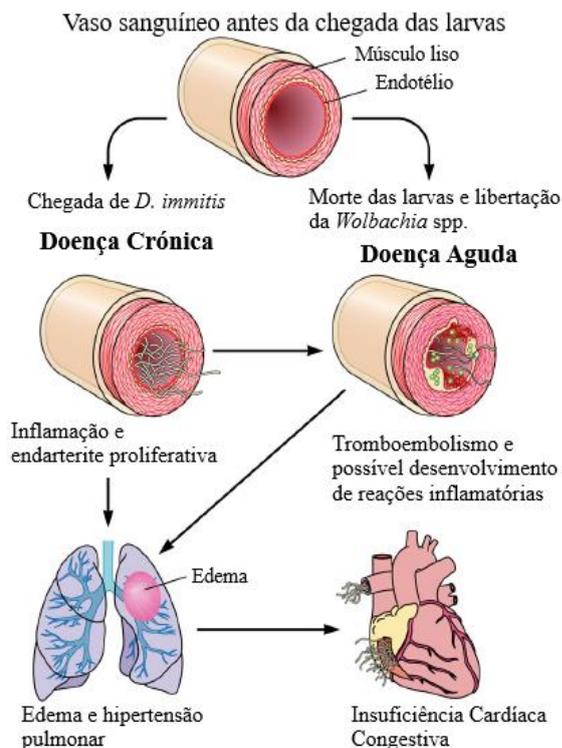
Figura 9 - Barreiras fisiológicas do mosquito face ao desenvolvimento de *D. immitis*: a armadura faríngea (AF) promove lesão mecânica na cutícula das microfilárias; a melanização (M) ocorre no hemocelo e ocasionalmente nos locais de desenvolvimento de *D. immitis*; outros fatores desconhecidos (FD) podem causar lesões adicionais. Fonte: adaptado de Bartholomay, 2014.

Mais tarde, vão ser desencadeadas respostas imunes, através da ativação dos TLR presentes no intestino, em tecidos imunes (hemócitos e gordura corporal) e nos

túbulos de Malpighi. Esta ativação irá promover a secreção de moléculas imunes (peptídeos antimicrobianos) que irão lesionar algumas microfilárias ou conferir alterações na hemolinfa, de modo a impedir a migração dos parasitas até aos túbulos de Malpighi. (McCrea et al., 2020)

Em contrapartida, as microfilárias conseguiram desenvolver diversas estratégias, com o fito de evitar as respostas imunes desencadeadas pelo hospedeiro intermediário. As estratégias desenvolvidas incluem o isolamento anatómico nos tecidos do culicídeo, a camuflagem para evitar o reconhecimento imune e a interferência para suprimir ou promover a disrupção das defesas do hospedeiro. (Bartholomay, 2014)

2.4.2 – Hospedeiro definitivo



As alterações patológicas iniciais no hospedeiro definitivo são promovidas pelo prolongamento da presença das dirofilárias nas APs por causarem traumas diretos no endotélio dos vasos sanguíneos (Ljubica & Vesna, 2020). Estas lesões irão promover o desenvolvimento da inflamação da parede do vaso (endarterite) e o espessamento da túnica íntima (Moorhead, 2021), contribuindo para o estreitamento do lúmen arterial (Romano et al., 2020), como demonstra a **Figura 10**.

Figura 10 - Progressão da DCP canina. A doença normalmente tem uma progressão crónica caracterizada pela inflamação e endarterite proliferativa desencadeada pela *D. immitis*. Numa fase inicial, a lesão cinge-se às artérias pulmonares, mas rapidamente progride para o parênquima pulmonar e as câmaras cardíacas direitas. A morte simultânea de larvas com a subsequente liberação de *Wolbachia* spp. contribui para a apresentação aguda da doença, caracterizada pelo tromboembolismo pulmonar e potencialmente reações inflamatórias. Fonte: adaptado de Simón et al., 2012.

As células endoteliais vasculares ao libertarem a endotelina 1, irão promover a vasoconstrição (Carretón et al., 2017a). Por conseguinte, as células endoteliais estarão mais espaçadas entre si, o que irá contribuir para uma alteração na elasticidade da parede arterial, acabando por facilitar a passagem de albumina, plasma e células sanguíneas para o espaço perivascular (Simón et al., 2012).

A ativação de leucócitos e plaquetas no local irá desencadear a libertação de fatores (como a endotelina 1) que induzem a proliferação de células do músculo liso com a acumulação de colagénio e fibrose (Carretón et al., 2017a) na túnica média vascular (Simón et al., 2012). Em seguida, estas células irão migrar para o lúmen e induzir a formação de vilosidades intravasculares (endarterite proliferativa pulmonar) (Simón et al., 2012). Todos estes fenómenos irão contribuir para o estreitamento ou oclusão do lúmen vascular promovendo um aumento na pressão arterial pulmonar, podendo existir o desenvolvimento de HP, se a infeção persistir (Ljubica & Vesna, 2020).

Por outro lado, a inflamação e a infeção promovida pelo parasita irá proporcionar a libertação de citocinas pró-inflamatórias (como as interleucinas 1 e 6 e o TNF- α) pelos macrófagos (Queiroz et al., 2016). Este fenómeno irá desencadear a síntese de proteínas de fase aguda (PFAs) a nível hepático, pelos hepatócitos, com o intuito de restabelecer a homeostasia e promover a regeneração dos tecidos afetados (Cray, 2012). Neste caso, as PFAs positivas, ou seja, cujos níveis plasmáticos se apresentam aumentados durante a resposta de fase aguda, face à DCP em cães são a proteína C-reativa e a haptoglobina, enquanto as PFAs negativas são a albumina e a paraoxonase 1 (PON-1) (Carretón et al., 2017a).

No que diz respeito à proteína C-reativa, a sua função passa pela proteção do organismo através da eliminação de agentes infecciosos por meio da ativação do sistema do complemento. Em contrapartida, a haptoglobina é uma PFA moderada e um pouco mais tardia, responsável pelo transporte de hemoglobina nas células do sistema mononuclear fagocitário. Além disso, esta proteína possui efeitos bacteriostáticos, estimula a angiogénese e atua na imunomodulação. (Queiroz et al., 2016)

A albumina, por sua vez, é a proteína mais abundante no plasma sanguíneo, servindo como fonte de nutrientes e reguladora da pressão osmótica (Cray, 2012). A redução dos seus níveis plasmáticos tende a estar relacionada com a redução da

produção por parte dos hepatócitos e aumento das perdas por eliminação renal (Queiroz et al., 2016), bem como a deposição de complexos imunes que irão prejudicar a filtração glomerular (Rusenov et al., 2015).

Por fim, a PON-1 é uma esterase cálcio-dependente, com função antioxidante, através da prevenção da lesão oxidativa promovida pelos parasitas adultos, tendo também uma contribuição notável na imunidade inata e na regulação da proliferação tecidual ou apoptose (Kina et al., 2021).

O edema perivascular, resultante da infecção, irá favorecer o desenvolvimento da consolidação pulmonar, cujo infiltrado pulmonar é composto por neutrófilos e eosinófilos (Ljubica & Vesna, 2020). A presença de neutrófilos deve-se ao facto das L3 de *D. immitis*, as microfilárias e as *Wolbachias* spp. induzirem a formação de armadilhas extracelulares pelos neutrófilos (NETs, do inglês *neutrophil extracellular traps*) (Muñoz-Caro et al., 2018), como demonstra a **Figura 11**.

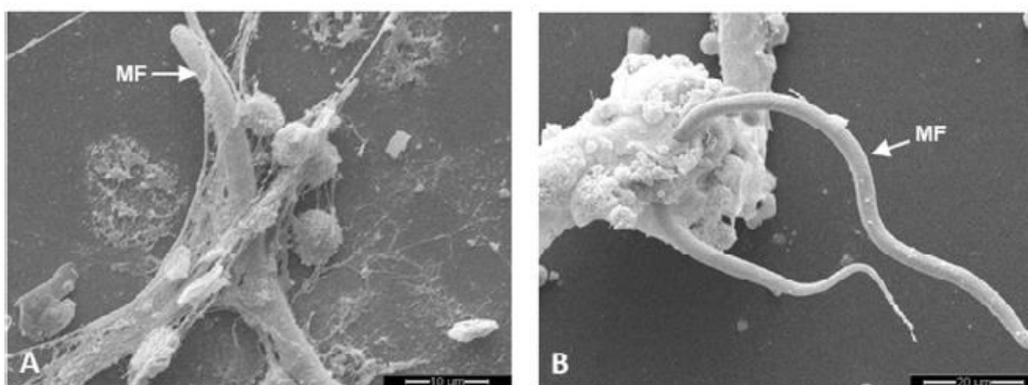


Figura 11 – Análise da formação de armadilhas extracelulares pelos neutrófilos (NETs) induzida pela presença de *D. immitis*, segundo a microscopia eletrónica de varredura (MEV). (A) Camada fina de NETs aprisionando uma microfilária (MF). (B) Malha de NETs agregadas entre si, aprisionando uma microfilária (MF). Fonte: Muñoz-Caro et al., 2018.

As NETs são capazes de induzir a morte e a remoção das microfilárias por via da citotoxicidade mediada por células dependentes de anticorpos (Muñoz-Caro et al., 2018). Contrariamente, as NETs induzidas por *D. immitis* irão promover a sua imobilização, mas este fenómeno irá propiciar efeitos adversos no endotélio, agravando as lesões apresentadas (Muñoz-Caro et al., 2018). Os eosinófilos, por sua vez, também são capazes de produzir armadilhas extracelulares que irão imobilizar as microfilárias (Ehrens et al., 2021). No entanto, este mecanismo pressupõe o sacrifício dos eosinófilos

(Ehrens et al., 2021). Além disso, alguns cães com DCP oculta demonstraram desenvolver uma reação inflamatória eosinofílica aos antígenos das microfilárias (pneumonia eosinofílica), o que contribui para uma disfunção alveolar e, conseqüentemente, hipoxemia, hipóxia e insuficiência respiratória severa (Simón et al., 2012).

No que diz respeito à imunidade adaptativa humoral desencadeada pelos diversos estádios de desenvolvimento do parasita, os mecanismos mediados por anticorpos são eficientes na eliminação das microfilárias, mas não face às larvas adultas (Simón et al., 2012). Em contrapartida, a resposta imune promovida pelos linfócitos T *helper* 2 (L-Th2) é estimulada pela presença das larvas de *D. immitis* e das microfilárias, enquanto a resposta por parte dos linfócitos T *helper* 1 (L-Th1) ocorre no momento da morte dos parasitas e conseqüente libertação da bactéria *Wolbachia* spp. (Simón et al., 2017), como demonstra a **Figura 12**.

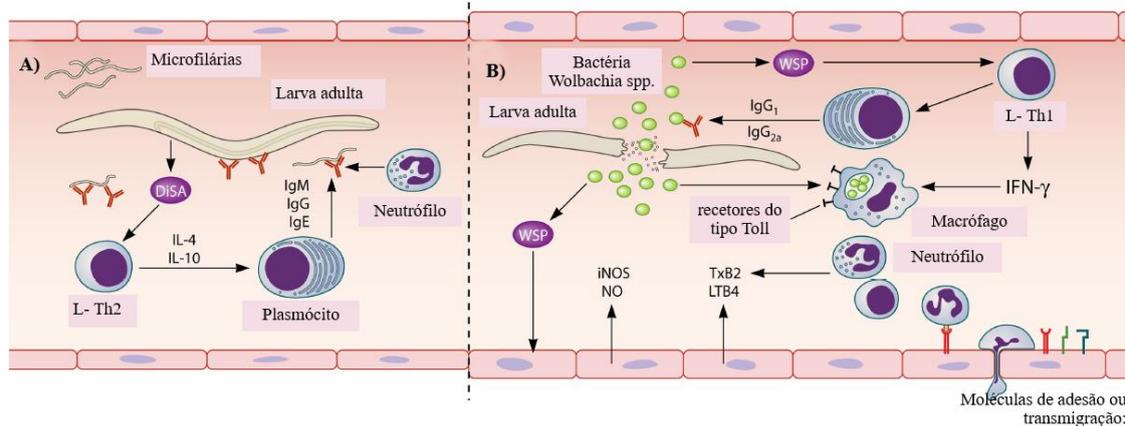


Figura 12 - Eventos imunes decorrentes da infecção por *D. immitis*, demonstrando respostas imunes distintas e específicas dos linfócitos T *helper* 2 (L-Th2) e T *helper* 1 (L-Th1). (A) A resposta anti-inflamatória promovida pelos L-Th2 é desencadeada pelos antígenos de *D. immitis* e a presença de microfilárias, conferindo a estimulação para a produção de interleucinas. Estas, por sua vez, irão estimular os plasmócitos a produzirem anticorpos característicos responsáveis por sinalizar os microorganismos patogênicos. (B) A resposta pró-inflamatória desencadeada pelos L-Th1 é estimulada pela libertação da bactéria *Wolbachia* spp. que advém da morte das larvas adultas. A proteína de superfície da *Wolbachia* spp. (WSP) estimula a expressão do interferão-gama (IFN-γ) que irá inibir a apoptose dos monócitos. Além disso, a *Wolbachia* spp. estimula a produção de anticorpos específicos e a expressão de mediadores pró-inflamatórios pelas células do endotélio vascular. Fonte: adaptado de Simón et al., 2012.

A resposta imune dos L-Th2 é caracterizada por níveis elevados das interleucinas 4 e 10, bem como a produção de imunoglobulina G1 (IgG1) (associada a microfilarémia) e imunoglobulina E (inerente aos antígenos excretados e secretados de *D. immitis* (DiE/S, do inglês *excretory/secretor antigens from D. immitis*)) (Foster & Elsheikha, 2012; Simón et al., 2012). Por outro lado, a resposta dos L-Th1 é desencadeada pela proteína de superfície da *Wolbachia* spp. (WSP, do inglês *Wolbachia surface protein*) que estimula a expressão do IFN- γ interagindo com os monócitos, possivelmente através dos TLR e inibindo a sua apoptose (Simón et al., 2012). Adicionalmente, a *Wolbachia* spp. irá estimular a produção de anticorpos (IgG2) e a expressão de mediadores pró-inflamatórios pelas células do endotélio vascular (Foster & Elsheikha, 2012; Simón et al., 2012).

Independentemente do estadió de desenvolvimento parasitário, os nemátodes para que consigam sobreviver e prosperar dentro do hospedeiro, terão de desenvolver mecanismos que propiciam a imunomodulação ou que evitem a vigilância imune (Martini et al., 2019), como é evidenciado na **Figura 13**.

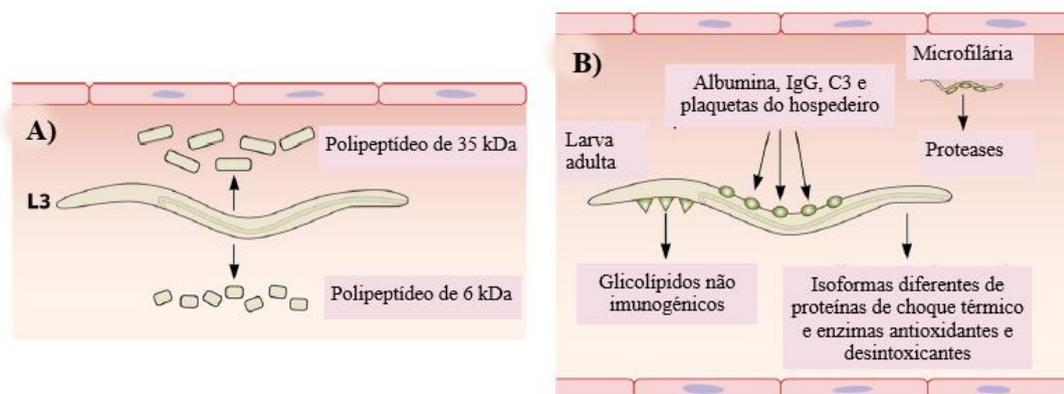


Figura 13 - Mecanismos de invasão imune de *D. immitis*. (A) A invasão imune a curto prazo promovida pelas larvas infetantes (L3) é realizada com o intuito de evitar a resposta imune do hospedeiro através da libertação de grandes quantidades de dois antígenos de superfície (polipeptídeos de 35 kDa e 6 kDa). (B) A invasão imune a longo prazo é promovida pelas larvas pré-adultas e/ou adultas através da absorção de diferentes moléculas e células do hospedeiro, que serão expostas à sua superfície. Além disto, estas larvas possuem glicolípidos não imunogênicos, proteínas de choque térmico e enzimas desintoxicantes que eliminam os produtos tóxicos sintetizados pelos macrófagos e neutrófilos. As microfilárias possuem proteases de superfície que irão digerir os anticorpos. Fonte: adaptado de Simón et al., 2012.

O mecanismo de invasão a curto prazo ocorre durante a muda das larvas L3 em L4, existindo a eliminação de cerca de 10% a 20% dos seus antígenos presentes à superfície, permitindo que a larva adquira um baixo perfil antigênico (Simón et al., 2012).

Em contrapartida, a permanência dos parasitas majoritariamente no sistema cardiovascular impõe que estes desenvolvessem mecanismos de invasão imune a longo prazo. Estes mecanismos incluem a absorção de células e moléculas do hospedeiro (por exemplo, albumina, IgG, fração 3 do complemento e plaquetas) por parte das larvas pré-adultas e adultas, expondo-as à sua superfície, bem como a presença de glicolípidos não imunogênicos que impede a ação das proteases na epicutícula parasitária. Adicionalmente, a *D. immitis* produz numerosas proteínas somáticas associadas à resposta de *stress* e à capacidade do parasita em interferir com as espécies reativas de oxigênio libertadas pelos neutrófilos e macrófagos. À semelhança, as microfilárias possuem na sua superfície proteases que irão digerir os anticorpos (IgG) que estejam ligados à sua epicutícula. (Simón et al., 2012)

Ocasionalmente, os parasitas podem-se apresentar em localizações ectópicas como o caso dos olhos, cérebro (Mircean et al., 2017), aorta abdominal (Grimes, Scott & Edwards, 2016), espaço epidural, saco pericárdico, brônquios, cavidade peritoneal, fígado e cavidade abdominal, resultantes de uma migração parasitária aleatória ou da presença de elevada carga parasitária (Pereira et al., 2021).

Por conseguinte, a presença de uma grande carga parasitária, a existência de uma elevada pressão ao nível da AP, a redução do DC (Romano et al., 2020) e/ou a maturação simultânea das larvas (Sidley, 2018), poderá favorecer o deslocamento retrógrado de um número variável de dirofilárias das APs até as câmaras cardíacas direitas, intervindo com o funcionamento da VT (Pariat et al., 2020). Este fenómeno pode inclusive obstruir o fluxo sanguíneo que chega ao AD (retorno venoso) se os parasitas alcançarem as VCs (Romano et al., 2020), promovendo a SVC (Ames & Atkins, 2020), como demonstra a **Figura 14**. Assim sendo, a SVC irá providenciar uma

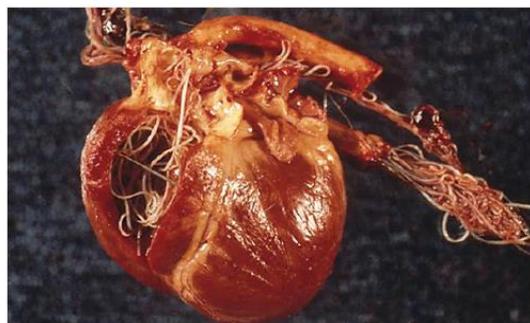


Figura 14 - Cão com síndrome da veia cava. Fonte: Sidley, 2018.

sobrecarga de volume e de pressão ao nível do AD e da VC caudal, com um aumento significativo na pressão venosa e maior dificuldade na circulação de retorno, podendo culminar na morte do animal devido ao surgimento de hemólise, hemoglobinúria ou coagulação intravascular disseminada (CID) (Simón et al., 2012).

A morte das dirofilárias presentes nas APs resultará na sua decomposição em pequenos fragmentos, que serão transportados pelo fluxo sanguíneo para os vasos pulmonares de menor calibre (Moorhead, 2021). Este fenómeno juntamente com a inflamação local e a agregação plaquetária irá promover a formação de trombos que poderão bloquear parcialmente ou obstruir o fluxo sanguíneo local resultando em tromboembolismo pulmonar (TEP) (Nelson, 2015). É relevante salientar que a obstrução promovida por trombos poder ocorrer noutras artérias, comprometendo a drenagem de determinados tecidos e, conseqüentemente, favorecendo o surgimento de lesões isquémicas (Carretón et al., 2017a). Por outro lado, a hipóxia promovida pelo desequilíbrio entre a ventilação e a perfusão secundário ao TEP, bem como a libertação de substâncias vasoativas pelas células endoteliais vasculares irá desencadear um estado vasoconstritivo prolongado, promovendo um estado hipertensivo e, conseqüentemente, o desenvolvimento de HP (Carretón et al., 2017a).

A presença da *Wolbachia pipientis* na circulação sanguínea, resultante da morte do parasita (adulto ou microfilárias) ou das suas sucessivas mudas (Diniz, 2020), permitirá a exposição das WSP ao sistema imune do hospedeiro (Moorhead, 2021). Este fenómeno irá desencadear a produção de citocinas inflamatórias e vasoativas, propiciando a exacerbação da inflamação local e a vasoconstrição das APs (Diniz, 2020), acabando por agravar a HP. Além disso, as células do endotélio vascular também vão ser ativadas pela WSP e pelo antígeno somático de *D. immitis* (DiSA, do inglês *D. immitis somatic antigen*), favorecendo a produção de eicosanóides pró-inflamatórios (como o tromboxano B2 e o leucotrieno B4), bem como o aumento dos níveis de expressão de moléculas associadas à adesão e migração leucocitária, à proliferação celular e à enzima óxido nítrico sintase induzida e endotelial (Simón et al., 2012).

Por outro lado, a sua associação com as microfilárias presentes na circulação sanguínea contribuirá para a deposição de complexos imunes ao nível das membranas sinoviais ou das paredes dos capilares glomerulares, promovendo o desenvolvimento da poliartrite reativa ou da glomerulonefrite proliferativa, respetivamente (Ljubica e Vesna,

Depois do SRAA ser ativado, existirá o aumento da síntese de renina pelas células do aparelho justaglomerular com a sua subsequente liberação para a circulação, onde irá atuar sobre o angiotensinogênio circulante convertendo-o em angiotensina I. Posteriormente, nos pulmões, a angiotensina I será convertida pela enzima conversora da angiotensina em angiotensina II. Existem inúmeras funções desempenhadas pela angiotensina II, dependendo dos receptores ativados, pelo que se forem os receptores AT1, existirá vasoconstrição ao nível renal, aumento na retenção de sódio, estimulação do centro da sede e do SNS, bem como aumento da liberação de aldosterona pela zona glomerular da glândula adrenal. No entanto, se forem os receptores AT2 a estarem implicados, esta terá efeitos anti-inflamatórios, anti-fibróticos e vasodilatadores. Por sua vez, a aldosterona libertada irá promover o aumento da excreção de potássio e da reabsorção de água e sódio. (Ames et al., 2019)

Em contrapartida, existem mecanismos adicionais responsáveis por manter a pressão sanguínea e aumentar a pré-carga, como é o caso da arginina vasopressina (ou hormona antidiurética) e da endotelina 1. Assim sendo, a arginina vasopressina poderá ter um efeito vasoconstritor e ação inotrópica positiva (se estiver ligada aos receptores V1A) ou promover a reabsorção de água (se for aos receptores V2A). Por sua vez, a endotelina 1 poderá proporcionar a vasoconstrição e efeitos inotrópicos positivos (associada aos receptores ETA) ou vasodilatação (pelos receptores ETB). (Bulmer, 2020)

Se o aumento da pré-carga e pós-carga promovido pelos mecanismos anteriores não for capaz de manter o DC e a pressão de perfusão a curto prazo, os mecanismos compensatórios a longo prazo terão de ser ativados (Bulmer, 2020). Assim sendo, a hipertrofia do miocárdio servirá como mecanismo a longo prazo para a disfunção cardíaca, sendo que se esta for eficaz na normalização do DC, as respostas desencadeadas a curto prazo poderão retornar aos seus níveis basais (Bulmer, 2020). Porém, a presença de TEP e HP propicia o desenvolvimento de sobrecarga de volume e de pressão, consequentemente, causando lesões exuberantes no miocárdio (De la Puente et al., 2018). Inicialmente, o estiramento da parede do VD promoverá uma remodelação adaptativa associada à sobrecarga de pressão exercida (hipertrofia concêntrica), devido ao aumento da síntese de proteínas e do tamanho dos cardiomiócitos, através da adição de sarcómeros em paralelo (McMahon & Saelinger, 2015). No entanto, esta adaptação não pode ser mantida face a uma sobrecarga de pressão contínua, pelo que, nesses

casos, existirá uma transição para a dilatação da cavidade cardíaca (hipertrofia excêntrica) (McMahon & Saelinger, 2015).

A resposta hipertrófica é composta por três fases: a inicial, a compensatória e a de exaustão (Bulmer, 2020). A fase inicial ocorre quando a carga de trabalho excede o DC considerado normal para o animal (Bulmer, 2020). Por outro lado, a fase compensatória diz respeito ao momento em que o crescimento do miocárdio se demonstra eficaz na normalização da tensão exercida na parede cardíaca (Bulmer, 2020). Por fim, a fase de exaustão é caracterizada pela morte dos cardiomiócitos (com subsequente libertação das troponinas cardíacas para a corrente sanguínea (Gavazza et al., 2020)), fibrose do miocárdio e dilatação ventricular, favorecendo o desenvolvimento de insuficiência cardíaca (Bulmer, 2020). A transição da fase compensatória para a fase de exaustão, característica da DCP, é mediada por diversos mecanismos moleculares que promovem o crescimento de miócitos, a redução do número de miócitos viáveis (Ames et al., 2019) e alterações na matriz extracelular (Carretón et al., 2012). Assim sendo, o crescimento de miócitos é estimulado pela sobrecarga de volume e de pressão exercida (De la Puente et al., 2018), contrariamente à redução do número de miócitos viáveis, que resulta da sua exposição a determinados compostos que têm efeito cardiotoxíco (Bulmer, 2020). Alguns destes compostos incluem a angiotensina II, a aldosterona (Ames et al., 2019), a norepinefrina, as citocinas inflamatórias, as espécies reativas de oxigénio e o óxido nítrico (Bulmer, 2020). Adicionalmente, os animais infetados por *D. immitis* demonstraram alterações significativas no conteúdo em colagénio da matriz extracelular, promovendo a redução e fragmentação da mesma, o que irá predispor o ventrículo para a sua dilatação (Carretón et al., 2012).

É de salientar que o estiramento do miocárdio promovido em resposta ao aumento da pressão nos átrios e nas APs estimula a libertação do peptídeo natriurético atrial (ANP, do inglês *atrial natriuretic peptide*) pelo miocárdio atrial (Carretón et al., 2017a). Por outro lado, os fenómenos que promovem a sobrecarga de volume, hipertrofia cardíaca e hipóxia estimulam a libertação do peptídeo natriurético de tipo B ou cerebral (BNP, do inglês *brain natriuretic peptide*) pelo miocárdio ventricular (Lee et al., 2020). Ambos estão envolvidos na homeostasia cardiovascular, uma vez que inibem o SRAA, favorecem a vasodilatação, pela promoção da natriurese e diurese, e reduzem a pressão sanguínea arterial (Gavazza et al., 2020).

O aumento das pré-carga e pós-carga, que anteriormente era benéfico, irá acentuar o desenvolvimento de congestão ou amplificar a incompatibilidade entre a contratilidade cardíaca e a pós-carga (Bulmer, 2020). Assim sendo, o aumento da pressão venosa sistêmica irá contribuir para o desenvolvimento de congestão venosa generalizada (Simón et al., 2012), bem como o aumento de volume plasmático, pela retenção de sódio e de água, e a redução da capacidade venosa, promovida pela vasoconstrição (Bulmer, 2020). Em última instância, a ICCD (*cor pulmonale*) promovida pela HP (Simón et al., 2012) irá causar congestão hepática (com aumento das enzimas hepáticas (Kina et al., 2021)) e ascite (Moorhead, 2021).

Qualquer doença que resulte em estase capilar, perda da integridade vascular ou hipercoagulabilidade pode favorecer o desequilíbrio entre a hemóstase e a fibrinólise, consequentemente, induzindo o desenvolvimento de CID (Bruchim et al., 2008).

No que concerne à DCP, o parasita além de promover lesões que ameaçam a integridade do endotélio vascular (Alberigi et al., 2020), também irá propiciar um estado de hipercoagulabilidade (Bruchim et al., 2008). O estado de hipercoagulabilidade pode resultar da carência em anticoagulantes (pela diminuição da sua produção a nível hepático, o excesso de consumo (Bruchim et al., 2008) ou da sua perda a nível renal (Carretón et al., 2020a)) e da influência no mecanismo da fibrinólise (Torres-Chable et al., 2020). Assim sendo, as larvas adultas ao libertarem os DiE/S (como é o caso da actina, galectina e gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (Torres-Chable et al., 2020)) irão promover a ativação do sistema fibrinolítico através da capacidade de estimular o endotélio vascular em expressar o ativador do plasminogénio tecidual (Diosdado et al., 2020). Esta ativação irá contribuir para a conversão do plasminogénio em plasmina, que irá degradar a fibrina, promovendo a libertação dos produtos de degradação do fibrinogénio e da fibrina (como é o caso dos D-dímeros) (Carretón et al., 2017a). Estes produtos, por sua vez, se não forem metabolizados hepaticamente poderão contribuir para o desenvolvimento de CID ou exacerbar a condição existente (Bruchim et al., 2008). Além disso, os DiE/S também irão estimular as células endoteliais a diminuir a transmigração dos monócitos, bem como a produzirem a prostaglandina E2, que promove a vasodilatação e inibe a agregação plaquetária (Simón et al., 2012), como demonstra a **Figura 16**.

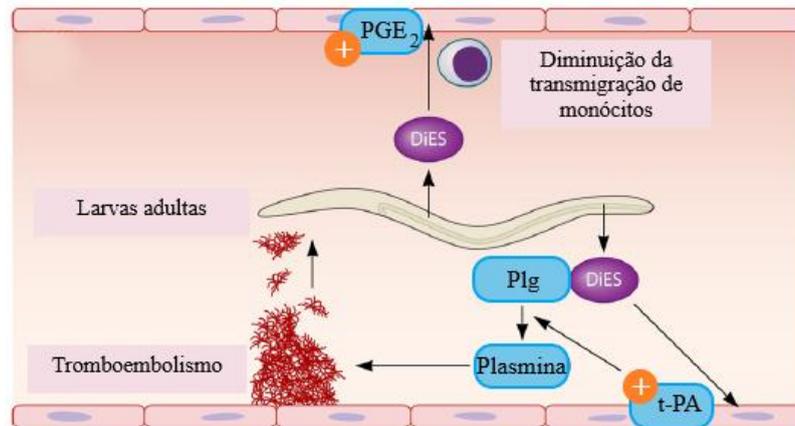


Figura 16 – Mecanismos de sobrevivência de *D. immitis*, através da modulação do ambiente vascular. As larvas adultas vivas libertam produtos metabólicos (antígenos excretórios e secretórios (DiE/S)) que estimulam a produção da prostaglandina E2 (PGE₂) e diminuem a transmigração de monócitos. Adicionalmente, os DiE/S ligam-se ao plasminogénio (Plg), promovendo a ativação da plasmina para suprimir o tromboembolismo na presença do ativador do plasminogénio tecidual (t-PA), cuja expressão também pode ser estimulada pela ação dos DiE/S nas células do endotélio vascular. Fonte: adaptado de Simón et al., 2012.

Normalmente, a CID tende a estar associada aos cães que apresentam elevadas cargas parasitárias (Diosdado et al., 2020), uma vez que a morte e fragmentação das larvas irá propiciar o desenvolvimento de TEP (Ames & Atkins, 2020). No entanto, se por um lado, a presença dos DiE/S contribui para a fibrinólise e tem um efeito anticoagulante (Simón et al., 2012), podendo atenuar a produção de trombos. Por outro lado, as lesões renais e hepáticas provocadas pela persistência do parasita no hospedeiro irão facilitar a evolução para a CID.

2.5 – Métodos de diagnóstico

O diagnóstico da DCP deve ter em consideração a presença ou ausência de determinados sinais clínicos, cuja associação com os resultados obtidos nas análises clínicas e nos exames imagiológicos, permitirá estimar a duração da infeção e a carga parasitária (Ames & Atkins, 2020). Por conseguinte, esta avaliação será fundamental para proceder ao estadiamento da doença (Moorhead, 2021), bem como na subsequente

monitorização do paciente e também irá auxiliar no diagnóstico de possíveis complicações que possam surgir durante e/ou após o tratamento instituído (Ljubica & Vesna, 2020).

Por sua vez, o diagnóstico definitivo poderá ser conseguido através da realização de testes serológicos, parasitológicos ou moleculares que permitam a identificação do parasita, independentemente do seu estadio de vida (Noack et al., 2021) ou através da visualização do mesmo pela ultrassonografia cardíaca, quer seja na AP como dentro do coração (AHS, 2020).

2.5.1 – Apresentação clínica

A apresentação clínica dos cães com DCP é muito variável, podendo existir animais que apresentem sinais clínicos respiratórios e cardiovasculares (Ljubica & Vesna, 2020) ou que não manifestem sinais durante meses/anos (Simón et al., 2012). É relevante ter em consideração que a severidade da doença se encontra dependente de diversos fatores como a carga parasitária, a duração da infeção (Ames & Atkins, 2020), os níveis de exercício praticados pelo hospedeiro e a resposta imune desencadeada pelo mesmo (Vieira et al., 2014).

De uma maneira geral, as manifestações clínicas apresentadas incluem tosse leve e persistente (Noack et al., 2021), intolerância ao exercício, letargia (Lane et al., 2021) e perda de peso (Vieira et al., 2014). Com o progredir da doença, os animais podem apresentar dispneia moderada a severa, astenia (ESCCAP, 2019), epistaxis, hemoptise ou hemorragia pulmonar, que se for severa pode resultar em choque hipovolémico (Simón et al., 2012). Mais tarde, podem ainda apresentar choque cardiogénico (Paterson et al., 2020) e síncope (Ames & Atkins, 2020). Quando a ICCD se desenvolve, sinais como a ascite, edema periférico (ESCCAP, 2019), quilotórax (Stancu et al., 2017), hidrotórax e hidropericárdio podem surgir, bem como a congestão venosa visceral (Simón et al., 2012) e a distensão da VJ (Ljubica & Vesna, 2020). Além disso, se existirem migrações aberrantes por parte dos parasitas, o animal pode apresentar outros sinais clínicos, nomeadamente gastrointestinais, oculares ou inerentes à sua locomoção (por exemplo, a claudicação) (Grimes, Scott & Edwards, 2016). A morte súbita é rara, sendo que normalmente o animal sucumbe após uma emaciação progressiva (ESCCAP, 2019) ou como consequência de insuficiência cardiorrespiratória ou TEP severo (Simón

et al., 2012).

Durante a auscultação torácica pode ser evidenciada a divisão do S2, SpCs de ejeção na base do coração esquerdo e/ou de RVT, bem como arritmias (Ljubica & Vesna, 2020) e sons pulmonares anormais (crepitações) sob os lobos pulmonares caudais (ESCCAP, 2019).

2.5.2 – Achados laboratoriais

Os testes laboratoriais irão promover a identificação do parasita, existindo métodos específicos conforme o estadio de desenvolvimento do mesmo (Hays et al., 2020). Além disso, podem ainda ser feitas análises clínicas (hematológicas, bioquímicas e a utilização de biomarcadores cardiopulmonares e inflamatórios, bem como a urianálise) para proceder ao estadiamento do paciente (ESDA, 2017a).

No que diz respeito à identificação do parasita, a *AHS* e a *CAPC* recomendam que sejam realizados testes de diagnóstico anualmente a todos os cães, incluindo os que estejam em regimes preventivos (Noack et al., 2021). Os testes realizados devem detetar os antigénios de *D. immitis* e as microfilárias (Noack et al., 2021). Esta testagem deve ser iniciada nos cães por volta dos sete meses de idade (Klepper, 2018).

Os testes serológicos com base na deteção de antigénio de *D. immitis* são usados como primeira linha nos casos de DCP canina (Tahir et al., 2019). Estes testes, sejam por ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA, do inglês *enzyme-linked immunosorbent assay*) ou imunocromatográficos (ESCCAP, 2019), detetam uma glicoproteína produzida única e exclusivamente pelas dirofilárias adultas fêmeas (Burton et al., 2020). Assim sendo, os testes antigénicos não devem ser realizados antes dos sete meses após o momento de exposição à infeção (ESDA, 2017a). Além disso, são testes altamente específicos (98% a 100%) (Noack et al., 2021) e sensíveis (> 95%) (ESDA, 2017a), apesar de não existirem testes ou combinações capazes de determinar com precisão a quantidade de dirofilárias presentes (AHS, 2020). No entanto, é relevante referir que alguns testes antigénicos (*kits* comerciais ELISA) demonstraram ter reações cruzadas com outros agentes (Sobotyk de Oliveira et al., 2020), como *D. repens* (Ciuca et al., 2020), *Angiostrongylus vasorum* (Panarese et al., 2020), *Spirocerca lupi* (Little et al., 2018) e *Acanthocheilonema dracunculoides* (Lane et al., 2021).

Por sua vez, os métodos de deteção e identificação de microfilárias incluem o

exame de sangue fresco, a avaliação da movimentação dentro de um tubo de microhematócrito e os métodos de concentração (Klepper, 2018), seja pelo teste de filtração ou teste de Knott modificado (evidenciado na **Figura 17**) (Tahir et al., 2019). Assim sendo, as microfilárias podem ser identificadas através do microscópio ótico, mediante da sua movimentação característica (AHS, 2020) ou da identificação morfológica cefálica e caudal específica (Simón et al., 2012).



Figura 17 - Microfilária de *D. immitis* identificada através da técnica de Knott modificado. Escala da barra: 50µm. Fonte: Alho et al., 2017.

Adicionalmente podem ser utilizadas colorações histoquímicas para evidenciar regiões anatómicas do parasita (Ferreira et al., 2017; Simón et al., 2012).

É relevante ter em consideração que as microfilárias de *D. immitis* exibem um ritmo circadiano (Noack et al., 2021) subperiódico (i.e. as microfilárias estão sempre presentes no sangue periférico do hospedeiro, mas as suas concentrações flutuam ao longo do dia), que é influenciado por inúmeros fatores intrínsecos aos hospedeiros, bem como pela área geográfica onde se encontram (Ionicã et al., 2017). Assim sendo, este ritmo circadiano pode ter um impacto significativo na fiabilidade diagnóstica (Noack et al., 2021), uma vez que revela existirem períodos do dia mais indicados para a realização da colheita das amostras sanguíneas (Ionicã et al., 2017).

No que concerne às espécies de *Dirofilaria* spp., é característica a presença de um padrão de movimentação estacionário mais do que migratório (AHS, 2020). Assim sendo, *D. immitis* irá apresentar mobilidade apesar de permanecer na mesma localização, ao contrário de outras espécies como *Acanthocheilonema reconditum*, que exhibe movimentações progressivas (Moorhead, 2021). Os testes histoquímicos, por sua vez, permitem a identificação das regiões anatómicas com atividade da fosfatase ácida, que são características de cada parasita (Simón et al., 2012). No que diz respeito a *D. immitis*, os parasitas exibem duas zonas com atividade da fosfatase ácida em torno do poro anal e excretório, enquanto *D. repens* só apresenta um, em torno do poro anal (Vieira et al., 2014). Em contrapartida, os testes moleculares (reação em cadeia da

polimerase – PCR) permitem a amplificação do DNA das microfilárias, dos parasitas adultos (Ljubica & Vesna, 2020) e da *Wolbachia* spp. (Diniz, 2020).

A evidência de um resultado positivo no teste antigénico e no de microfilárias, com a sua respetiva identificação, confirma conclusivamente a existência de infeção por *D. immitis* (Simón et al., 2012). Por conseguinte, o paciente será identificado como reservatório da infeção, alertando os médicos veterinários para as preocupações necessárias face a uma determinada área (AHS, 2020).

Por um lado, um resultado positivo no teste antigénico, mas negativo no teste de microfilárias indica uma infeção oculta (amicrofilarémica) (ESCCAP, 2019). É relevante salientar que se estima que 20% dos cães infetados podem não apresentar microfilárias (Moorhead, 2021), podendo este valor ser superior nos animais que estejam em programas de prevenção com lactonas macrocíclicas (AHS, 2020). No entanto, nestes casos está recomendado a repetição do teste antigénico, utilizando um teste de outra fábrica (Klepper, 2018), uma vez que já foram reportadas reações cruzadas nalguns testes comerciais (Ciuca et al., 2020). Se o resultado permanecer igual, é importante considerar a possibilidade de ser uma infeção oculta (ESCCAP, 2019). Estas infeções podem ocorrer quando existem baixas cargas parasitárias, infeções por fêmeas adultas com a fertilidade comprometida (Vieira et al., 2014) e/ou se a resposta imune do hospedeiro promoveu a destruição das microfilárias (Panarese et al., 2020).

Por outro lado, um teste antigénico em que não foi detetado antigénio de *D. immitis*, não assegura que o paciente esteja livre da infeção, simplesmente demonstra que não foi detetado antigénio por aquela metodologia (AHS, 2020). Assim sendo, nestes casos, se não tiver sido realizado um teste para identificar as microfilárias, a infeção não será reconhecida (Lane et al., 2021). Por conseguinte, a doença continuará a progredir, trazendo consequências nefastas e desnecessárias para o paciente, além de permitir que o mesmo sirva como reservatório e perpetue a transmissão da infeção (Lane et al., 2021). No entanto, se forem identificadas microfilárias num animal com teste antigénico negativo, é importante reconhecer a possibilidade do paciente estar perante uma infeção promovida por parasitas imaturos ou machos (Moorhead, 2021), uma baixa carga parasitária (neste caso de dirofilárias fêmeas adultas) (Simón et al., 2012) ou a formação de complexos imunes que bloqueiem a deteção do antigénio (AHS, 2020). Além disso, é relevante ter em consideração que se as instruções dos *kits*

comerciais não tiverem sido seguidas exatamente, os resultados obtidos podem não ser fidedignos (AHS, 2020).

A dissociação de complexos imunes consiste no tratamento por calor ou ácido aplicado às amostras de soro/plasma dos cães, antes de ser realizada a testagem com testes antigénicos comerciais (Sobotyk de Oliveira et al., 2020). Este tratamento visa libertar os antígenos de *D. immitis* que possam estar sequestrados em complexos imunes (Savadelis et al., 2018). De uma maneira geral, o pré-tratamento por aquecimento não se encontra recomendado (Noack et al., 2021). No entanto, existem pequenas exceções em que a AHS recomenda que o mesmo seja considerado, como é o caso de se não for detetado antígeno num teste antigénico, mas forem detetadas microfilárias e/ou a apresentação clínica seja consistente com a DCP (Lane et al., 2021).

Em contrapartida, existem testes serológicos capazes de detetar a WSP (Diniz, 2020) ou os anticorpos produzidos pelo sistema imune contra os antígenos do parasita, sendo uma abordagem que permite a deteção da infeção, mesmo na presença de infeções por parasitas machos (Lane et al., 2021).

No que diz respeito às análises clínicas, as alterações hematológicas e bioquímicas, muitas vezes, só são observadas no estágio final da doença ou quando existem fenómenos agudos exuberantes (como a SVC ou o TEP) (ESDA, 2017a).

A nível hematológico, as alterações associadas à DCP tendem a ser a anemia normocítica, normocrómica, não regenerativa (ESDA, 2017a) e cuja gravidade pode variar desde leve a severa conforme a severidade da doença (Nelson, 2015). No leucograma pode ser evidenciado a leucocitose, a neutrofilia, a eosinofilia e a monocitose (Monobe et al., 2017). A trombocitopenia também pode estar presente (ESDA, 2017a), bem como a hemoglobinémia (Ljubica & Vesna, 2020), devido à hemólise promovida no decorrer da doença (Nelson, 2015).

Em relação às alterações bioquímicas, estas incluem a azotémia (ESDA, 2017a) (aumento da creatinina (CREA, do inglês *creatinine*) e do nitrogénio ureico (BUN)), a hiperbilirrubinémia (Nelson, 2015), a hipoalbuminémia e o aumento das enzimas hepáticas (alanina aminotransferase (ALT, do inglês *alanine transaminase*), fosfatase alcalina (ALP, do inglês *alkaline phosphatase*) e gama glutamiltransferase) (Monobe et al., 2017). Além disso, os níveis dos triglicéridos e do colesterol (tanto o colesterol associado à lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL, do inglês *very low density*

lipoprotein cholesterol), como o colesterol ligado à lipoproteína de baixa densidade (LDL, do inglês *low density lipoprotein cholesterol*) também se encontram aumentados, ao contrário do nível do colesterol relacionado com a lipoproteína de alta densidade (HDL, do inglês *high density lipoprotein cholesterol*) e o do colesterol total que se encontram diminuídos (Kina et al., 2021).

Os biomarcadores cardiopulmonares e inflamatórios podem ser usados como métodos auxiliares de diagnóstico precoce, uma vez que contribuem para a avaliação da progressão da doença, influenciando um dado prognóstico. Além disso, a sua utilização será benéfica na avaliação das melhorias associadas ao tratamento instituído. (Queiroz et al., 2016)

As PFAs funcionam como biomarcadores valiosos, na medida em que o aumento ou a diminuição da sua produção relaciona-se com a inflamação, infeção e trauma associado à DCP (Carretón et al., 2017b). Assim sendo, através das análises serológicas será possível identificar níveis elevados de proteína C-reativa e de haptoglobina nos cães com DCP (Queiroz et al., 2016). Contrariamente, os níveis séricos da PON-1 encontrar-se-ão diminuídos nos animais infetados (Kina et al., 2021).

Outros biomarcadores igualmente relevantes inerentes à HP (Ljubica & Vesna, 2020), à lesão miocárdial e ao TEP promovido pela *D. immitis* (De la Puente et al., 2018), encontram-se inevitavelmente aumentados (ESDA, 2017a). Os biomarcadores relacionados com a HP são a proteína C-reativa, a endotelina-1 (Ljubica & Vesna, 2020) e os peptídeos natriuréticos (Gavazza et al., 2020). Por sua vez, os que se encontraram associados à lesão do miocárdio são a troponina cardíaca I e a mioglobina (Simón et al., 2012), sendo ambos marcadores da integridade miocárdial (Carretón et al., 2017a). É relevante salientar que apesar da mioglobina ser um marcador da integridade miocárdial, esta não é cardioespecífica, uma vez que a sua libertação também pode ocorrer após um evento isquémico (Carretón et al., 2017a) ou uma lesão no músculo esquelético (Carretón et al., 2012). Por sua vez, a avaliação dos D-dímeros permite aferir o risco de TEP, bem como auxiliar a monitorização da progressão da doença durante o tratamento (ESDA, 2017a).

Por fim, a urianálise pode revelar hemoglobinúria (Hays et al., 2020), bilirrubinúria (Ljubica & Vesna, 2020), aumento significativo dos indicadores de lesão renal (nomeadamente a dimetilarginina simétrica (SDMA, do inglês *symmetric*

dimethylarginine) e a CREA (Carretón et al., 2020a)) e evidência de proteinúria (ESDA, 2017a). Assim sendo, o SDMA e a CREA auxiliam no diagnóstico da lesão renal no decurso da diminuição da taxa de filtração glomerular. Por outro lado, a deteção de proteinúria ajuda a identificar o risco ou a presença de lesão renal precoce (Carretón et al., 2020a), uma vez que se encontra relacionada com uma disfunção glomerular de tal ordem que permite a perda de proteínas de peso molecular intermédio (como a albumina) e de elevado peso molecular (como a proteína C-reativa) no filtrado. Por conseguinte, existirá o aumento destes marcadores glomerulares (Rusenov et al., 2015). Ocasionalmente podem ainda estar presentes microfilárias de *D. immitis* no sedimento urinário (Mircean et al., 2017).

2.5.3 – Achados imagiológicos

No que concerne aos exames imagiológicos, a radiografia torácica e a ultrassonografia cardíaca (ecocardiografia) são úteis para determinar a extensão das alterações patológicas pulmonares e cardíacas apresentadas (ESCCAP, 2019), tendo um valor significativo na avaliação do prognóstico do paciente (AHS, 2020). Em contrapartida, a ultrassonografia abdominal pode ser relevante na avaliação das repercussões da doença (Mircean et al., 2017).

A radiografia torácica permite a avaliação da morfologia do campo pulmonar e da silhueta cardíaca (Ljubica & Vesna, 2020). Os achados típicos da DCP, demonstrados na **Figura 18**, baseiam-se no aumento tortuoso dos ramos periféricos das APs, particularmente nos lobos diafragmáticos (caudais), acompanhados de diversos graus de doença do parênquima pulmonar (AHS, 2020) e hipertrofia do VD (evidenciada pelo formato “D” invertido do coração na projeção dorsoventral/ventrodorsal ou através do método de cálculo do índice cardíaco vertebral (VHS, do inglês *vertebral heart score*)) (Kim et al., 2019). Além disso, é relevante salientar que as alterações nas APs resultantes desta doença precedem o envolvimento cardíaco (ESDA, 2017a). Assim sendo, as alterações nas câmaras cardíacas direitas podem estar relacionadas com esta doença, se estiverem acompanhadas de alterações nas APs (ESDA, 2017a). Adicionalmente, este exame também permite avaliar a presença de efusão pleural e peritoneal (Kim et al., 2019).

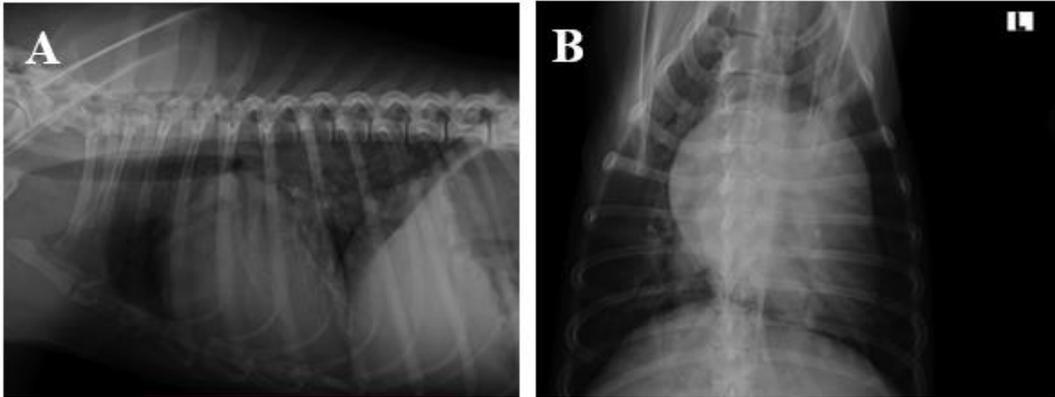


Figura 18 - Radiografia torácica lateral direito (A) e dorsoventral (B) de um cão com dirofilariose cardiopulmonar, evidenciando cardiomegália direita, dilatação da artéria pulmonar principal, padrão vascular na artéria e veia lobar cranial e padrão pulmonar alveolar nos lobos pulmonares caudais e acessório. Fonte: imagens cedidas pelo Hospital Veterinário da Madeira (HVM).

A ultrassonografia cardíaca, por sua vez, é o único método imagiológico que permite a visualização das dirofilárias, de modo a avaliar a quantidade existente (carga parasitária) e a sua localização (Ljubica & Vesna, 2020) mediante do plano transversal ao nível da AP da janela paraesternal direita (Chetboul, 2020), como apresenta a **Figura 19**.

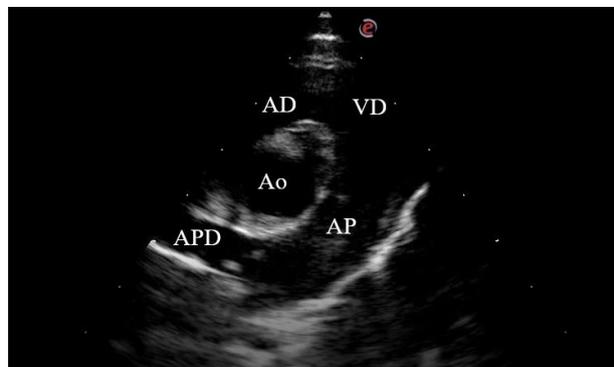


Figura 19 - Imagem ecocardiográfica de um cão com dirofilariose cardiopulmonar, mediante do plano transversal ao nível da artéria pulmonar obtido na janela paraesternal direita. Presença de baixa carga larvar de *D. immitis*, no ramo direito da artéria pulmonar (APD). AD, átrio direito; Ao, aorta; AP, artéria pulmonar; VD, ventrículo direito. Fonte: imagem cedida pelo HVM.

Por outro lado, este exame também permite avaliar a probabilidade do animal apresentar HP com base nos achados obtidos (Reinero et al., 2020), como evidencia a **Tabela 1**.

Tabela 1 – Probabilidade de HP em cães com DCP com base nos achados ecocardiográficos (Reinero et al., 2020).

Velocidade de RVT (m/s)	Número dos diferentes locais anatômicos de sinais de HP ^a	Probabilidade de HP
≤ 3.0 ou não mensurável.	0 ou 1	Baixa.
≤ 3.0 ou não mensurável.	2	Intermédia.
3.0 a 3.4.	0 ou 1	Intermédia.
> 3.4.	0	Intermédia.
≤ 3.0 ou não mensurável.	3	Elevada.
3.0 a 3.4.	≥ 2	Elevada.
> 3.4.	≥ 1	Elevada.

Legenda: RVT, regurgitação da válvula tricúspide; HP, hipertensão pulmonar.

^a conforme apresentado na **Tabela 2**

A avaliação da probabilidade do animal apresentar HP é obtida através da associação entre a mensuração da velocidade máxima da RVT realizada no plano apical de quatro câmaras da janela paraesternal esquerda (Kim et al., 2019), com a identificação dos locais anatômicos onde foram evidenciados sinais de HP (Reinero et al., 2020), conforme demonstrado na **Tabela 2**.

Tabela 2 - Locais anatômicos de sinais ecocardiográficos de HP usados para avaliar a probabilidade de HP em cães (adaptado de Reinero et al., 2020).

Local Anatômico 1: Ventrículos	Local Anatômico 2: Artéria pulmonar	Local Anatômico 3: Átrio direito e VCC
Achatamento do SIV, principalmente na sístole.	Aumento da artéria pulmonar (AP/Ao > 1.0).	Aumento do átrio direito.
Redução do tamanho do ventrículo esquerdo.	Velocidade de RVP no início da diástole > 2.5 m/s.	Aumento da VCC.
Hipertrofia do ventrículo direito.	Índice DAPD < 30%.	

Disfunção sistólica do ventrículo direito.	Tempo de aceleração de saída do fluxo do VD (< 52-58 ms) ou relação entre o tempo de aceleração e o tempo de ejeção (TA/TEJ <0.30).
--	---

Legenda: SIV, septo interventricular; AP, artéria pulmonar; Ao, válvula aórtica; RVP, regurgitação da válvula pulmonar; DAPD, distensibilidade da artéria pulmonar direita; VD, ventrículo direito; TA, tempo de aceleração; TEJ, tempo de ejeção; VCC, veia cava caudal.

Os parasitas são percebidos como duas linhas paralelas hiperecoicas, que representam a cutícula larvar, separadas por uma área hipoecoica muito fina (Boon, 2011), dentro da AP principal e/ou nos seus ramos, assim como no AD e VD (Simón et al., 2012). No entanto, a falta da sua visualização não exclui a possibilidade do animal estar infetado (Moorhead, 2021), uma vez que se o feixe de ultrassom não se encontrar direcionado perpendicularmente aos parasitas, estes não serão detetados (Boon, 2011). É importante ter em consideração que a visualização de dirofilárias ao nível da VT em cães com hemoglobinúria permite a confirmação de que estes pacientes apresentam a SVC (AHS, 2020). Assim sendo, nestes casos, é pertinente verificar se existe obstrução do fluxo, mediante a mensuração da RVT, durante a sístole (Pariaut et al., 2020), através do modo Doppler de onda contínua (Vezzosi et al., 2018). Além disso, é relevante mencionar que existe a possibilidade de proceder à avaliação da distensão longitudinal da parede livre e septal do VD, através da ecocardiografia por *speckle tracking*, uma vez que permite uma avaliação da capacidade sistólica em segmentos cardíacos específicos (Morita et al., 2020).

A ultrassonografia abdominal é pertinente especialmente se o animal apresentar sinais de ICCD, uma vez que permite avaliar se existe ascite, bem como avaliar as alterações renais e hepáticas (Mircean et al., 2017).

2.5.4 – Estadiamento do paciente

O estadiamento do paciente baseia-se na sua classificação conforme a classe de severidade da DCP (Ljubica & Vesna, 2020). A classificação é realizada mediante dos resultados obtidos no exame clínico, nas análises clínicas e laboratoriais, assim como nos exames imagiológicos considerados relevantes (Ljubica & Vesna, 2020), como demonstra a **Tabela 3**. Esta avaliação deve ser realizada no decorrer da melhoria e/ou progressão da doença, tal como deve ser sempre precedida a qualquer tratamento que se planeie instituir (ESDA, 2017a).

Tabela 3 - Classificação da dirofilariose cardiopulmonar em cães (adaptado de Nelson, 2015; Ljubica & Vesna, 2020; Moorhead, 2021).

	Classe I: Assintomático a leve	Classe II: Doença moderada	Classe III: Doença severa	Classe IV: Síndrome da veia cava
Apresentação clínica	Aparentemente saudáveis, podendo apresentar tosse leve e ocasional.	Tosse, intolerância ao exercício, leve perda da condição corporal e auscultação de sons pulmonares anormais.	Tosse persistente, intolerância ao exercício, dispneia, perda da condição corporal, letargia, síncope, distensão e pulsação jugular, hepatomegália, ascite e auscultação de sons pulmonares e cardíacos anormais.	Início súbito de letargia severa, astenia, colapso, dispneia severa, anorexia, membranas mucosas pálidas, podendo estar presente alguns sinais clínicos de ICCD.

<p>Teste Antigénico: positivo;</p> <p>Hemograma: sem alterações ou leve leucocitose;</p> <p>Bioquímicas: sem alterações;</p> <p>Urianálise: sem alterações.</p>	<p>Teste Antigénico: positivo;</p> <p>Hemograma: leve anemia, leucocitose, neutrofilia e eosinofilia;</p> <p>Bioquímicas: hipoalbuminémia</p> <p>Biomarcadores: proteína C-reativa, haptoglobina e endotelina-1;</p> <p>Urianálise: proteinúria leve a moderada.</p>	<p>Teste Antigénico: positivo;</p> <p>Hemograma: anemia moderada a severa, leucocitose, neutrofilia e eosinofilia;</p> <p>Bioquímicas: azotémia, hipoalbuminémia e aumento das enzimas hepáticas, dos triglicerídeos e do colesterol (VLDL e LDL);</p> <p>Biomarcadores: proteína C-reativa, haptoglobina, endotelina-1, troponina cardíaca, mioglobina, peptídeos natriuréticos e D-dímeros;</p> <p>Urianálise: proteinúria severa.</p>	<p>Teste Antigénico: positivo;</p> <p>Hemograma: anemia moderada a severa, leucocitose, neutrofilia, eosinofilia, trombocitopénia e hemoglobinémia;</p> <p>Bioquímicas: hiperbilirrubinémia</p> <p>Biomarcadores: proteína C-reativa, haptoglobina, endotelina-1, mioglobina, peptídeos natriuréticos e D-dímeros;</p> <p>Urianálise: urina castanho-escuro (hemoglobinúria), bilirrubinúria, proteinúria severa e podem aparecer microfilárias no sedimento urinário.</p>
---	---	---	---

Achados imagiológicos	Radiografia: alterações leves a ausentes;	Radiografia: leve aumento da AP, infiltrados	Radiografia: aumento severo da AP, padrão misto	Radiografia: aumento severo da AP, padrão misto
	Ecocardiografia: podem ou não ser identificados	perivasculares e/ou alveolares e aumento do VD;	difuso circunscrito de infiltrados pulmonares, sinais	difuso de infiltrados pulmonares, sinais
	parasitas nas APs;	Ecocardiografia: presença de dirofilárias na AP;	de embolismo pulmonar, cardiomegália	de embolismo pulmonar, cardiomegália
	Ecografia: sem alterações significativas.	Ecografia: sem alterações significativas.	direita e/ou efusão pleural;	direita e/ou efusão pleural;
		Ecocardiografia: presença de dirofilárias na AP e/ou no átrio/VD;	Ecocardiografia: presença de dirofilárias na AP, no átrio e/ou VD e ao nível da VT;	
		Ecografia: ascite, hepatomegália e alterações renais.	Ecografia: ascite, hepatomegália e alterações renais.	

Legenda: APs, artérias pulmonares; VD, ventrículo direito; VLDL, colesterol associado à lipoproteína de densidade muito baixa; LDL, colesterol ligado à lipoproteína de baixa densidade; ICCD, insuficiência cardíaca congestiva direita; VT, válvula tricúspide.

2.6– Diagnósticos diferenciais

De uma maneira geral, quando um paciente se apresenta com tosse é relevante determinar a sua duração, caracterizando-a como aguda, se estiver há menos de dois meses, ou crônica, se tiver uma duração superior. Posteriormente, é preciso verificar a localização da tosse, com o intuito de averiguar a sua etiologia, sendo essencial diferenciar se tem uma origem respiratória ou cardíaca. Em seguida, também será pertinente localizar a região anatômica afetada. (Hsieh & Beets, 2020)

A tosse de origem respiratória pode ser desencadeada por distúrbios primários

do trato respiratório, distúrbios respiratórios primários causados por disfunção severa de outro sistema ou distúrbios secundários que acometam a função respiratória. Assim sendo, os pacientes que exibam tosse com dispneia mínima, revelam distúrbios ao nível da traqueia ou das vias aéreas superiores. Por outro lado, os que apresentam dispneia com tosse mínima, demonstram um comprometimento da função respiratória por disfunção laríngea ou outros distúrbios intratorácicos. Por fim, os pacientes com tosse acompanhada de dispneia, irão revelar envolvimento do parênquima pulmonar, pelo que esta tosse tende a ser caracterizada como produtiva. (Church, 2015)

No que diz respeito à tosse de origem cardíaca, esta pode estar associada ao desenvolvimento de edema pulmonar cardiogénico por ICC ou pode resultar da compressão ao nível dos brônquios principais, devido ao aumento de determinadas câmaras cardíacas resultante de distúrbios valvulares. No entanto, é relevante salientar que um paciente pode ter concomitantemente doença cardíaca e respiratória. (Hsieh & Beets, 2020)

A astenia, por sua vez, é sempre um sinal de disfunção primária ou secundária do sistema nervoso central ou do sistema neuromuscular. Assim sendo, o exame neurológico será fundamental para aferir se o animal apresenta uma disfunção primária. Por outro lado, se a disfunção for secundária, esta poderá estar associada a distúrbios cardiovasculares/hematopoiéticos, metabólicos, respiratórios ou esqueléticos. Além disso, é relevante ter em consideração se a astenia exibida pelo paciente tem um carisma episódico ou persistente, uma vez que existem diferenças significativas nalguns dos processos inerentes ao seu desenvolvimento. (Volk et al., 2015)

A síncope, a narcolepsia/cataplexia, a dor, os distúrbios comportamentais compulsivos, os ataques vestibulares, certos distúrbios de movimento, a astenia neuromuscular e as convulsões são eventos paroxísticos que partilham semelhanças na sua apresentação clínica. Os episódios de síncope tendem a ser caracterizados por uma perda transiente, súbita e curta da consciência e do tónus postural do paciente. Estes episódios podem estar associados ao exercício ou momentos de repouso, mas a recuperação do animal é quase instantânea. Além disso, podem ser desencadeados por distúrbios cardiovasculares, respiratórios ou metabólicos. Em contrapartida, a narcolepsia consiste num distúrbio muito raro do ciclo sono-vigília, que pode ser desencadeada por comida, excitação/*stress* ou farmacologicamente e cuja apresentação

pode ser semelhante à dos colapsos sincopais e convulsões. As convulsões, por sua vez, podem estar associadas a causas intracranianas ou extracranianas, cuja apresentação poderá variar dependendo da área cerebral afetada. Os pacientes que se apresentam com convulsões tendem a ter um aumento do tônus muscular, com evidência de contrações musculares rítmicas e existe um comprometimento da consciência do animal. Assim sendo, se o paciente exibir um colapso “desajeitado” a suspeita deve ser direcionada para a síncope ou cataplexia, numa primeira instância, apesar de também poder estar relacionado com convulsões atônicas (muito incomum). (Volk, 2015)

Não obstante o facto da DCP promover tosse crónica produtiva acompanhada de dispneia (Church, 2015), astenia episódica (Volk et al., 2015) e síncope cardiovascular (Volk, 2015) existem outros distúrbios/afeções que devem ser considerados como diagnósticos diferenciais. Estes dizem respeito a doenças inflamatórias pulmonares, anemia, doenças cardiovasculares que promovam insuficiência cardíaca esquerda, síndrome de hiperviscosidade, bem como outras parasitoses (Church, 2015; Volk, 2015; Volk et al., 2015).

No que concerne aos parasitas cardiopulmonares, os nemátodos que devem ser diferenciados de *D. immitis* são *Angiostrongylus vasorum*, *Eucoleu aerophilus* (Saari et al., 2019) e *Crenosoma vulpis* (Fuehrer et al., 2020). A sua distinção deve ser realizada mediante da avaliação morfológica das larvas e/ou dos ovos através da técnica de Baermann ou flutuação de amostras fecais (Gillis-Germitsch et al., 2020). Em contrapartida, os parasitas cujas microfilárias devem ser diferenciadas nas amostras sanguíneas são *A. reconditum*, *A. dracunculoides* e *D. repens* (Saari et al., 2019). Nestes casos, as amostras sanguíneas devem ser analisadas microscopicamente após a realização do exame de sangue fresco (Ferreira et al., 2017) ou um método de concentração (Klepper, 2018). A **Tabela 4** evidencia as diferenças morfológicas mais significativas entre os parasitas referidos acima.

Tabela 4 - Características morfológicas características de *D. immitis*, *A. vasorum*, *E. aerophilus*, *C. Vulpis*, *A. reconditum* e *A. dracunculoides* e *D. repens* (adaptado de Saari et al., 2019).

Parasitas	Características morfológicas
<i>D. immitis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Parasita adulto fêmea: nemátode delgado e branco com 25-30 cm de comprimento; abertura genital atrás do esôfago; • Parasita adulto macho: nemátode delgado e branco com 12-16 cm de comprimento; extremidade posterior é enrolada em espiral; cauda com asas laterais pequenas e duas espículas de tamanhos distintos; estruturas papilares no lado anterior e posterior da cloaca; • Microfilárias: 300 µm de comprimento e 6 µm de espessura; cabeça ligeiramente cônica e cauda longa, fina e em linha reta; movimentação ativa.
<i>A. vasorum</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Parasita adulto fêmea: nemátode longo e delgado com extremidades afuniladas com 15,6 mm de comprimento e 0,27 mm de espessura; estrutura helicoidal promovida pelos ductos genitais brancos em torno do intestino vermelho; cutícula transparente; extremidade posterior redonda com abertura genital localizada a 0,2 mm e o ânus a 0,07 mm da extremidade terminal; • Parasita adulto macho: nemátode longo e delgado com extremidades afuniladas com 12,9 mm de comprimento e 0,24 mm de espessura; bolsa copulatória bem desenvolvida e curta, com espículas longas e raio(s) dorsal, laterais e ventrais; • Larva L1: 300-400 µm de comprimento e 15 µm de espessura; cauda curvada e com pequeno apêndice dorsal adjacente.

<i>E. aerophilus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Parasita adulto fêmea: nemátode longo e filiforme com 1,5-4 cm de comprimento; o poro genital está localizado na extremidade caudal do esófago; esticócitos na parte posterior do esófago; • Parasita adulto macho: nemátode longo e filiforme; ligeiramente mais curto do que as fêmeas; esticócitos na parte posterior do esófago; asas cuticulares na cauda e uma espícula embainhada; • Ovos: 60-72 x 26-34 μm; tipo barril e assimétricos, com opérculo em ambas as extremidades.
<i>C. vulpis</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Parasita adulto fêmea: nemátode avermelhado e estrutura em hélice com 12-16 mm de comprimento; parte anterior apresenta 12-18 pregas transversas em forma de anel na cutícula, dando aparência segmentada à superfície; o poro genital está localizado no meio da larva; • Parasita adulto macho: nemátode com 3.5-8 mm de comprimento; parte anterior apresenta 12-18 pregas transversas em forma de anel, na cutícula, dando aparência segmentada à superfície; bolsa copulatória bem desenvolvida com ramos longos, espículas finas e com 0,3-0,4 mm de comprimento; • Larva L1: 250-340 μm de comprimento e 16-22 μm de espessura; na extremidade frontal existe um botão cefálico; cavidade bucal é impercetível; esófago quase cilíndrico com ligeira saliência posterior; cauda fica abruptamente mais fina sem curvas, espículas ou protruções.
<i>A. reconditum</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Parasita adulto fêmea: nemátode com 21-25 mm de comprimento; • Parasita adulto macho: nemátode com 9-17 mm de comprimento; • Microfilárias: 270 μm de comprimento e 4,5 μm de espessura; cabeça curta e com formato semelhante a anzol.
<i>A. dracunculoides</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Parasita adulto fêmea: nemátode com 33-35 mm de comprimento; • Parasita adulto macho: nemátode com 15-31 mm de comprimento; • Microfilárias: 121-218 μm de comprimento e 4,5-5,2 μm de espessura; cabeça curta e com formato semelhante a anzol.

- **Parasita adulto fêmea:** nemátode longo e fino branco ou quase branco com 15 cm de comprimento; o poro genital está localizado cerca de 15 mm da cabeça da larva;
- **Parasita adulto macho:** nemátode longo e fino branco ou quase branco com 6-7 cm de comprimentos; apresenta duas espículas, uma cauda espiral e a ponta tem numerosas protruções papilares;
- **Microfilárias:** 370 μm de comprimento e 9 μm de espessura; cabeça redonda e cauda com ponta afiada; esfregaço com coloração Giemsa revela um espaço cefálico na extremidade anterior, que é mais curto do que o de *D. immitis*.

2.7– Abordagem terapêutica

Os objetivos de qualquer tratamento são melhorar a condição clínica do animal (Ljubica & Vesna, 2020) e promover a eliminação de todos os estádios de vida de *D. immitis* (microfilárias, estádios larvares, juvenis e adultos), através de metodologias que minimizem as complicações desenvolvidas posteriormente (AHS, 2020). Para tal, é necessário que, numa primeira instância, se proceda ao estadiamento do paciente (Nelson, 2015). Em seguida, é importante avaliar se este requer tratamento de suporte, com o intuito de estabilizar a sua condição clínica, ou se a terapêutica microfilaricida/adulticida pode ser instituída (Simón et al., 2012).

No que concerne ao tratamento da DCP, a única metodologia que é recomendada pela AHS é uma abordagem multimodal (AHS, 2020), que combina a administração de microfilaricidas (i.e. lactonas macrocíclicas) e a doxiciclina com o dicloridrato de melarsomina (adulticida) (Ljubica & Vesna, 2020), juntamente com a restrição de exercício do animal (Nelson, 2015). Adicionalmente, pode ser benéfico acrescentar uma terapia adjuvante, que envolva glucocorticoides, anticoagulantes e analgésicos (ESDA, 2017a). No que diz respeito aos pacientes com a SVC, normalmente é necessário proceder ao tratamento cirúrgico após a estabilização (Noack et al., 2021). Além disso, a AHS recomenda que estes pacientes subsequentemente iniciem o tratamento adulticida (Tahir et al., 2019). Outras abordagens terapêuticas não recomendadas, dizem respeito às terapias alternativas (Drake et al., 2015), como por exemplo, as modalidades de

mortalidade lenta dos nemátodes e os tratamentos naturais (fitoterapia) (AHS, 2020).

2.7.1 – Avaliação pré-adulticida

A avaliação pré-adulticida tem em consideração o estadiamento realizado ao paciente após o diagnóstico, assim como a sua classificação de acordo com o risco inerente ao desenvolvimento de complicações tromboembólicas durante o decurso do tratamento ou posteriormente ao mesmo (AHS, 2020). Esta classificação, apresentada na **Tabela 5**, depende da idade, do tamanho do animal, da carga parasitária associada à severidade da doença e da possibilidade do tutor promover a restrição da atividade física do animal durante o tratamento (Simón et al., 2012). Assim sendo, os animais que pertençam ao grupo de baixo risco terão abordagens terapêuticas distintas dos do grupo de elevado risco (Ljubica & Vesna, 2020).

Tabela 5 - Classificação do nível de risco de desenvolvimento de complicações tromboembólicas (adaptado de Simón et al., 2012; Ljubica & Vesna, 2020).

Classe I: Baixo risco	Classe II: Elevado risco
<p>Cães que apresentem todas estas condições:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Ausência de sinais clínicos; - Baixos níveis de antigénios circulantes ou teste antigénico negativo, com microfilárias em circulação; - Radiografias torácicas normais; - Ecocardiografia sem evidência de parasitas ou de hipertensão pulmonar; - Ausência de doenças concomitantes; - Possibilidade dos tutores limitarem a atividade física do paciente. 	<p>Cães que apresentem pelo menos uma destas condições:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Sinais clínicos relacionados com a doença (tosse, intolerância ao exercício e ascite); - Elevados níveis de antigénios em circulação; - Radiografias torácicas anormais; - Ecocardiografia com evidência de parasitas e/ou de hipertensão pulmonar; - Presença de doenças concomitantes; - Impossibilidade dos tutores limitarem a atividade física do paciente.

2.7.2 – Estabilização dos pacientes

A maioria dos animais com DCP apresentam sinais clínicos significativos, requerendo um tratamento de suporte (estabilização) antes de se iniciar o protocolo para o tratamento da doença (Simón et al., 2012).

A estabilização a ser instituída deve ter em consideração dois aspetos fundamentais: se a doença promovida se limita à inflamação nos pulmões e na vasculatura pulmonar, ou se o paciente apresenta sinais de ICCD (Nelson, 2015).

No que concerne à estabilização dos pacientes que apresentam HP, o objetivo passa por promover a diminuição da severidade dos sinais clínicos e da progressão da doença (Reinero et al., 2020). Para que tal seja possível, estes pacientes requerem na maior parte dos casos suplementação de oxigénio (Reinero et al., 2020), repouso com restrição da atividade física (Ames & Atkins, 2020) e uma fluidoterapia adequada (AHS, 2020), que evite promover a sobrecarga de volume (Johnson, 2014). Além disso, existem diversos agentes farmacológicos que serão benéficos nesta fase, como é o caso dos glucocorticoides (Nelson, 2015), os agentes vasodilatadores (Kellihan, 2020) e os inotrópicos positivos (Morita et al., 2020). A importância da utilização dos glucocorticoides cinge-se ao facto de promoverem a redução da doença cardiovascular e pulmonar (Nelson, 2015). Por sua vez, os agentes vasodilatadores (como o sildenafil, que deve ser administrado na dose de 1-2 mg/kg, por via oral (PO), três vezes por dia (TID)) são muito benéficos na redução da pressão sanguínea nas APs (Kellihan, 2020). Os agentes inotrópicos positivos (nomeadamente o pimobendan, administrado por via intravenosa (IV), na dose 0,15 mg/kg) são utilizados com o intuito de aumentar o volume sistólico e, conseqüentemente, o DC (Morita et al., 2020).

Os pacientes com TEP irão requerer cuidados adicionais que podem incluir a utilização de agentes trombolíticos e antitrombóticos (Ames & Atkins, 2020). No entanto, ainda não existe um consenso sobre a sua utilização (Ames & Atkins, 2020). No que diz respeito à terapia antitrombótica, existe uma preferência na utilização de heparina cálcica ou outros agentes anticoagulantes, em relação aos agentes antiplaquetários (Reinero et al., 2020).

É de extrema relevância referir que os pacientes que se encontrem estáveis, devem ser submetidos a uma avaliação clínica duas semanas após ter sido iniciado ou alterado o tratamento para a HP. Esta avaliação deve ser realizada novamente passados

três a seis meses, bem como sempre que exista exacerbação dos sinais clínicos. (Reinero et al., 2020)

Por outro lado, os que se apresentem com SVC, irão requerer uma estabilização que inclua diuréticos e inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA), com o intuito de reduzir a sobrecarga cardíaca inerente. No que diz respeito aos diuréticos, a furosemida pode ser administrada na dose de 1 mg/kg, PO, a cada 12 horas, ou seja, duas vezes por dia (BID). Em relação ao IECA, o enalapril tende a ser utilizado nestes pacientes, na dose de 0,5 mg/kg, PO, uma vez por dia (SID). Adicionalmente, a administração de corticosteroides (como a prednisolona, na dose 0,5 mg/kg, PO, BID) e anti-histamínicos (cetirizina na dose 1 mg/kg, PO, SID) uma vez por semana antes do procedimento cirúrgico demonstra-se benéfica na redução do risco tromboembólico induzido durante a intervenção cirúrgica. (Marinov & Zlateva-Panayotova, 2019)

Por fim, no que diz respeito aos pacientes com ICCD, a sua estabilização cinge-se ao alívio da congestão, melhoria do DC e da perfusão dos órgãos, assim como a manutenção da pressão sanguínea e do ritmo cardíaco (Rosenthal & Oyama, 2020). Para que tal seja possível, os pacientes irão necessitar da administração de diuréticos, agentes vasodilatadores e inotrópicos positivos (Rosenthal & Oyama, 2020). É relevante referir que a fluidoterapia não deve ser administrada simultaneamente com a terapia diurética (Rosenthal & Oyama, 2020).

Numa primeira instância, optamos pela furosemida (diurético de ansa, na dose 2-4 mg/kg, IV/intramuscular (IM)/subcutâneo (SC), a cada duas a quatro horas), como diurético de primeira linha (Ames & Atkins, 2020). Nos casos crónicos, tende a ser necessário utilizá-la juntamente com a espironolactona (agente diurético poupador de potássio e bloqueador neurohormonal, conferindo inibição da aldosterona, na dose 2 mg/kg/dia). No entanto, se os animais apresentarem efusão pericárdica ou tamponamento cardíaco, a utilização de diuréticos encontra-se contraindicada (Rosenthal & Oyama, 2020). Por sua vez, em pacientes com ICC refratária, a dose destes diuréticos pode ser aumentada ou proceder à substituição da furosemida pela torasemida (diurético de ansa mais potente e com tempo de semi-vida prolongado, na dose 0,1-0,6 mg/kg, SID) (Rosenthal & Oyama, 2020).

A utilização de inotrópicos positivos (como o pimobendan, na dose 0,25 mg/kg, PO, BID) e vasodilatadores (nomeadamente IECAs e bloqueadores dos canais de cálcio)

deve ser considerada nos animais que apresentem doença renal ou cujas respostas aos diuréticos instituídos não tenham sido satisfatórias (Rosenthal & Oyama, 2020). O pimobendan é o inotrópico positivo escolhido por excelência (Simón et al., 2012).

No que diz respeito aos agentes vasodilatadores, os IECAs são considerados a primeira linha de escolha (Nelson, 2015), mas só devem ser iniciados após o animal se encontrar estável, hidratado e com as pressões sanguíneas normalizadas (Rosenthal & Oyama). Não existem evidências de nenhum benefício clínico obvio na escolha de um IECA em relação a outro, a não ser tendo em consideração a diferença existente entre a absorção, o metabolismo e a secreção de cada um (Rosenthal & Oyama, 2020). Assim sendo, é relevante salientar que os pacientes com doença cardíaca e hepática concomitantemente irão beneficiar da utilização do lisinopril (na dose 0,25-0,5 mg/kg, SID) (Rosenthal & Oyama, 2020).

Em relação aos bloqueadores dos canais de cálcio, a amlodipina (na dose 0,1-0,4 mg/kg, SID) é o fármaco que apresenta propriedades vasodilatadoras mais potentes e, em contrapartida, menor ação inotrópica e cronotrópica negativa (Rosenthal & Oyama, 2020). Existem ainda terapias adicionais que devem ser consideradas nos pacientes com ICCD, como o caso da remoção de fluido pleural, pericárdico e/ou abdominal (Ames & Atkins, 2020).

2.7.3 – Tratamento recomendado pela AHS

Os cães com DCP alojam parasitas em diferentes estádios de desenvolvimento (microfilárias, larvas juvenis e adultas), sendo que cada estadio é mais ou menos suscetível a um dado tratamento (ESDA, 2017a). Assim sendo, o protocolo estabelecido terá de incluir diversos agentes farmacológicos, como é o caso do dicloridrato de melarsomina, as lactonas macrocíclicas e um antibiótico pertencente ao grupo das tetraciclina (por exemplo, a doxiciclina) (Ljubica & Vesna, 2020).

É relevante evidenciar que o dicloridrato de melarsomina é o único adulticida aprovado para este tratamento (ESCCAP, 2019), tendo demonstrado eficácia contra os parasitas de idades superiores aos quatro meses (Carretón et al., 2020b). No que diz respeito às lactonas macrocíclicas, existem estudos que comprovaram uma eficácia de 100% contra as larvas com menos de 30 dias de idade (Bowman & Drake, 2017). Por outro lado, a doxiciclina desempenha uma ação ao nível da *Wolbachia* spp. presente em

todos os estadios de desenvolvimento do parasita (ESDA, 2017a), bem como nas próprias microfilárias (Carretón et al., 2020a).

O tratamento recomendado pela AHS consiste num protocolo que se inicia com a administração das lactonas macrocíclicas e da doxiciclina, imediatamente após o diagnóstico definitivo (AHS, 2020). Em seguida, são administradas 3 doses de dicloridrato de melarsomina (Vieira et al., 2014), independentemente da severidade da doença (Paterson et al., 2020). O objetivo deste pré-tratamento antes do adulticida é para minimizar a “janela de suscetibilidade” (Carretón et al., 2020b), que é definida como o período entre o momento do diagnóstico e o instante em que os parasitas presentes não são suscetíveis nem ao tratamento com lactonas macrocíclicas, nem ao adulticida (Bowman & Drake, 2017), como demonstra a **Figura 20**. Este período consiste em dois a três meses antes da administração do adulticida (Carretón et al., 2020b), no qual o pré-tratamento irá promover a eliminação das L3 e L4 presentes nos tecidos, que tenham mais de dois meses de idade (Nelson, 2015). Adicionalmente, este período irá permitir que as larvas com idades entre os dois e os quatro meses amadureçam até ficarem suscetíveis ao adulticida (Nelson, 2015), bem como irá evitar a reinfeção (ESDA, 2017a).

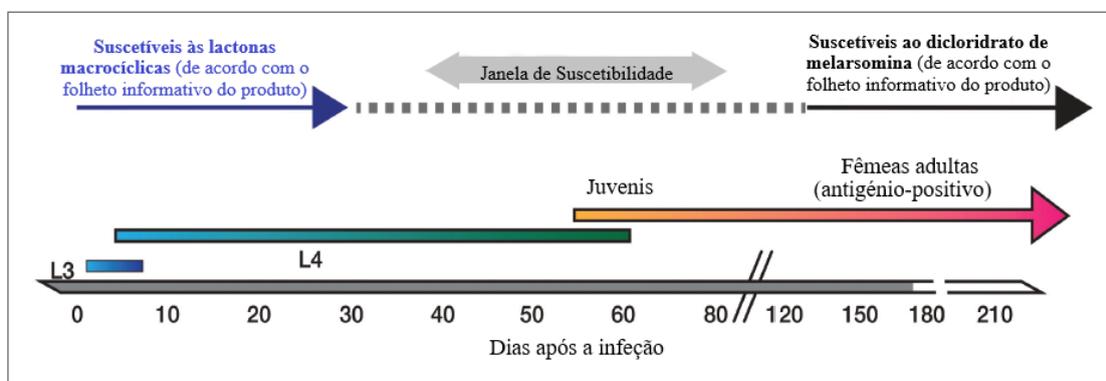


Figura 20 - Períodos de suscetibilidade das lactonas macrocíclicas e do dicloridrato de melarsomina conforme o desenvolvimento de *D. immitis*. Fonte: adaptado de Nelson, 2015.

As lactonas macrocíclicas devem ser administradas mensalmente durante o decurso do tratamento (Moorhead, 2021). A doxiciclina, por sua vez, deve ser administrada na dose de 10 mg/kg, PO, BID, durante quatro semanas (Tahir et al., 2019; Diniz, 2020). No que diz respeito ao dicloridrato de melarsomina, a primeira injeção IM profunda deve ser administrada nos músculos epaxiais lombares (entre a terceira e a

quinta vértebras lombares) (AHS, 2020) na dose de 2,5 mg/kg (ESDA, 2017a), no 60º dia de tratamento (Nelson, 2015). A segunda administração deve ser realizada 30 dias depois e a última após 24 horas (Nelson, 2015). Este protocolo de três doses de adulticida demonstrou-se 100% eficaz contra os parasitas machos e 98% eficaz contra as fêmeas (Bowman & Drake, 2017), além de promover uma morte gradual dos parasitas, minimizando a severidade do TEP. É igualmente importante que o animal faça restrição da atividade física, desde o momento do diagnóstico (ESDA, 2017a) até seis a oito semanas após a última injeção do adulticida (Moorhead, 2021), com o intuito de reduzir as complicações tromboembólicas (Ljubica & Vesna, 2020).

O TEP é uma consequência inevitável inerente ao sucesso da terapia adulticida (Moorhead, 2021), apesar de ser um evento com risco de vida, uma vez que pode promover uma obstrução parcial ou completa do fluxo sanguíneo (Alberigi et al., 2020). De uma maneira geral, os trombos relacionados com *D. immitis* apresentam-se na AP e no coração, sendo que os de pequenas dimensões podem ser clinicamente silenciosos (Johnson, 2014). No entanto, os de maiores dimensões podem promover sinais como dispneia, tosse e/ou hemoptise, cianose, síncope, colapso e até a morte súbita do animal (Ljubica & Vesna, 2020). Estes sinais tendem a se manifestar dentro de sete a dez dias, apesar de também poderem surgir quatro semanas após a administração do adulticida (AHS, 2020). Existem ainda outras complicações que podem advir durante e/ou após o tratamento adulticida, como é o caso das reações locais à administração do adulticida, a morte rápida das microfilárias (Sidley, 2018) e a SVC (Ljubica & Vesna, 2020).

Cerca de 1/3 dos cães tratados com o adulticida desenvolveram reações no local de administração (Ames & Atkins, 2020). Nestes pacientes foi característico a presença de leve edema e alguma dor localizada, sendo que alguns apresentaram uma certa relutância em se movimentar (ESDA, 2017a). A administração de um analgésico (como o tramadol) no momento da administração demonstrou reduzir a mialgia aguda associada (AHS, 2020).

No que concerne ao tratamento microfilaricida, a utilização de lactonas macrocíclicas que confirmam uma morte prolongada no tempo das microfilárias, como é o caso da ivermectina, selamectina ou moxidectina, em associação com a doxiciclina deve ser preferenciada (Sidley, 2018).

Por fim, a SVC também pode ser desencadeada pela terapia adulticida (Romano

et al., 2020), sendo uma complicação com risco de vida (Pariaut et al., 2020). A sua manifestação é aguda e apresenta a evidência de colapso súbito, astenia, anorexia, dispneia, taquipneia, palidez nas membranas mucosas, bilirrubinúria e hemoglobínúria (Ljubica & Vesna, 2020).

É de salientar que pode ser necessário realizar uma terapia de suporte durante e/ou após a terapia adulticida (ESDA, 2017a). Esta terapia de suporte deve incluir a administração de glucocorticoides, nomeadamente a prednisona, e de anticoagulantes (heparina cálcica) (Simón et al., 2012), com o intuito de reduzir as complicações associadas ao TEP (ESCCAP, 2019) e à patologia presente no parênquima pulmonar e na vasculatura arterial (Nelson, 2015). Assim sendo, a prednisona está recomendada, na dose anti-inflamatória de 0,5 mg/kg, BID, durante a primeira semana; 0,5 mg/kg, SID, ao longo da segunda semana e 0,5 mg/kg a cada 48 horas na terceira e quarta semana (Moorhead, 2021). É relevante referir que a administração dos glucocorticoides deve ser iniciada no dia da primeira e segunda administração do adulticida, mas também pode ser considerada quando os animais se apresentarem com sinais clínicos significativos, no momento do diagnóstico (AHS, 2020). Por sua vez, a heparina cálcica deve ser administrada entre 50 e 100 UI, SC, TID, sendo iniciada quatro a seis semanas após o tratamento adulticida (ESDA, 2017a).

A confirmação do sucesso da terapia médica pode ser alcançada através do recurso aos testes de antígenos (Moorhead, 2021) e de microfilárias (ESDA, 2017a), que devem ser realizados em simultâneo, nove meses após a última administração do dicloridrato de melarsomina (AHS, 2020). Em contrapartida, existem biomarcadores que podem ser utilizados com o intuito de avaliar a recuperação do paciente, uma vez que conseguem evidenciar a redução na inflamação vascular e no TEP, resultante do tratamento preconizado (Carretón et al., 2017a). Estes biomarcadores incluem os D-dímeros, a proteína C-reativa e a haptoglobina (Carretón et al., 2017a). Além disso, os níveis serológicos de cortisol também tenderam a sofrer reduções graduais no decorrer do tratamento (Carretón et al., 2016).

2.7.4 – Terapia cirúrgica

A terapia cirúrgica é recomendada aos pacientes que apresentem infeções nas APs (AHS, 2020) e/ou uma elevada carga parasitária, consequentemente,

desenvolvendo sinais característicos da SVC (Noack et al., 2021). O decurso clínico dos pacientes com SVC frequentemente acaba em morte, dentro de dois dias, se a extração cirúrgica não for proposta atempadamente (AHS, 2020).

Numa primeira instância, deve ser realizado um exame pré-anestésico ao paciente, que inclua as análises clínicas (Marinov & Zlateva-Panayotova, 2019) e uma avaliação ecocardiográfica (ESDA, 2017a). A relevância da avaliação ecocardiográfica cinge-se ao facto de permitir a visualização das APs e das câmaras cardíacas, com o intuito de determinar o número aproximado de parasitas adultos e a sua respetiva localização (ESDA, 2017a).

No que diz respeito ao protocolo anestésico, a pré-medicação pode ser realizada recorrendo à associação entre os agentes anticolinérgicos e as benzodiazepinas, sendo fundamental incluir a heparina cálcica (na dose de 100 U/kg, SC), como anticoagulante, antes da indução da anestesia. Os fármacos recomendados para a indução e a manutenção devem propiciar um elevado nível de analgesia, contribuindo para uma diminuição do período de recuperação pós-operativo. Assim sendo, o propofol (na posologia de 4 mg/kg, IV) permanece como o agente indutor mais recomendado e apreciado devido à sua elevada segurança, rápido início de ação e a falta de efeito cumulativo. No entanto, é relevante ter em consideração que este fármaco também promove hipotensão e sensibilização do miocárdio. O isoflurano, por sua vez, é recomendado para a manutenção do paciente num plano anestésico profundo. (Marinov & Zlateva-Panayotova, 2019)

Em relação aos procedimentos cirúrgicos, a extração dos parasitas pode ser realizada através de três métodos distintos (Marinov & Zlateva-Panayotova, 2019). Num desses métodos, o animal encontra-se em decúbito lateral esquerdo, permitindo o acesso à VJ externa direita através da venotomia (Simón et al., 2012). Posteriormente, é introduzida uma pinça jacaré flexível sob o controlo da fluoroscopia, de modo a proporcionar o acesso às câmaras cardíacas direitas e à AP, com o intuito de extrair os parasitas presentes (Simón et al., 2012). Esta técnica de mínima invasão demonstrou uma morbidade intraoperatória extremamente baixa, assim como uma elevada taxa de sucesso (Marinov & Zlateva-Panayotova, 2019). No entanto, não deve ser considerada nos animais de pequeno porte, uma vez que estes apresentam um lúmen vascular reduzido, dificultando o acesso e além disso, a venotomia promove uma perda de

grandes quantidades de sangue (Marinov & Zlateva-Panayotova, 2019).

Em contrapartida, um método que pode ser utilizado com sucesso em animais de pequeno porte consiste na extração percutânea com uma pinça de prensão endoscópica aplicada na VJ externa esquerda do paciente. Neste procedimento o paciente encontra-se em decúbito lateral direito quando é realizada a venopunção percutânea com uma agulha de 18 gauge, permitindo o acesso à VC cranial, ao AD e VD e, por fim, à AP. As vantagens inerentes a esta técnica passam pelo facto da hemorragia promovida ser mínima e não ser necessário realizar suturas nos músculos ou na pele em torno da VJ. (Marinov & Zlateva-Panayotova, 2019)

Por fim, outro método que permite a extração dos parasitas requiere a utilização de um dispositivo endoscópico de cesta de extração introduzido preferencialmente na VJ externa direita (AHS, 2020), sob a orientação da fluoroscopia. É relevante mencionar que esta metodologia pode ser conjugada com a ecocardiografia transesofágica intraoperatória, permitindo a visualização da localização e a extração das dirofilárias do AD e VD durante o procedimento (Saunders et al., 2020).

Posteriormente à recuperação cirúrgica de qualquer um destes métodos pode ser necessário proceder à terapia adulticida recomendada pela AHS, com o intuito de eliminar os restantes parasitas (Tahir et al., 2019), principalmente se ainda forem visualizados na ecocardiografia (AHS, 2020).

2.7.5 – Terapias alternativas

As terapias alternativas podem surgir nos casos em que o adulticida aprovado (dicloridrato de melarsomina) não se encontra disponível; o tutor não aceita o custo inerente ao tratamento adulticida ou se o risco médico da terapia for considerado demasiado elevado para aquele paciente (Drake et al., 2015). Estas terapias incluem as modalidades de mortalidade lenta dos nemátodes ou tratamentos naturais (fitoterapia) (AHS, 2020).

As modalidades de mortalidade lenta dos nemátodes consistem na administração de lactonas macrocíclicas a longo prazo, em doses profiláticas, isoladas ou em combinação com a doxiciclina (Savadelis et al., 2018). No entanto, a sua utilização pode contribuir para a formação de complexos imunes (Savadelis et al., 2018). Adicionalmente, estas modalidades também permitem o desenvolvimento de resistência

aos fármacos utilizados (Drake et al., 2015), uma vez que são administrados por um longo período de tempo (Simón et al., 2012), durante o qual continua a existir a progressão da doença, o que irá acentuar a pressão seletiva exercida nos parasitas (Drake et al., 2015). Assim sendo, a prática desta metodologia é especificamente desencorajada pelas diretrizes da *AHS*, *CAPC* e *ESCCAP* (Drake et al., 2015).

No que diz respeito aos tratamentos naturais, não existem fitoterapias que se tenham demonstrado seguras e eficazes no tratamento desta doença (AHS, 2020).

2.8– Prognóstico

De uma maneira geral, o prognóstico dos cães com DCP, que se apresentem nas classes menos severas tende a ser bom, se o tratamento aduicida e a restrição do exercício forem realizados segundo as diretrizes da *AHS* (Moorhead, 2021). Em contrapartida, os animais que apresentem sintomatologia neurológica ou uma condição clínica mais severa, como o caso do TEP (Ames & Atkins, 2020), da ICCD (Reinero et al., 2020) ou da SVC, o prognóstico tende a ser reservado a mau, se não forem instituídas atempadamente as terapias médicas (AHS, 2020) e/ou cirúrgicas recomendadas (Romano et al., 2020).

II. Estudo

1. Introdução

A DCP, numa primeira instância, tem impactos significativos no sistema cardiovascular e respiratório do paciente (ESDA, 2017a). No entanto, na maioria dos casos só será possível identificar os sinais quando a doença se encontra num estadiu mais avançado (ESDA, 2017a), podendo haver comprometimento da função renal (Purswell et al., 2019) ou até mesmo hepática, se o paciente se apresentar com ICCD (Simón et al., 2012). Além disso, o facto do parasita poder-se encontrar em diversas localizações ectópicas, faz com que exista uma panóplia de sinais que devem ser tidos em consideração, uma vez que podem estar relacionados com esta doença (Grimes,

Scott & Edwards, 2016; Pereira et al., 2021).

Existem inúmeros estudos referentes à DCP, no que concerne a sua prevalência (Vieira et al., 2014; Alho et al., 2018), a utilização de biomarcadores (Carretón et al., 2017a; Carretón et al., 2020a) e a eficácia exibida pelos diversos testes diagnósticos (Burton et al., 2020; Panarese et al., 2020; Lane et al., 2021; Panetta et al., 2021). Adicionalmente, a caracterização clínica e ecocardiográfica dos pacientes (McMahon & Saelinger, 2015; Mircean et al., 2017; Kim et al., 2019; AHS, 2020; Ljubica & Vesna, 2020; Romano et al., 2020), bem como a avaliação dos alelos presentes nos genes MDR1 (Firdova et al., 2016; Soussa et al., 2019; Marelli et al., 2020) também se encontram descritas. Apesar de existir um conhecimento aprofundado desta doença, ao conhecimento da autora em nenhum destes trabalhos houve uma avaliação dos parâmetros de função cardíaca e hemodinâmicos tendo em consideração as novas diretrizes do Colégio Americano de Medicina Interna Veterinária (*ACVIM*, do inglês *American College of Veterinary Internal Medicine*), no que diz respeito ao diagnóstico, classificação, tratamento e monitorização da hipertensão pulmonar em cães. Assim sendo, este estudo pretende avaliar os efeitos desta doença a nível cardíaco e hemodinâmico, bem como a progressão do nível clínico ao longo do tratamento instituído.

2. Objetivos

O objetivo primordial deste estudo é proceder a uma avaliação dos efeitos da DCP sobre os parâmetros intrínsecos à função cardíaca e hemodinâmica dos cães. Para que tal fosse possível, procedeu-se ao estadiamento da classe de severidade da doença onde cada paciente se inseria, através da associação entre os achados obtidos no exame clínico e nos testes de diagnóstico realizados posteriormente. Outro objetivo complementar consiste na avaliação da progressão do estadiamento de cada paciente ao longo do tratamento preconizado.

3. Materiais e Métodos

3.1– Plano de estudo

O estudo inclui 13 cães e foi realizado num ambiente hospitalar veterinário. De uma maneira geral, todos os cães (de idade superior a sete meses) que se dirigiram ao hospital e cuja prevenção da DCP não se encontrasse nos conformes foram submetidos a testagem serológica para antigénio de *D. immitis*. Posteriormente, foi realizada a confirmação da existência e identificação das microfilárias numa amostra de sangue periférico, através do exame de sangue fresco observado ao microscópio ótico.

Os critérios de inclusão neste estudo são:

- a presença de teste antigénico de *D. immitis* positivo;
- identificação de microfilárias de *D. immitis* no sangue periférico do cão.

Por outro lado, os critérios de exclusão são:

- cães que morreram durante a estabilização e antes de ser realizada a ultrassonografia cardíaca;
- tutor sem disponibilidade financeira para a realização da ultrassonografia cardíaca;
- cães cujo protocolo de tratamento não foi iniciado.

As variáveis registadas em cada paciente disseram respeito à caracterização geral do indivíduo (mediante da sua idade, porte, raça, género, estado reprodutivo e sinais clínicos apresentados), bem como as alterações evidenciadas nas análises sanguíneas e nos exames imagiológicos. Além disso, a medicação utilizada durante a estabilização médica e na duração do tratamento também foi considerada relevante.

Numa primeira instância, as análises sanguíneas e os exames imagiológicos foram realizados antes do tratamento ser iniciado, de modo a poder-se proceder ao estadiamento do animal. Adicionalmente, estes exames foram repetidos sempre que a condição clínica do paciente o justificasse. O tratamento adotado seguiu as recomendações da *AHS* e foi realizado na sua maioria em casa dos tutores dos animais avaliados, à exceção do medicamento adulticida que foi sempre realizado em ambiente hospitalar, requerendo a hospitalização por um, dois ou três dias.

3.2– Colheita e análise sanguínea

Numa primeira instância, foi realizada a tricotomia do local onde se pretendia fazer a colheita da amostra sanguínea, que na maioria dos casos se verificou ser na veia cefálica. Posteriormente, foi realizada a sua preparação asséptica com uma solução de gluconato de clorexidina a 4%. De seguida, foi realizada a venopunção cefálica com agulhas e seringas estéreis descartáveis (agulhas de 22G e seringas de 2ml) e a amostra sanguínea foi colocada num tubo contendo EDTA e num tubo seco, para posterior realização de análises hematológicas e bioquímicas (proteínas totais, ALP, ALT, glucose, BUN e CREA), respetivamente. A amostra sanguínea contida no tubo de EDTA também foi utilizada no teste rápido de antigénio Uranotest® *Dirofilaria* (Urano Vet SL, Barcelona, Espanha), com o intuito de detetar o antigénio de *D. immitis*. Além disso, foi utilizada uma gota da amostra sanguínea para a realização do exame de sangue fresco, de modo a averiguar a presença de microfilárias e, posteriormente, proceder à identificação do agente.

3.3– Exames imagiológicos

Todos os animais foram submetidos a uma radiografia torácica e/ou exame ecocardiográfico no momento do diagnóstico ou antes de ser iniciado o protocolo de tratamento.

A radiografia torácica foi realizada com o intuito de se proceder a uma avaliação cuidadosa dos campos pulmonares, da silhueta cardíaca e dos grandes vasos, maioritariamente a VC cranial e caudal, a aorta e as APs e veias pulmonares, bem como a existência de efusão pleural. Além disso, foram realizadas mensurações de modo a averiguar se o animal apresentava cardiomegália, através do *VHS*, assim como se as dimensões da traqueia e dos grandes vasos se encontravam dentro da normalidade para a espécie e/ou raça. De uma maneira geral, numa primeira instância foi realizada uma projeção lateral direita, sendo que nalguns pacientes realizou-se adicionalmente uma projeção ortogonal ventrodorsal/dorsoventral. Na maioria destes animais foi necessário proceder à realização de radiografias torácicas ao longo do decurso do protocolo de tratamento, permitindo uma avaliação do progresso do estado clínico do animal.

Por outro lado, o exame ecocardiográfico foi realizado com uma sonda sectorial pediátrica e possibilitou não só a visualização dos parasitas, como também a realização de uma avaliação mais precisa das câmaras cardíacas, das suas válvulas e dos seus vasos. Esta avaliação permitiu averiguar a probabilidade dos pacientes terem HP com base nas alterações que apresentaram, assim como avaliar se existiam evidências de ICCD.

3.4 – Análise estatística

Numa primeira instância foi utilizado o programa Microsoft Excel® (Microsoft office 365, versão 2208, Microsoft, Redmond, Washington, EUA), com o intuito de organizar os dados obtidos durante o estágio e, posteriormente, a análise estatística foi realizada através do programa SPSS® Statistics (IBM SPSS Inc., versão 28.0.1, Chicago, Illinois, EUA). Todas as variáveis foram avaliadas através dos testes de Kolmogorov-Smirnov e de Shapiro-Wilk para averiguar se apresentavam uma distribuição normal. Uma vez que tal não se comprovou, em nenhuma das variáveis, bem como a amostra deste estudo demonstrou ser inferior a 30 casos, optou-se pela seleção de testes não paramétricos. O teste de Kruskal-Wallis foi utilizado para apurar se existiam diferenças estatisticamente significativas entre as diversas variáveis independentes e as classes de estadiamento da doença. O teste de Spearman foi realizado com o propósito de constatar se existia correlação entre as variáveis ordinais. O teste do Qui-quadrado foi realizado meramente para comparar variáveis nominais, no que concerne à sua independência entre si. No entanto, foi necessário incorporar o coeficiente de correlação Phi, a fim de se poder avaliar o nível de robustez da associação estabelecida pelo teste do Qui-quadrado. O nível de significância estabelecido em todos os testes realizados foi de 0,05.

4. Resultados

4.1 – Caracterização da amostra

A caracterização dos pacientes (n=13) inseridos neste estudo, no que diz respeito

à sua idade, porte, raça, género e estado reprodutivo encontra-se evidenciada na **Tabela 6**. Os animais foram organizados conforme a sua idade em jovens, se apresentassem idade inferior aos três anos; adultos, se as suas idades estivessem compreendidas entre os quatro e os oito anos; e geriátricos, se tivessem idade superior aos oito anos. Em semelhança, estes pacientes foram agrupados em três categorias de acordo com o seu peso: porte pequeno, médio e grande.

Tabela 6 - Caracterização dos pacientes presentes no estudo.

Pacientes	Idade	Porte	Raça	Género	Estado Reprodutivo
1	Adulto	Médio	Fox Terrier	Macho	Não esterilizado
2	Geriátrico	Médio	English Cocker Spaniel	Macho	Não esterilizado
3	Adulto	Grande	Sem Raça Definida	Macho	Esterilizado
4	Adulto	Médio	Sem Raça Definida	Macho	Não esterilizado
5	Jovem	Médio	Sem Raça Definida	Macho	Esterilizado
6	Adulto	Grande	Sem Raça Definida	Macho	Não esterilizado
7	Adulto	Médio	Sem Raça Definida	Macho	Não esterilizado
8	Adulto	Médio	Sem Raça Definida	Macho	Não esterilizado
9	Adulto	Pequeno	Bulldog Francês	Macho	Não esterilizado
10	Jovem	Pequeno	Sem Raça Definida	Fêmea	Esterilizado
11	Adulto	Médio	Sem Raça Definida	Macho	Esterilizado
12	Adulto	Grande	Golden Retriever	Macho	Não esterilizado
13	Geriátrico	Grande	Labrador Retriever	Macho	Não esterilizado

Ao analisar a idade dos pacientes podemos verificar que existiu uma maior proporção de animais adultos (69,2%) em relação aos jovens (15,4%) e geriátricos (15,4%). Além disso, a idade média dos animais estudados foi de sete anos. No que diz respeito ao porte, o estudo revelou uma maior proporção de pacientes de porte médio (53,8%) em relação aos de porte pequeno (15,4%) e grande (30,8%).

Em termos estatísticos, foi realizado o teste de Kruskal-Wallis, com o intuito de avaliar se a distribuição da idade e do porte variava conforme as classes de

estadiamento, contudo não foi demonstrada relevância estatística entre estas variáveis. Por sua vez, o teste de Spearman foi realizado para verificar se existia relação entre as variáveis, mas tal não se comprovou. Adicionalmente, os mesmos testes estatísticos foram realizados com o propósito de averiguar se existia uma associação estatística relevante entre a idade e o porte dos animais estudados, apesar da mesma não ter sido identificada.

Em relação às raças, a maioria (oito) dos pacientes não tinha uma raça definida (61,5%), contudo nos cinco animais (38,5%) com raça definida existiu um exemplar de cada uma das seguintes raças: Bulldog Francês (7,7%), English Cocker Spaniel (7,7%), Fox Terrier (7,7%), Labrador Retriever (7,7%) e Golden Retriever (7,7%).

Em termos estatísticos, foi realizado o teste de Kruskal-Wallis e de Spearman, apesar de nenhum ter demonstrado evidência de uma associação significativa entre a raça e o respetivo porte dos cães avaliados. Adicionalmente foram realizados os testes de Kruskal-Wallis e do Qui-Quadrado, mas nenhum deles demonstrou uma relação estatisticamente significativa entre as raças e as classes de estadiamento da doença.

Relativamente ao género, a maioria (doze) dos pacientes eram machos (92,3%), enquanto um animal era fêmea (7,7%). Quanto ao estado reprodutivo, a maioria (nove) dos animais não se encontravam esterilizados (69,2%), mas quatro estavam esterilizados (30,8%).

No que concerne aos testes estatísticos realizados, tanto o teste do Kruskal-Wallis como o do Qui-quadrado revelaram não existir uma relação estatisticamente relevante entre o género e o estado reprodutivo.

4.2 – Sinais clínicos

Com o intuito de avaliar a distribuição dos sinais clínicos conforme a classe de estadiamento da doença, os pacientes foram classificados de acordo com o nível de evolução da doença em: classe I, se fossem assintomáticos ou com doença leve; classe II, se apresentassem doença moderada; classe III, se fosse severa; e, por fim, classe IV, se tivessem SVC. O **Gráfico 1** representa a distribuição dos sinais clínicos apresentados pelos animais, de acordo com a sua classe de estadiamento.

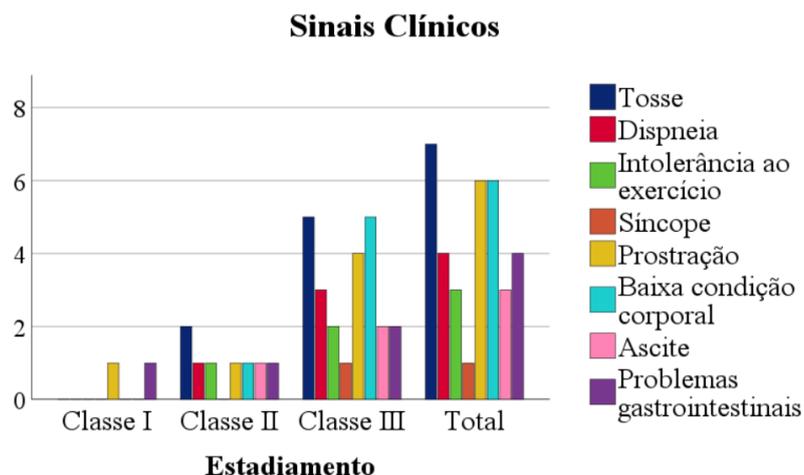


Gráfico 1 – Representação da distribuição dos sinais clínicos de acordo com a classe de estadiamento da doença.

Numa análise global dos sinais clínicos apresentados pelos cães com DCP, a tosse demonstrou ser o mais representativo, tendo sido referida por sete tutores (53,8%), seguindo-se da prostração e a baixa condição corporal que foram evidenciadas em seis pacientes (46,2%). A dispneia e a presença de problemas gastrointestinais foram identificadas em quatro dos animais (30,8%), enquanto a intolerância ao exercício e a ascite foram referenciadas em três (23,1%). Por fim, a síncope foi referida por um tutor (7,7%).

No que diz respeito à distribuição dos sinais clínicos dentro de cada classe, o único animal presente na classe I apresentou prostração e problemas gastrointestinais (7,7%), enquanto nos animais da classe II, foi reportado a presença de tosse em dois pacientes (15,4%), seguindo-se de um paciente (7,7%) que se apresentou com dispneia, intolerância ao exercício, prostração, baixa condição corporal, ascite e/ou problemas gastrointestinais. Em relação aos animais presentes na classe III, cinco apresentaram-se com tosse e baixa condição corporal (38,5%), quatro animais apresentaram prostração (30,8%) e três dispneia (23,1%). Por fim, a intolerância ao exercício, a ascite e a presença de problemas gastrointestinais foram reportados por dois tutores (15,4%) e, por último, a síncope foi identificada num paciente (7,7%).

Em termos estatísticos, foram realizados os testes de Kruskal-Wallis e do Qui-quadrado, mas não se verificou a existência de uma relação estatisticamente significativa entre os sinais clínicos e as classes de estadiamento.

4.3 – Análises sanguíneas

No que diz respeito às análises hematológicas, o **Gráfico 2** ilustra as alterações exibidas nos parâmetros hematológicos dos animais conforme a sua classe de DCP.

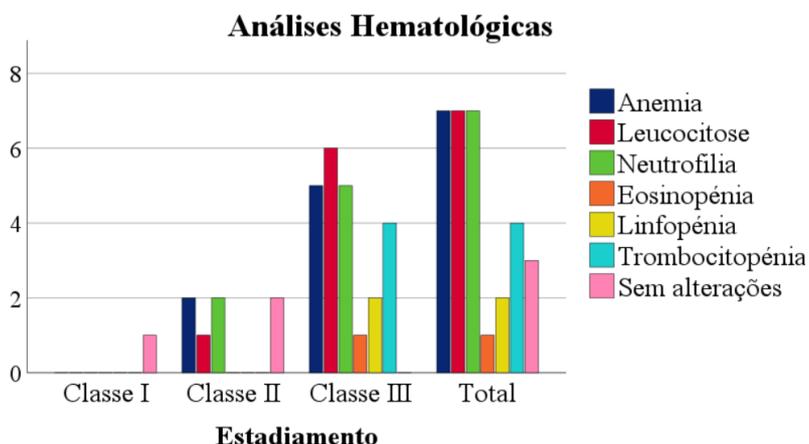


Gráfico 2 - Representação das alterações nos parâmetros hematológicos.

De um ponto de vista geral, é possível verificar que as alterações hematológicas mais representativas foram a anemia, a leucocitose e a neutrofilia, que estiveram presentes em sete pacientes (53,8%), seguindo-se a trombocitopénia que foi registada em quatro animais (30,8%). Por sua vez, três pacientes (23,1%) não exibiram alterações em nenhum dos parâmetros, enquanto dois apresentaram linfopénia (15,4%) e um identificou eosinopénia (7,7%).

Relativamente às alterações evidenciadas dentro de cada classe de estadiamento da doença, o único paciente (7,7%) presente na classe I não registou nenhuma alteração, contudo dois pacientes (15,4%) da classe II apresentaram anemia e neutrofilia, sendo que um deles (7,7%) também apresentou leucocitose. Os restantes dois pacientes (15,4%) presentes na classe II não evidenciaram alterações. Por fim, quanto aos oito pacientes (61,5%) presentes na classe III, seis animais (46,2%) apresentaram leucocitose, seguindo-se cinco com anemia e neutrofilia (38,5%), quatro com trombocitopénia (30,8%), dois com linfopénia (15,4%) e um com eosinopénia (7,7%).

Em termos estatísticos, o teste de Kruskal-Wallis não verificou nenhuma diferença significativa entre as alterações nas análises hematológicas e as classes de estadiamento. Por sua vez, o teste do Qui-quadrado evidenciou uma associação significativa entre a leucocitose e a classe III, bem como entre a trombocitopénia e a

classe III de estadiamento. Por conseguinte, o coeficiente de correlação Phi demonstrou que ambas correlações apresentam um efeito pequeno e positivo entre si.

Em relação às análises bioquímicas, o **Gráfico 3** representa as alterações nos parâmetros bioquímicos dos pacientes conforme a sua classe de estadiamento.

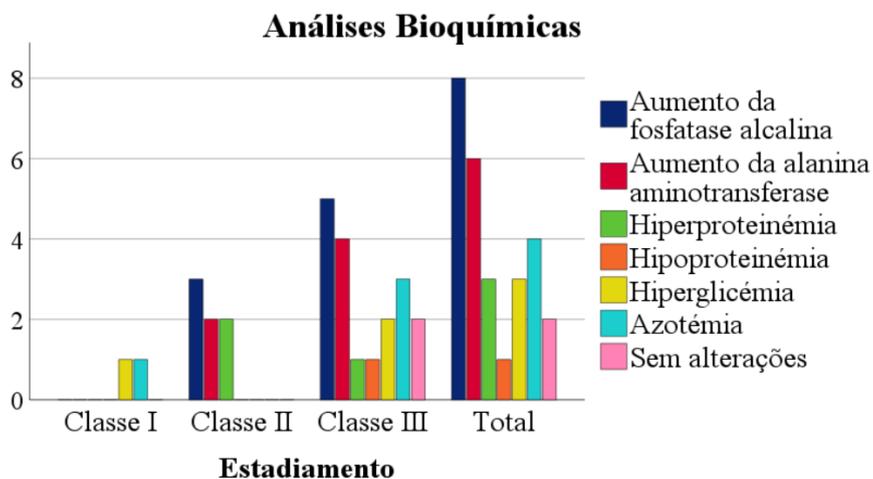


Gráfico 3 - Representação das alterações nos parâmetros bioquímicos.

Numa apreciação geral, é possível verificar que o parâmetro com maior representação foi o aumento das enzimas hepáticas evidenciado por nove pacientes (69,2%), dos quais oito (61,5%) apresentaram aumento na fosfatase alcalina e seis (46,2%) revelaram aumento da alanina aminotransferase. Em seguida, a azotémia foi observada em quatro animais (30,8%), a hiperproteinémia e a hiperglicémia em três (23,1%), enquanto dois pacientes (15,4%) não apresentaram alterações e um revelou hipoproteinémia (7,7%).

Ao analisar mais detalhadamente cada classe foi possível constatar que o único paciente (7,7%) pertencente à classe I apresentou hiperglicémia e azotémia. Por outro lado, dentro da classe II, três animais (23,1%) revelaram aumento da fosfatase alcalina e dois (15,4%) exibiram aumento da alanina aminotransferase e/ou hiperproteinémia. Por fim, relativamente aos pacientes inseridos na classe III, cinco animais (38,5%) apresentaram aumento da fosfatase alcalina, quatro animais (30,8%) revelaram aumento da alanina aminotransferase, enquanto três animais (23,1%) evidenciaram azotémia, dois animais (15,4%) hiperglicémia e um animal (7,7%) hiperproteinémia e/ou hipoproteinémia. Além disso, dois pacientes (15,4%) da classe III não apresentaram alterações.

No que concerne aos testes estatísticos, o teste de Kruskal-Wallis e o do Qui-

quadrado não evidenciaram relação entre os parâmetros bioquímicos e as classes de estadiamento da doença.

4.4 – Exames imagiológicos

No que concerne à radiografia torácica, o **Gráfico 4** retrata a distribuição dos achados radiográficos de acordo com a classe de estadiamento em que os animais se inseriam.

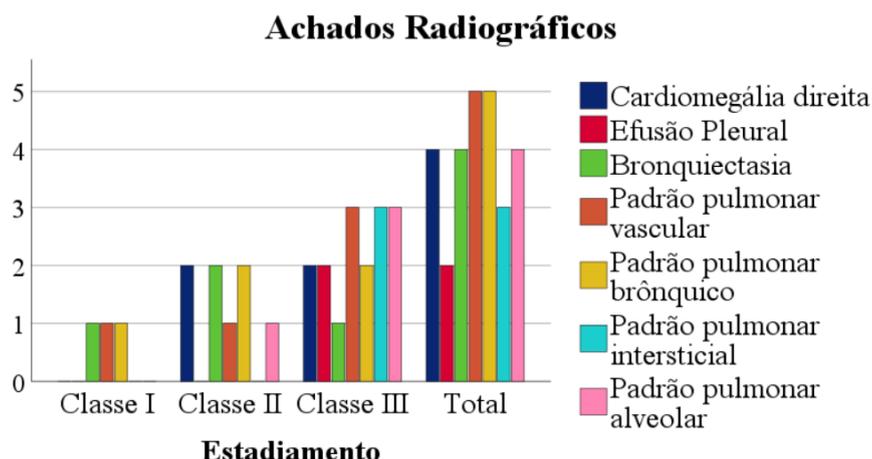


Gráfico 4 – Representação dos achados radiográficos segundo a classe da doença.

Numa análise geral dos achados radiográficos, é relevante referir que os padrões pulmonares vascular e brônquico demonstraram-se mais representativos nos animais afetados (representando cerca de 38,5%), seguindo-se da cardiomegália direita, bronquiectasia e padrão pulmonar alveolar que estiveram presentes em quatro animais (30,8%). O padrão pulmonar intersticial, por sua vez, foi reportado em três animais (23,1%) e o achado menos observado foi a efusão pleural, tendo sido reportada em dois animais (15,4%).

Por outro lado, numa análise direcionada para a classe I, verificou-se que o animal (7,7%) apresentou uma radiografia com a evidência de bronquiectasia, padrão pulmonar vascular e brônquico. Em contrapartida, dois dos animais (15,4%) pertencentes à classe II evidenciaram a presença de cardiomegália direita, bronquiectasia e o padrão pulmonar brônquico. Por fim, um paciente (7,7%) demonstrou apresentar um padrão pulmonar vascular e alveolar. Nos animais da classe III, três (23,1%) apresentaram um padrão pulmonar vascular, intersticial e alveolar,

enquanto dois pacientes (15,4%) evidenciaram cardiomegália direita, efusão pleural e padrão pulmonar brônquico, seguindo-se um paciente (7,7%) que apresentou bronquiectasia. A **Figura 21** retrata as alterações radiográficas apresentadas por um paciente com DCP moderada (classe II) e outro com DCP severa (classe III).

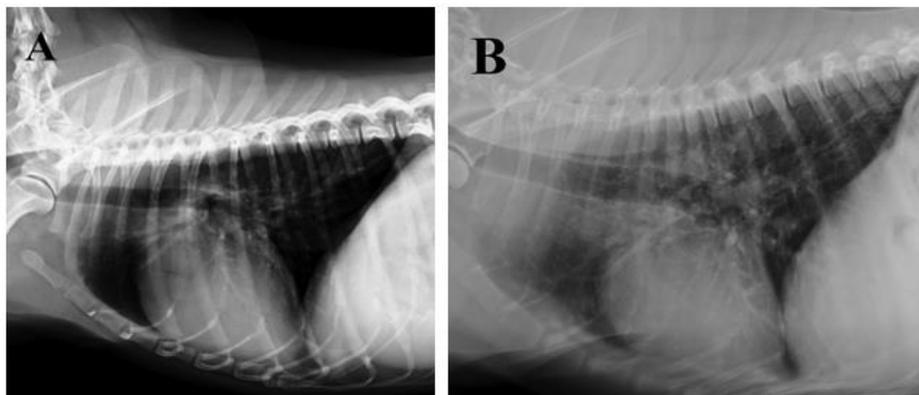


Figura 21 - Radiografia torácica lateral direito de um cão com dirofilariose cardiopulmonar moderada (A) e severa (B). (A) O paciente apresenta cardiomegália direita, padrão vascular pulmonar intersticial nodular focal a evoluir para alveolar. (B) O paciente revela cardiomegália direita, dilatação da artéria pulmonar principal, padrão pulmonar bronquial e intersticial. Fonte: imagens cedidas pelo HVM.

Em termos estatísticos, o teste de Kruskal-Wallis não evidenciou uma diferença significativa na distribuição dos achados radiográficos e as classes de estadiamento. No que diz respeito ao teste do Qui-quadrado, a única variável que revelou uma associação significativa foi o padrão pulmonar intersticial em relação à classe III e, de acordo com o coeficiente de correlação Phi, esta correlação apresenta um efeito pequeno e positivo.

Em relação ao exame ecocardiográfico, o **Gráfico 5** ilustra o registo das mensurações da RVT, mediante da classe de estadiamento de cada animal.

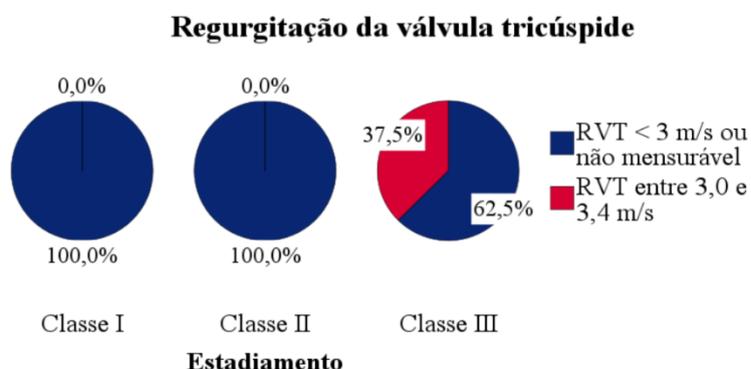


Gráfico 5 - Representação do registo da mensuração da regurgitação da válvula tricúspide (RVT) de acordo com o estadiamento dos cães avaliados.

Numa perspectiva geral, todos os animais presentes nas classes I e II apresentaram mensurações da RVT < 3,0 m/s ou não mensuráveis (100%), enquanto cinco dos animais presentes na classe III apresentaram mensurações entre 3,0 e 3,4 m/s (62,5%) e os outros três < 3,0 m/s (37,5%).

Em termos estatísticos, foram realizados os testes do Kruskal-Wallis e Qui-quadrado, porém nenhum evidenciou uma associação estatisticamente relevante entre estas variáveis.

Adicionalmente, foram recolhidos outros achados ecocardiográficos representativos de HP, bem como a evidência da presença de dirofilárias nas câmaras cardíacas ou nos seus vasos. Estes achados encontram-se retratados no **Gráfico 6** e permitem uma avaliação do efeito da DCP a nível cardíaco e hemodinâmico.

Achados Ecocardiográficos

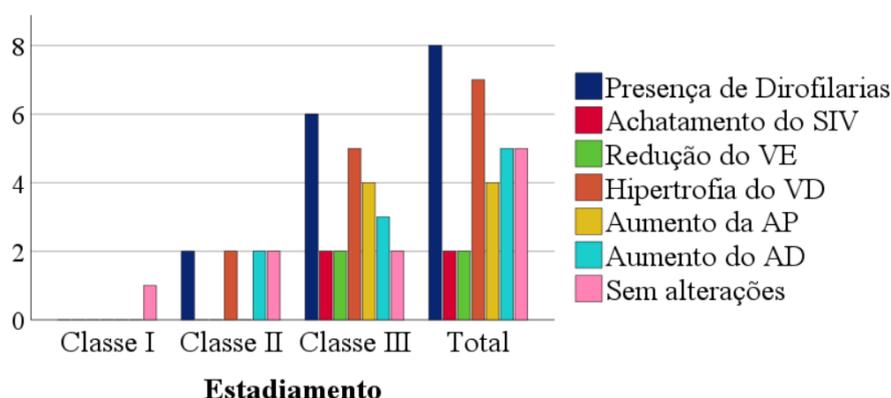


Gráfico 6 - Representação dos achados ecocardiográficos gerais, mediante da classe de estadiamento em que os animais se inseriram. Abreviaturas: SIV, septo interventricular; VE, ventrículo esquerdo; VD, ventrículo direito; AP, artéria pulmonar; AD, átrio direito.

Numa análise geral, a presença de dirofilárias demonstrou ser o achado mais frequente nas ecocardiografias destes pacientes, tendo sido evidenciado em oito dos cães com DCP (61,5%), seguindo-se a hipertrofia do VD que foi identificada em sete (53,8%). Por sua vez, cinco pacientes (38,5%) apresentaram aumento do AD e outros cinco (38,5%) não apresentaram alterações no exame ecocardiográfico. O aumento da AP foi evidenciado em quatro pacientes (30,8%) e, por fim, o achatamento do septo interventricular e a redução do ventrículo esquerdo foram identificados em dois (15,4%).

Segundo uma perspectiva mais direcionada para as classes de estadiamento, o

único paciente (7,7%) inserido na classe I não apresentou alterações no exame realizado, enquanto dois pacientes (15,4%) inseridos na classe II não apresentaram alterações e outros dois (15,4%) evidenciaram a presença de dirofilárias, hipertrofia do VD e/ou aumento do AD. Quanto aos pacientes presentes na classe III, foi possível observar a presença de dirofilárias em seis dos cães avaliados (46,2%), cinco (38,5%) apresentaram hipertrofia do VD, quatro (30,8%) evidenciaram aumento da AP, enquanto três (23,1%) apresentaram aumento do AD. Por fim, dois pacientes (15,4%) não apresentaram alterações no exame e outros dois (15,4%) apresentaram achatamento do septo interventricular e/ou redução do ventrículo esquerdo. A **Figura 22** evidencia os achados ecocardiográficos obtidos num paciente com DCP severa.



Figura 22 - Imagem ecocardiográfica de um cão com dirofilariose cardiopulmonar severa, mediante do plano longitudinal de quatro câmaras obtido na janela paraesternal direita. Presença de trombo de parasitas aderente à válvula tricúspide, dilatação do ventrículo direito e redução do ventrículo esquerdo, com achatamento do septo interventricular. Fonte: imagem cedida pelo HVM.

No que concerne aos testes estatísticos, o teste do Kruskal-Wallis não demonstrou uma diferença estatisticamente relevante entre as variáveis analisadas no exame ecocardiográfico e as classes de estadiamento da DCP. Em contrapartida, o teste do Qui-quadrado revelou uma associação significativa entre o aumento da AP e a classe III de estadiamento e, mediante o coeficiente de correlação Phi, a correlação entre estas variáveis demonstrou apresentar um efeito pequeno e positivo.

Por sua vez, a associação entre os resultados obtidos através do **Gráfico 5** e **Gráfico 6** permitiu avaliar os animais de acordo com o seu nível de probabilidade de ter

HP, que se encontra demonstrado no **Gráfico 7**.

Probabilidade de ter hipertensão pulmonar

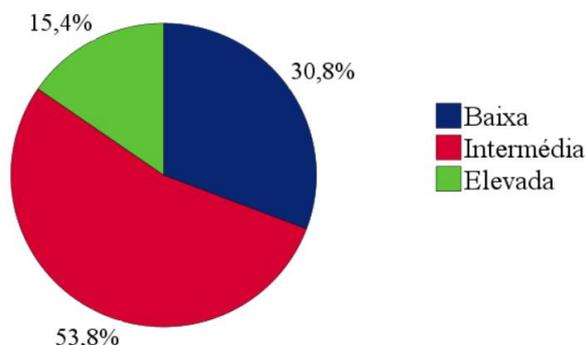


Gráfico 7 - Representação da proporção de animais de acordo com o seu nível de probabilidade de ter hipertensão pulmonar, segundo os achados ecocardiográficos.

Apesar da maioria (sete) dos animais avaliados apresentar uma probabilidade intermédia (53,8%), cerca de quatro cães apresentaram uma probabilidade baixa de ter HP (30,8%), enquanto dois animais demonstraram um nível elevado (15,4%).

No que diz respeito aos testes estatísticos realizados, o teste de Kruskal-Wallis não evidenciou diferenças estatisticamente significativas entre o nível de probabilidade dos animais apresentarem HP e a classe de estadiamento onde se inseriam, porém o teste de Spearman apurou a existência de uma correlação positiva, mas de pequena relevância entre estas variáveis.

4.5 – Estadiamento e a sua progressão ao longo do tratamento

A classe de estadiamento de cada animal avaliado foi estabelecida através da associação entre os sinais clínicos, os resultados das análises sanguíneas, bem como os achados imagiológicos, permitindo aferir o nível de evolução da doença de cada animal em particular. Além disso, antes de ser iniciado o tratamento preconizado pela *AHS*, foi necessário estimar o nível de risco de desenvolvimento de complicações tromboembólicas de cada paciente, sendo este caracterizado como baixo ou elevado, de acordo com a **Tabela 5**. O **Gráfico 8** representa a associação entre a proporção de animais de cada classe de estadiamento e o seu respetivo nível de risco de

desenvolvimento de complicações tromboembólicas.

Nível de risco de complicações tromboembólicas

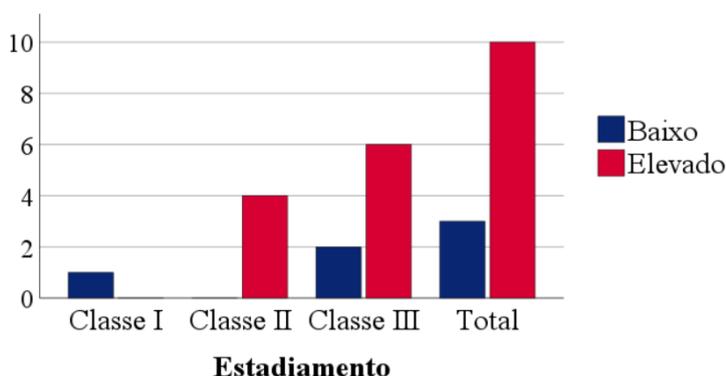


Gráfico 8 - Representação da associação entre a proporção de animais presentes em cada classe de estadiamento e o seu respectivo nível de risco de desenvolvimento de complicações tromboembólicas.

De um ponto de vista geral, dez dos animais avaliados (76,9%) evidenciaram um nível elevado de risco de complicações tromboembólicas e três animais (23,1%) apresentaram um risco baixo. Por outro lado, numa análise direcionada para a classe I, verificou-se que o único animal presente na classe I apresentou um baixo risco (7,7%) de desenvolver complicações, enquanto os quatro animais presentes na classe II demonstraram um nível elevado (30,8%). Em relação aos animais de classe III, dois apresentaram um baixo risco (15,4%) e seis apresentaram um nível elevado (46,2%).

Em termos estatísticos, foram realizados os testes de Kruskal-Wallis e de Spearman, apesar de nenhum ter demonstrado evidência de uma associação significativa entre estas duas variáveis.

No que diz respeito ao tratamento, a **Tabela 7** evidencia o tratamento preconizado segundo as diretrizes da *AHS* e direcionado para cada estadio de DCP identificado nos pacientes estudados.

Tabela 7 – Protocolo terapêutico realizado aos animais inseridos no estudo.

Classe I: Assintomático a leve	Classe II: Doença moderada	Classe III: Doença severa
<p>Iniciar a restrição do exercício, que deve durar até seis a oito semanas após a última injeção do adu..</p> <p>Adm. de pred. (0,5 mg/kg PO BID durante sete dias; depois passa para SID durante sete dias; próximas duas semanas é dado a cada 48h) se o paciente apresentar sinais clínicos.</p> <p>Adm. de ivermectina (uma vez por mês, todos os meses) e doxiciclina (10 mg/kg PO BID durante quatro semanas).</p> <p>Adm. do adu. (2,5 mg/kg IM profundo) no 60º dia de tratamento e depois novamente passados 30 dias e a última após 24h.</p> <p>Nos dias da adm. do adu., também iniciar a adm. da pred..</p>	<p>Suplementação de oxigênio e iniciar a restrição do exercício.</p> <p>Adm. de pred. (mesma posologia da evidenciada na classe I), sildenafil (1-2 mg/kg PO TID) e pimobendan (0,15 mg/kg IV).</p> <p>Adm. de furosemida (2-4 mg/kg IV/IM/SC a cada 2 a 4 horas) e benazepril (0,25-0,5 mg/kg BID-SID), nos pacientes com cardiomegália direita.</p> <p>Adm. de ornipural® (Vétoquinol S.A., Magny-Vernois, França) (2-5 ml), nos pacientes com evidência de lesão hepática.</p> <p>Iniciar a adm. de ivermectina, doxiciclina e adu., como está mencionado na classe I.</p>	<p>Suplementação de oxigênio e iniciar a restrição do exercício.</p> <p>Adm. de pred., sildenafil e pimobendan (como está mencionado na classe II).</p> <p>Adm. de clopidogrel (3-5 mg/kg SID) nos pacientes com TEP.</p> <p>Adm. de furosemida (2-3 mg/kg/dia PO) e benazepril (mesma dose da classe II) nos pacientes com ICCD, podendo ser necessário acrescentar a espironolactona (2 mg/kg/dia).</p> <p>Adm. de ornipural® (como está mencionado na classe II).</p> <p>Adm. de WeNefro® (Wepharm S.A., Porto, Portugal) (1 ml por 4kg PV, BID), nos pacientes com IRC.</p> <p>Realização da toracocentese e/ou abdominocentese nos pacientes com efusão pleural e/ou ascite, respetivamente.</p> <p>Iniciar a adm. de ivermectina, doxiciclina e adu., como está mencionado na classe I.</p>

Legenda: adm., administração; adu., adulticida; pred., prednisolona; PO, via oral; SID,

uma vez por dia; BID, duas vezes por dia; TID, três vezes por dia; IM, via intramuscular; IV, via intravenosa; SC, via subcutânea; TEP, tromboembolismo pulmonar; ICCD, insuficiência cardíaca congestiva direita; PV, peso vivo; IRC, insuficiência renal crônica.

Por sua vez, o **Gráfico 9** ilustra a proporção de nove animais que concluiu o protocolo, representando cerca de 69,2%, em relação aos cerca de quatro pacientes que não chegaram a fazer a primeira administração do adulticida (30,8%). No que diz respeito aos animais que não concluíram o protocolo, três pacientes descompensaram da ICCD (sendo que um deles desenvolveu SVC) e acabaram por falecer (23,1%), enquanto o outro paciente não voltou ao hospital para continuar o tratamento (7,7%).

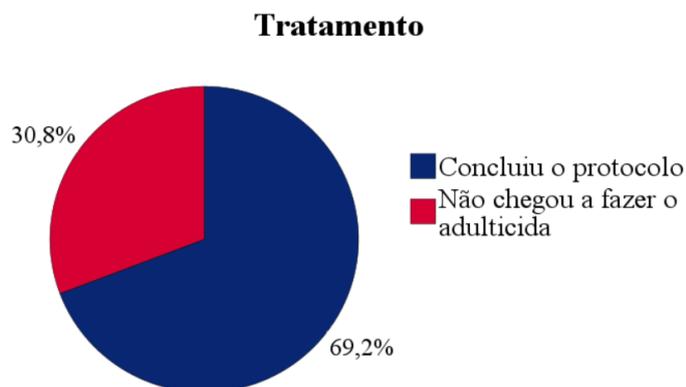


Gráfico 9 – Representação da proporção de animais que concluíram ou não o protocolo de tratamento.

Os testes do Kruskal-Wallis e do Qui-quadrado foram realizados com o intuito de verificar se existia uma associação significativa em termos estatísticos entre o tratamento e as classes de estadiamento, apesar do mesmo não se ter verificado.

Tendo em consideração que os pacientes tiveram de ser avaliados e a sua classe de estadiamento, conseqüentemente, ajustada ao longo do decurso do tratamento, o **Gráfico 10** retrata a evolução desta avaliação em cada paciente. É relevante mencionar que o 1º dia de tratamento diz respeito ao dia imediatamente a seguir ao diagnóstico da DCP, no qual o paciente inicia a administração da lactona macrocíclica e da doxiciclina. Por sua vez, o 30º dia refere-se à segunda administração da lactona macrocíclica, enquanto o 60º dia indica o momento da administração da primeira dose do adulticida, juntamente com a prednisolona e a lactona macrocíclica. O 90º dia de tratamento é

quando existe a administração da segunda dose do adulticida e o 365º dia faz referência ao momento em que deve ser realizado o teste para detecção de antígeno de *D. immitis*, bem como identificação das microfilárias.

Evolução do estadiamento ao longo do tratamento

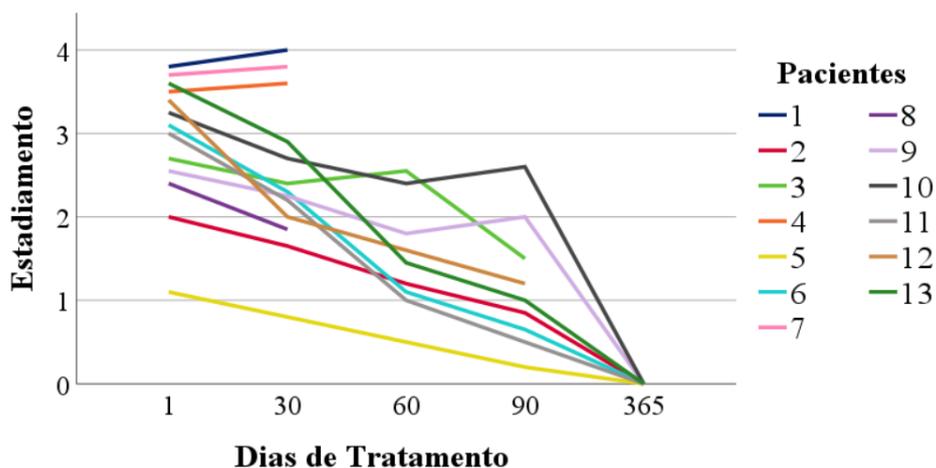


Gráfico 10 - Representação da evolução do estadiamento do paciente ao longo do tratamento preconizado.

Numa análise geral é possível verificar que três animais (23,1%) pioraram a sua condição clínica no início do tratamento e acabaram por falecer, não tendo por isso realizado a primeira administração do adulticida no 60º dia. Em contrapartida, um animal (7,7%) apesar de ter melhorado na sua condição clínica também não chegou a realizar a primeira administração do adulticida. Os restantes nove animais (69,2%) demonstraram melhorias ao longo do decurso do tratamento na sua condição clínica, apesar de dois pacientes (15,4%) terem exibido algumas reações adversas (como o caso de tremores musculares, prostração e TEP) após a administração do adulticida, tendo concluído o protocolo estipulado. Além disso, sete destes animais (53,8%) realizaram o teste de antígeno de *D. immitis* no 365º dia de tratamento e registaram um resultado negativo, enquanto os restantes dois animais (15,4%) não regressaram ao hospital para realizar o teste.

5. Discussão

Os resultados obtidos através deste estudo demonstraram algumas evidências de associações estatisticamente relevantes entre as variáveis estudadas, porém existem

outros achados interessantes que merecem ser tidos em consideração.

Neste estudo existiu uma maior proporção de pacientes adultos e de porte médio, coincidindo com alguns estudos presentes na literatura (Hays et al., 2020), apesar da idade média registada ter sido superior à reportada nalguns estudos (Carretón et al., 2020a; Romano et al., 2020). No que diz respeito às raças, nenhuma raça dos pacientes estudados se encontrou na lista das principais raças reportadas por apresentarem indivíduos com mutação MDR1 (Gwaltney-Brant et al., 2018; Marelli et al., 2020). Além disso, existiu uma maior representação de pacientes machos em relação às fêmeas, indo de encontro ao esperado, uma vez que o género masculino foi identificado como fator de risco em cães com DCP (Pariat et al., 2020).

Com base na análise realizada aos sinais clínicos apresentados pelos pacientes, é de salientar o facto da tosse ser o sinal com maior representação, seguindo-se a prostração, a baixa condição corporal e a dispneia, o que coincide com os achados reportados na literatura (ESCCAP, 2019). No que diz respeito à prostração, é relevante ter em consideração que a sua evidência pode ser encontrada em todas as classes (Bowman & Drake, 2017), sendo que com a progressão da severidade da doença, este sinal tende a ser mais evidente. Do mesmo modo, a baixa condição corporal e a dispneia tendem a se apresentar nos animais que apresentam DCP crónica (Ljubica & Vesna, 2020). Além disso, a baixa condição corporal e a ascite, por serem sinais clínicos característicos dos pacientes com ICCD, é expectável que tenham uma maior representação nos pacientes presentes na classe III, como é reportado na literatura (Bowman & Drake, 2017).

Em relação aos problemas gastrointestinais, foi possível verificar que existem pacientes com DCP que apresentaram sinais gastrointestinais, corroborando a literatura (Grimes, Scott & Edwards, 2016). Em contrapartida, a intolerância ao exercício e a síncope foram pouco representativas em relação ao que seria esperado, tendo em consideração a classe de estadiamento da maioria dos pacientes. Uma possível justificação para estes resultados passa pelo facto destes sinais clínicos serem mais evidentes quando os pacientes exibem uma atividade física exuberante (Simón et al., 2012), sendo que no caso de pacientes sedentários, o tutor poderia não conseguir identificá-los.

No que concerne aos testes laboratoriais realizados com o intuito de identificar o

parasita, o teste rápido de antigénio Uranotest® *Dirofilaria* (Urano Vet SL, Barcelona, Espanha) apresenta uma sensibilidade de 94% e especificidade de 100%, segundo a Uranolab®. Para a deteção e identificação das microfilárias foi realizado o exame de sangue fresco, cuja sensibilidade pode ter sido influenciada pelo local e pela hora em que foi realizada a colheita das amostras sanguíneas, devido ao ritmo circadiano subperiódico das microfilárias de *D. immitis*. Atualmente, em Portugal, ainda não existem estudos que demonstrem a altura do dia em que as concentrações das microfilárias de *D. immitis* se encontram mais elevadas no sangue periférico do cão, evidenciando o melhor momento para se proceder à colheita.

No que diz respeito às alterações nos parâmetros hematológicos, vale a pena salientar o facto dos três animais que não apresentaram alterações em nenhum parâmetro se encontrarem estadiados nas classes com menor severidade (classes I e II), como evidencia a literatura (ESDA, 2017a). Além disso, as alterações hematológicas registadas, nomeadamente, a anemia, a leucocitose, a neutrofilia e a trombocitopénia aparecem frequentemente associadas à DCP (ESDA, 2017a; Mircean et al., 2017). É ainda relevante mencionar que foi encontrada uma associação significativa e positiva, mas de pequeno efeito tanto da leucocitose, como da trombocitopénia em relação à classe III. A associação encontrada entre a leucocitose e a classe III pode ser explicada pela capacidade do parasita em promover a inflamação, bem como pelos seus mecanismos de invasão imune e de imunomodulação que favorecem a sua permanência e contínua infeção do hospedeiro (Simón et al., 2012). Em relação à associação existente entre a trombocitopénia e a classe III, uma possível justificação passa pelo facto dos pacientes com doença severa (classe III) poderem apresentar TEP (Ljubica & Vesna, 2020) e, assim sendo, a trombocitopénia resulta do facto de haver agregação plaquetária no momento da formação destes trombos (Nelson, 2015). Outra possível justificação deve-se aos mecanismos imunes a longo prazo das larvas adultas e pré-adultas de *D. immitis* que absorvem as plaquetas, com o intuito de as expor na sua superfície (Simón et al., 2012).

Por outro lado, as alterações nos parâmetros bioquímicos não apresentaram relevância estatisticamente significativa segundo os testes realizados, contudo evidenciaram alterações que já se encontravam descritas na literatura. A alteração mais frequentemente encontrada foi o aumento das enzimas hepáticas (em nove animais), e

em seguida a azotemia em quatro animais (Mircean et al., 2017). Estes resultados foram de encontro com o esperado, uma vez que os pacientes presentes nas classes moderada a severa de DCP (classes II e III, respectivamente), que representam a maioria dos animais incluídos neste estudo, ou iriam estar a progredir para ICCD ou já se encontravam nessa fase, conseqüentemente, apresentando alterações renais e hepáticas. Além disso, é relevante ter em consideração que a patologia promovida pelas microfilárias é dirigida ao glomérulo, sendo que pacientes que apresentem números elevados de microfilárias é compreensível que também apresentem alterações significativas a nível renal (Carretón et al., 2020a), antes de serem identificados com ICCD. Do mesmo modo, o paciente que apresentou hipoproteinemia devido à hipoalbuminemia apresentava-se com DCP severa (classe III) e muito provavelmente a hipoalbuminemia estará associada às lesões hepáticas e renais promovidas pelo parasita. Por fim, a hiperglicemia esteve presente em três pacientes e pode estar associada ao *stress* inerente à infecção promovida por *D. immitis*, que se encontra descrito na literatura (Simón et al., 2012; Carretón et al., 2016).

No que concerne aos achados radiográficos, foi possível demonstrar que as alterações nas APs precederam as que evidenciavam o envolvimento cardíaco (ESDA, 2017a), uma vez que as radiografias pertencentes aos animais cuja doença era leve ou moderada (classes I e II, respectivamente) evidenciavam a presença de padrão pulmonar vascular e em radiografias de pacientes em estadios da doença mais avançados é que demonstraram apresentar cardiomegalia direita. Adicionalmente, estes resultados não só evidenciaram a presença de diversos graus de doença do parênquima pulmonar (AHS, 2020), como também a sua evolução ao longo da progressão da doença (Bowman & Drake, 2017), na medida em que a maioria dos pacientes com doença moderada (classe II) apresentaram um padrão pulmonar brônquico, enquanto a maioria com doença severa (classe III) demonstrou um padrão pulmonar intersticial ou alveolar. É ainda relevante salientar que foi encontrada uma associação estatisticamente significativa e positiva, mas de pequeno efeito entre a variável do padrão pulmonar intersticial e a classe III de estadiamento da doença. Apesar de não existirem estudos que tenham mencionado esta relação, a fisiopatologia da DCP permite evidenciar que o padrão pulmonar intersticial, por estar relacionado com o edema perivascular inerente à infecção por *D. immitis* (Ljubica & Vesna, 2020) e/ou ao desenvolvimento da pneumonia eosinofílica (Simón et al., 2012), é compreensível que se apresente nos pacientes com

maior severidade.

Em relação ao exame ecocardiográfico, as mensurações da RVT permitiram verificar que 37,5% dos pacientes com doença severa (classe III) apresentaram velocidades de RVT compreendidas entre 3,0 e 3,4 m/s, corroborando a literatura que identifica níveis mais elevados de RVT em pacientes com ICCD (Vezzosi et al., 2018). Além disso, é relevante referir que estes pacientes (com ICCD) evidenciaram maioritariamente a presença de hipertrofia do VD e em seguida o aumento do AD, indo de encontro com o esperado (Bulmer, 2020). Em contrapartida, a evidência de achatamento do SIV e a redução do VE foram os achados menos representativos dentro desta classe, mas também são característicos dos pacientes com ICCD e HP severa (McMahon & Saelinger, 2015). Vale a pena mencionar que apesar de na maioria dos pacientes ter sido possível observar dirofilárias, a falta de visualização em cinco pacientes não excluiu a possibilidade de estarem infetados (Moorhead, 2021). Por fim, foi possível verificar que existe uma associação estatisticamente significativa e positiva, mas de pequeno efeito, entre o aumento da AP e a classe III, que pode ser explicado pelo facto dos pacientes com DCP severa tenderem a apresentar aumentos severos da AP (Ljubica e Vesna, 2020).

De forma complementar, foi identificada uma relação estatisticamente significativa, mas de pequena relevância, entre a probabilidade do paciente apresentar HP e as classes de estadiamento da doença, indicando que o aumento do nível de probabilidade encontra-se inerentemente relacionado com as classes onde a doença apresenta maior severidade. Apesar de não existirem estudos que tenham referido esta associação diretamente, a fisiopatologia da DCP pressupõe que se a probabilidade do paciente ter HP for elevada, a mesma irá favorecer o aumento da pós-carga do VD, promovendo a redução do DC e possivelmente contribuindo para a evolução do paciente em direção à ICCD (Carretón et al., 2017a).

Em relação à associação entre o nível de risco de complicações tromboembólicas e a classe de estadiamento, apesar de não ter sido encontrada evidência estatística entre estas variáveis é relevante realçar o facto de quase todos os animais pertencentes às classes com maior severidade (classes II e III) apresentarem um elevado nível de risco de desenvolver complicações tromboembólicas. Esta associação pode estar relacionada com o facto dos pacientes com baixo risco, por não apresentarem

sinais clínicos, nem achados significativos nos exames imagiológicos, muitas vezes não são identificados pelos tutores como doentes, acabando assim a doença por evoluir e só ser identificada nos seus estadios mais avançados (ESDA, 2017a).

Com base no protocolo terapêutico preconizado neste estudo, é relevante mencionar que os pacientes com doença moderada a severa (classes II e III) necessitaram de tratamento de suporte (para a HP, TEP, ICCD e outras possíveis complicações) antes de ser iniciado o tratamento direcionado para a DCP, como refere a literatura (Ames & Atkins, 2020; Ljubica & Vesna, 2020).

Relativamente à evolução clínica dos pacientes durante o decurso do tratamento, é pertinente referir que a maioria dos animais estudados evidenciou melhorias significativas ao longo do mesmo, indo de encontro com o que se encontra mencionado na literatura referente ao protocolo escolhido (Nelson, 2015; AHS, 2020; Ames & Atkins, 2020). Além disso, o estudo verificou que quase todos os pacientes que completaram o tratamento obtiveram um resultado negativo no teste de antigénio de *D. immitis* realizado no fim do protocolo.

No que diz respeito às limitações deste estudo, a principal foi a dimensão da amostra, que esteve inerentemente dependente da duração do estágio, da incidência de pacientes diagnosticados com DCP e da disponibilidade financeira do tutor em realizar os procedimentos considerados necessários. Além disso, teria sido interessante ter averiguado o nível de atividade de cada animal, no momento da consulta, bem como incorporado as medições de alguns marcadores cardiopulmonares e inflamatórios no decorrer deste estudo. A importância da utilização de biomarcadores como a proteína C-reativa, os peptídeos natriuréticos, a troponina cardíaca I e os D-dímeros, cinge-se ao facto de estes auxiliarem o estadiamento dos pacientes e serem um complemento na monitorização da progressão da doença. De modo complementar, a realização de uma análise de urina tipo II aos pacientes também teria sido relevante, pois permitia avaliar o nível de lesão renal inerente a cada classe de estadiamento e a sua subsequente progressão durante o tratamento preconizado.

Por fim, a autora sugere que num futuro próximo sejam realizados mais estudos com o propósito de averiguar o possível desenvolvimento de resistências às lactonas macrocíclicas nos cães que são submetidos à prevenção da DCP em Portugal. Outro estudo interessante, seria o de apurar se existem e quais são os isolados de *D. immitis*

resistentes presentes nos cães com DCP em Portugal, através de testes moleculares. Adicionalmente, a realização de um estudo referente à infeção de pinípedes por *D. immitis*, na Ilha da Madeira, seria relevante para a identificação de possíveis hospedeiros selvagens.

6. Conclusão

A DCP é uma doença parasitária severa, cujas repercussões iniciais se limitam ao trauma direto e inflamação do endotélio da artéria pulmonar (Simón et al., 2012). No entanto, a persistência da presença de *D. immitis* nesta localização pode resultar no desenvolvimento da endarterite proliferativa pulmonar e, conseqüentemente, HP (Carretón et al., 2017a) ou noutras complicações com risco de vida para o paciente, como o caso do TEP (Nelson, 2015), da SVC (Romano et al., 2020) ou até mesmo da CID (Diosdado et al., 2020). Adicionalmente, os antigénios das microfilárias podem estimular uma reação imunológica, promovendo a deposição de complexos imunes nas membranas sinoviais ou a nível glomerular (Ljubica & Vesna, 2020), acabando por comprometer a função locomotora ou renal do cão. Em última instância, a ICCD (*cor pulmonale*) pode surgir se os mecanismos compensatórios face à HP e ao aumento da pós-carga do VD não forem capazes de restabelecer o DC (Bulmer, 2020). Assim sendo, tendo em consideração a importância clínica desta doença, bem como o facto de ser considerada hiperendémica na Ilha da Madeira, a autora considerou relevante realizar uma avaliação dos parâmetros de função cardíaca e hemodinâmicos em cães com DCP, tendo em consideração as diretrizes da *AHS*, da *ESCCAP* e da *CAPC*, no que diz respeito à DCP, e do *ACVIM*, no que concerne à HP.

As principais conclusões retiradas deste estudo foram que os pacientes que se apresentem com tosse, dispneia, intolerância ao exercício, síncope, prostração, baixa condição corporal, ascite ou problemas gastrointestinais, devem ter a DCP como possibilidade na lista dos diagnósticos diferenciais.

De forma complementar, os pacientes inseridos na classe III de estadiamento da doença encontraram-se estatisticamente relacionados com os que apresentaram leucocitose, trombocitopenia e evidência de um padrão pulmonar intersticial, da mesma forma que os que apresentaram um aumento da AP a nível ecocardiográfico.

Adicionalmente, foi encontrada uma correlação positiva, mas de pequena relevância, entre os pacientes com doença severa (classe III) e os que demonstraram ter maior probabilidade de apresentar HP.

Relativamente à evolução clínica dos pacientes durante o decurso do tratamento recomendado pela AHS, é relevante reforçar o facto do mesmo ter-se demonstrado eficaz, além de ter contribuído para as melhorias clínicas significativas evidenciadas pelos pacientes, independentemente da severidade da doença em que se encontravam. Todas estas evidências salientam a importância de se proceder a um diagnóstico e estadiamento correto de cada paciente, a fim de se poder iniciar o tratamento o mais rápido possível e tentar reverter atempadamente a patologia promovida pela DCP.

Por fim, seria interessante realizar mais estudos com o intuito de averiguar se estão a surgir resistências às lactonas macrocíclicas que estão a ser utilizadas na prevenção de DCP nos cães em Portugal, assim como identificar os isolados de *D. immitis* resistentes existentes na população canina com DCP. Além disso, a realização de estudos à população de pinípedes existentes na Ilha da Madeira, com o intuito de averiguar se são possíveis agentes de transmissão da doença, também poderia ter um impacto significativo em termos epidemiológicos.

Referências bibliográficas

- AHS, American Heartworm Society (2020). Current canine guidelines for the prevention, diagnosis, and management of heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs (pp. 1-35). Retirado de <https://www.heartwormsociety.org/veterinary-resources/american-heartworm-society-guidelines>, em dezembro de 2020.
- Aiello, S. E. & Moses, M. A. (2016). Heart disease and heart failure. In Susan E. Aiello & Michael A. Moses, *The merck veterinary manual* (11th ed., pp. 87-92). John Wiley & Sons, Inc.
- Alberigi, B., Lemos, N. M. O., Farias, B. N., Almeida, E. C. P., Mendes-de-Almeida, F. & Labarthe, N. (2020). Unusual pulmonary thromboembolism in a *Dirofilaria immitis* infected dog. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, 42(1), 1-9. <https://doi.org/10.29374/2527-2179.bjvm000320>.

- Alho, A. M., Marcelino, I., Colella, V., Flanagan, C., Silva, N., Correia, J. J., Latrofa, M. S., Otranto, D. & Carvalho, L. M. (2017). *Dirofilaria immitis* in pinnipeds and a new host record. *Parasit. Vectors*, *10*(142), 1-6. doi: 10.1186/s13071-017-2073-0.
- Alho, A. M., Meireles, J., Schnyder, M., Cardoso, L., Belo, S., Deplazes, P. & Carvalho, L. M. (2018). *Dirofilaria immitis* and *Angiostrongylus vasorum*: The current situation of two major canine heartworm in Portugal. *Vet. Parasitol.*, *252*, 120-126. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.01.008>.
- Allerton, F. (2020). BSAVA Small Animal Formulary (10th ed., Part A: Canine and Feline). British Small Animal Veterinary Association.
- Ames, M. K., Atkins, C. E. (2020). Treatment of dogs with severe heartworm disease. *Vet. Parasitol.*, *283*. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109131>.
- Ames, M. K., Atkins, C. E. & Pitt, B. (2019). The renin-angiotensin-aldosterone system and its suppression. *J. Vet. Intern. Med.*, *33*, 363-382. doi: 10.1111/jvim.15454.
- Anvari, D., Narouei, E., Daryani, A., Sarvi, S., Moosazadeh, M., Hezarjaribi, H. Z., Narouei, M. R. & Gholami, S. (2019). The global status of *Dirofilaria immitis* in dogs: A systematic review and meta-analysis based on published articles. *Research in Veterinary Science*, *131*, 104-116. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.04.002>.
- Bartholomay, L. C. (2014). Infection barriers and responses in mosquito-filarial Worm interactions. *Current Opinion in Insect Science*, *3*, 37-42. <https://dx.doi.org/10.1016/j.cois.2014.08.006>.
- Bloise, E. & Matthews, S. G. (2019). Multidrug resistance p-glycoprotein (p-gp), glucocorticoids, and the stress response. In George Fink, *Stress: Physiology, biochemistry, and pathology* (volume 3, 1st ed., pp. 227-237). Elsevier, Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813146-6.00019-9>.
- Boller, M. (2017). Cardiac emergencies. In Stephen J. Ettinger, Edward C. Feldman & Etienne Côté, *Textbook of veterinary internal medicine* (8th ed., pp. 1562-1573). Elsevier, Inc.
- Boon, J. A. (2011). *Veterinary echocardiography* (2nd ed.). John Wiley & Sons, Inc.
- Bowman, D. D. & Drake, J. (2017). Examination of the “susceptibility gap” in the treatment of canine heartworm infection. *Parasit. Vectors*, *10*(513), 66-235. doi:

10.1186/s13071-017-2433-9.

- Bowman, D. D., McTier, T. L., Adams, E. L., Mahabir, S. P., Login, J. A., Bidgood, T. & Woods, D. J. (2017). Evaluation of the efficacy of ProHeart® 6 (moxidectin) against a resistant isolate of *Dirofilaria immitis* (jyd-34) in dogs. *Parasit. Vectors*, 10(502), 54-57. doi: 10.1186/s13071-017-2431-y.
- Bruchim, Y., Aroch, I., Saragusty, J. & Waner, T. (2008). Disseminated intravascular coagulation. *Compendium Continuing Education for Veterinarians*, 30(10), 1-15. Retirado de https://vetfolio-vetstreet.s3.amazonaws.com/mmah/7d/8f09c3af08473db458b8d85b80e7cf/fileBruchimWeb_PV1008.pdf, em março de 2021.
- Bulmer, B. J. (2020). Pathophysiology of heart failure. In David S. Bruyette, *Clinical small animal internal medicine (volume 1, 1st ed., pp. 175-183)*. John Wiley & Sons, Inc.
- Burton, K. W., Liu, J., Drexel, J. P., Pulaski, C., Heartsill, S. & Dupuy, C. (2020). Comparative evaluation of field samples using 2 in-clinic assays for heartworm antigen detection in dogs. *Vet. Parasitol.*, 283, 1-12. <http://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109163>.
- Carey, S. A. (2017). Clinical evaluation of the respiratory tract. In Stephen J. Ettinger, Edward C. Feldman & Etienne Côté, *Textbook of veterinary internal medicine (8th ed., pp. 2674-2696)*. Elsevier, Inc.
- Carithers, D. S. (2017). Examining the role of macrolides and host immunity in combatting filarial parasites. *Parasit. Vectors*, 10(182), 1-13. doi: 10.1186/s13071-017-2116-6.
- Carretón, E., Cerón, J. J., Martínez-Subiela, S., Tvarijonaviciute, A., Caro-Vadillo, A. & Montoya-Alonso, J. A. (2017b). Acute phase proteins and markers of oxidative stress to assess the severity of the pulmonary hypertension in heartworm-infected dogs. *Parasit. Vectors*, 10(477), 166-171. doi: 10.1186/s13071-017-2426-8.
- Carretón, E., Falcón-Cordón, Y., Rodon, J., Matos, J. I., Morchón, R. & Montoya-Alonso, J. A. (2020a). Evaluation of serum biomarkers and proteinuria for the early detection of renal damage in dogs with heartworm (*Dirofilaria immitis*). *Vet. Parasitol.*, 283. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109144>.

- Carretón, E., Grandi, G., Morchón, R., Simón, F., Passeri, B., Cantoni, A. M., Kramer, L. & Montoya-Alonso, J. A. (2012). Myocardial damage in dogs affected by heartworm disease (*Dirofilaria immitis*): Immunohistochemical study of cardiac myoglobin and troponin I in naturally infected dogs. *Vet. Parasitol.*, *189*, 390-393. <https://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.04.013>.
- Carretón, E., Morchón, R., Falcón-Cordón, Y., Falcón-Cordón, S., Matos, J. I. & Montoya-Alonso, J. A. (2020b). Evaluation of different dosages of doxycycline during the adulticide treatment of heartworm (*Dirofilaria immitis*) in dogs. *Vet. Parasitol.*, *283*, 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109141>.
- Carretón, E., Morchón, R. & Montoya-Alonso, J. A. (2017a). Cardiopulmonary and inflammatory biomarkers in heartworm disease. *Parasit. Vectors*, *10*(534), 151-235. doi: 10.1186/s13071-017-2448-2.
- Carretón, E., Peña, L., Caceres, S., Silvan, G., Illera, J. C., Montoya-Alonso, J. A. (2016). Cortisol as indicator of stress in heartworm infection in dogs. *Parasit. Vectors*, *10*(A7), 1-23. doi: 10.1186/s13071-016-1902-x.
- Chetboul, V. (2020). Imaging in cardiovascular disease. In David S. Bruyette, *Clinical small animal internal medicine (volume 1, 1st ed., pp. 127-163)*. John Wiley & Sons, Inc.
- Church, D. B. (2015). Sneezing, dyspnea, coughing and other respiratory signs. In Jill E. Maddison, Holger A. Volk & David B. Church, *Clinical reasoning in small animal practice (1st ed., pp. 125–153)*. John Wiley & Sons, Ltd.
- Ciuca, L., Vismarra, A., Lebon, W., Beugnet, F., Morchon, R., Rinaldi, L., Gringoli, G., Kramer, L. & Genchi, M. (2020). New insights into the biology, diagnosis, and immune response to *Dirofilaria repens* in the canine host. *Vet. Parasitol.*, *277*, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.vpoa.2020.100029>.
- Côté, E., Edwards, N. J., Ettinger, S. J., Fuentes, V. L., MacDonald, K. A., Scansen, B. A., Sisson, D. D. & Abbott, J. A. (2015). Management of incidentally detected heart murmurs in dogs and cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, *246*(10), 1076-1088. doi: 10.2460/javma.246.10.1076.
- Cray, C. (2012). Acute phase proteins in animals. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, *105*, 113-150. doi: 10.1016/B978-0-12-394596-9.00005-6.

- Defarges, A. (2015). The physical examination. *Clinician's Brief*, 73-80. Retirado de <https://www.cliniciansbrief.com/article/physical-examination>, em março de 2021.
- De la Puente, M., Galvis, R. D. L., Rodríguez, J. G., Duarte, A. M., Riquett, A. R., De la Puente, M. & Vilorio, M. B. (2018). Use of biomarkers as prognostic indicators in dogs with natural heartworm. *HVM Bioflux*, 10(3), 99-103. Retirado de <http://www.hvm.bioflux.com.ro/docs/2018.99-103a.pdf>, em abril de 2021.
- Diniz, P. (2020). *Wolbachia pipientis* infection. In David S. Bruyette, *Clinical small animal internal medicine (volume 2, 1st ed., pp. 917-918)*. John Wiley & Sons, Inc.
- Diosdado, A., Simón, F., Morchón, R. & González-Miguel, J. (2020). *Dirofilaria immitis* possesses molecules with anticoagulant properties in its excretory/secretor antigens. *Parasitology*, 147, 559-565. <https://doi.org/10.1017/S0031182020000104>.
- Drake, J., Gruntmeir, J., Merritt, H., Allen, L. & Little, S. E. (2015). False negative antigen tests in dogs infected with heartworm and placed on macrocyclic lactone preventives. *Parasit. Vectors*, 8(68), 1-5. doi: 10.1186/s13071-015-0698-4.
- Durham, H. E. Jr. (2017). History and physical examination. In H. Edward Durham, Jr., *Cardiology for veterinary technicians and nurses (1st ed., pp. 45-62)*. John Wiley & Sons, Inc.
- Edgerton, E. B., McCrea, A. R., Berry, C. T., Kwok, J. Y., Thompson, L. K., Watson, B., Fuller, E. M., Nolan, T. J., Lok, J. B. & Povelones, M. (2020). Activation of mosquito immunity blocks the development of transmission-stage filarial nematodes. *PNAS*, 117(7), 3711-3717. doi:10.1073/pnas.1909369117/-/DCSupplemental.
- Ehrens, A., Lenz, B., Neumann, A., Giarrizzo, S., Reichwald, J. J., Frohberger, S. J., Stamminger, W., Buerfent, B. C., Fercoq, F., Martin, C., Kulke, D., Hoerauf, A. & Hübner, M. P. (2021). Microfilariae trigger eosinophil extracellular DNA traps in a dectin-1-dependent manner. *Cell Reports*, 34, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.108621>.
- Englar, R. E. (2019). Abnormal Lung Sounds. In Ryane E. Englar, *Common clinical presentations in dogs and cats (1st ed., pp. 505-516)*. John Wiley & Sons, Inc.

- Epis, S., Varotto-Boccazzi, I., Crotti, E., Damiani, C., Giovati, L., Mandrioli, M., Biggiogera, M., Gabrieli, P., Genchi, M., Polonelli, L., Daffonchio, D., Favia, G. & Bandi, C. (2020). Chimeric symbionts expressing a *Wolbachia* protein stimulate mosquito immunity and inhibit filarial parasite development. *Communications Biology*, 3(105), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s42003-020-0835-2>.
- ESCCAP, European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (2021). Guideline 01 for worm control in dogs and cats (6th ed., pp. 1-41). Retirado de <https://www.esccap.org/guidelines/gl1/>, em julho de 2021.
- ESCCAP, European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (2019). Guideline 05 for control of vector-borne diseases in dogs and cats (3rd ed, pp. 1-40). Retirado de <https://www.esccap.org/guidelines/gl5/>, em dezembro de 2020.
- ESDA, European Society of Dirofilariosis and Angiostrongylosis (2017a). Guidelines for clinical management of canine heartworm disease (pp. 1-7). Retirado de <https://www.esda.vet/index.php/guidelines>, em dezembro de 2020.
- ESDA, European Society of Dirofilariosis and Angiostrongylosis (2017b). Guidelines for clinical management of feline heartworm disease (pp. 1-5). Retirado de <https://www.esda.vet/index.php/guidelines>, em dezembro de 2020.
- Ferreira, C., Afonso, A., Calado, M., Maurício, I., Alho, A. M., Meireles, J., Madeira de Carvalho, L. & Belo, S. (2017). Molecular characterization of *Dirofilaria* spp. circulating in Portugal. *Parasit. Vectors*, 10(250), 1-8. doi: 10.1186/s13071-017-2180-y.
- Firdova, Z., Turnova, E., Bielikova, M., Turna, J. & Dudas, A. (2016). The prevalence of *abcb1* mutation in affected dog breeds from European countries. *Res. Vet. Sci.*, 106, 89-92. doi: 10.1016/j.rvsc.2016.03.016.
- Foster, N. & Elsheikha, H. M. (2012). The immune response to parasitic helminths of veterinary importance and its potential manipulation for future vaccine control strategies. *Parasitol. Res.*, 110, 1587-1599. doi: 10.1007/s00436-012-2832-y.
- Fuehrer, H., Morelli, S., Bleicher, J., Brauchart, T., Edler, M., Eisschiel, N., Hering, T., Lercher, S., Mohab, K., Reinelt, S., Stessl, T., Fasching, D., Nimphy, R., Pelzl, A., Shahi-Barogh, B., Wortha, L. N., Bakran-Lebl, K., Duda, M., Sattmann, H., Schaper, R., Traversa, D. & Joachim, A. (2020). Detection of *Crenosoma* spp.,

- Angiostrongylus vasorum* and *Aelurostrongylus abstrusus* in gastropods in eastern Austria. *Pathogens*, 9(12), 1-11. doi: 10.3390/pathogens9121046.
- Gavazza, A., Fruganti, A., Turinelli, V., Marchegiani, A., Spaterna, A., Tesei, B., Rossi, G. & Cerquetella, M. (2020). Canine traditional laboratory tests and cardiac biomarkers. *Front. Vet. Sci.*, 7(320), 1-9. doi: 10.3389/fvets.2020.00320.
- Geyer, J. & Janko, C. (2012). Treatment of *mdr1* mutant dogs with macrocyclic lactones. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(6), 969-986. doi: 10.2174/138920112800399301.
- Gillis-Germitsch, N., Lucienne, T., Hegglin, D., Deplazes, P. & Schnyder, M. (2020). Conquering Switzerland: The emergence of *Angiostrongylus vasorum* over three decades and rapid regional increase in the fox population contrasts with the stable prevalence of lungworms. *Parasitology*, 147(10), 1071-1079. doi: 10.1017/S0031182020000700.
- Gomes-de-Sá, S., Santos-Silva, S., Moreira, A. S., Barradas, P. F., Amorim, I., Cardoso L. & Mesquita, J. R. (2022). *Dirofilaria immitis* antigenemia and microfilaremia in Iberian wolves and red foxes from Portugal. *Parasit. Vectors*, 15(119), 1-5. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05170-5>.
- Grimes, J. A., Scott, K. D. & Edwards, J. F. (2016). Aberrant heartworm migration to the abdominal aorta and systemic arteriolitis in a dog presenting with vomiting and hemorrhagic diarrhea. *Can. Vet. J.*, 57(1), 76-79. Retirado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4677615/>, em dezembro de 2020.
- Gwaltney-Brant, S. M., DeClementi, C. & Gupta, R. C. (2018). Macrocyclic lactone endectocides. In Ramesh C. Gupta, *Veterinary Toxicology* (3rd ed., pp. 539-550). Elsevier, Inc. <https://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-811410-0.00043-X>.
- Han, D., Yoon, W., Lee, H., Yu, D. & Jung, D. (2019). Evaluation of thromboelastography analysis for treatment of heartworm disease in dogs over time: A pilot study. *J. Vet. Clin.*, 36(1), 42-45. <http://dx.doi.org/10.17555/jvc.2019.02.36.1.42>.
- Hays, K. M., Rodriguez, J. Y., Little, S. E., Litster, A. L., Mwacalimba, K. K., Sundstrom, K. D., Amodie, D. M., Serrano, M. A., Guerios, S. D., Lane, J. N. & Levy, J. K. (2020). Heartworm prevalence in dogs versus cats: Multiple

- diagnostic modalities provide new insights. *Vet. Parasitol*, 4, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.vpoa.2020.100027>.
- Hsieh, B. M. & Beets, A. K. (2020). Coughing in small animal patients. *Front. Vet. Sci.*, 6(513), 1-13. doi: 10.3389/fvets.2019.00513.
- Ionică, A. M., Matei, I. A., D'Amico, G., Bel, L. V., Dumitrache, M. O., Modrý, D. & Mihalca, A. D. (2017). *Dirofilaria immitis* and *D. repens* show circadian co-periodicity in naturally co-infected dogs. *Parasit. Vectors*, 10(116), 1-6. doi: 10.1186/s13071-017-2055-2.
- Johnson, A. (2014). Pulmonary thromboembolism. *Clinician's Brief*, 25-29. Retirado de <https://www.cliniciansbrief.com/article/pulmonary-thromboembolism>, em março de 2021.
- Johnson, L. R. (2020). Localization of Disease. In Lynelle R. Johnson, *Canine and feline respiratory medicine* (2nd ed., pp. 1-13). John Wiley & Sons, Inc.
- Johnson, L. R. & Fuentes, V. L. (2016). History and physical examination. In Virginia Luis Fuentes, Lynelle R. Johnson & Simon Dennis, *BSAVA manual of canine and feline cardiorespiratory medicine* (2nd ed., pp. 28-32). John Wiley & Sons, Inc.
- Kelliham, H. B. (2020). Pulmonary hypertension. In David S. Bruyette, *Clinical small animal internal medicine (volume 1)*, 1st ed., pp. 225-229). John Wiley & Sons, Inc.
- Kim, S., Park, H., Lee, J., Lee, Y. & Choi H. (2019). Comparison of radiographic and echocardiographic features between small and large dogs with heartworm disease. *J. Vet. Clin.*, 36(4), 207-211. <http://dx.doi.org/10.17555/jvc.2019.08.36.4.207>.
- Kina, O., Kondaş Aşkar, T. & Güzel, M. (2021). Determination of paraoxonase activity as a biomarker in dogs with dirofilariosis. *Eurasian Journal of Health Sciences*, 4(1), 47-51. Retirado de <https://dergipark.org.tr/en/pub/avrsyasbd/issue/60098/856581>, em abril de 2021.
- Klepper, S. (2018). Canine heartworm testing. *Clinician's brief*. Retirado de <https://www.cliniciansbrief.com/article/canine-heartworm-testing>, em março de 2021.

- Lane, J. N., Litster, A., Little, S. E., Rodriguez, J. Y., Mwacalimba, K. K., Sundstrom, K. D., Amirian, E. S., Guerios, S. D., Serrano, M. A., Hays, K. M. & Levy, J. K. (2021). Optimizing heartworm diagnosis in dogs using multiple test combinations. *Parasit. Vectors*, *14*(224), 1-11. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04715-4>.
- Little, S., Saleh, M., Wohltjen, M. & Nagamori, Y. (2018). Prime detection of *Dirofilaria immitis*: Understanding the influence of blocked antigen on heartworm teste performance. *Parasit. Vectors*, *11*(186), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2736-5>.
- Ljubica, S. K. & Vesna, L. (2020). Dog heartworm disease is here to stay: The most important aspects of clinical relevance. *Veterinarski Glasnik*, *74*(2), 125-143. <https://doi.org/10.2298/VETGL200928012S>.
- Ljungvall, I. & Häggström, J. (2020). Approach to the patient with suspected cardiovascular disease. In David S. Bruyette, *Clinical small animal internal medicine (volume 1, 1st ed., pp. 119–125)*. John Wiley & Sons, Inc.
- Marelli, S. P., Polli, M., Frattini, S., Cortellari, M., Rizzi, R. & Crepaldi, P. (2020). Genotypic and allelic frequencies of *mdr1* gene in dogs in Italy. *Vet. Rec. Open*, *7*, 1-5. doi: 10.1136/vetreco-2019-000375.
- Marinov, G. & Zlateva-Panayotova, N. (2019). Surgical methods for extraction of adult forms of *Dirofilaria immitis* from the heart in dogs. *Tradition and modernity in veterinary medicine*, *4*(7), 40-45.
- Martini, F., Eckmair, B., Štefanić, S., Jin, C., Garg, M., Yan, S., Jiménez-Castells, C., Hykollari, A., Neupert, C., Venco, L., Silva, D. V., Wilson, I. B. H. & Paschinger, K. (2019). Highly modified and immunoactive N-glycans of the canine heartworm. *Nat. Commun.*, *10*(75), 1-18. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-07948-7>.
- McCrea, A. R., Castro, P. D. J., Kaplan, R. M. & Povelones, M. (2020). Activation of the toll pathway in *Aedes aegypti* blocks the development of emerging third-stage larvae of drug-resistance *Dirofilaria immitis*. *Vet. Parasitol.*, *282*, 1-5. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109100>.
- McMahon, P. & Saelinger, C. (2015). Reversal of echocardiographic right-sided heart pathology in a dog with severe pulmonary hypertension: A case report. *Vet.*

- Med. Res. Rep.*, 6, 211-218. doi: 10.2147/VMRR.S84181.
- Mircean, M., Ionică, A. M., Mircean, V., Györke, A., Codea, A. R., Tăbăran, F. A., Taulescu, M. & Dumitrache, M. O. (2017). Clinical and pathological effects of *Dirofilaria repens* and *Dirofilaria immitis* in dogs with a natural co-infection. *Parasitol. Int.*, 1-12. doi: 10.1016/j.parint.2017.02.003.
- Monobe, M. M., Silva, R. C., Junior, J. P. A. & Takahira, R. K. (2017). Microfilaruria by *Dirofilaria immitis* in a dog: A rare clinical pathological finding. *J. Parasit. Dis.*, 41(3), 805-808. doi: 10.1007/s12639-017-0892-8.
- Moorhead, A. R. (2021). Canine heartworm. *Clinician's brief*. Retirado de <https://www.cliniciansbrief.com/article/canine-heartworm>, em março de 2021.
- Morita, T., Nakamura, K., Osuga, T., Kawamoto, S., Miki, S., Sasaoka, K. & Takiguchi, M. (2020). Acute effects of intravenous pimobendan administration in dog models of chronic precapillary pulmonary hypertension. *J. Vet. Cardiol.*, 32, 16-27. <https://doi.org/10.1016/j.jvc.2020.09.003>.
- Muñoz-Caro, T., Conejeros, I., Zhou, E., Pikhovych, A., Gärtner, U., Hermosilla, C., Kulke, D. & Taubert, A. (2018). *Dirofilaria immitis* microfilariae and third-stage larvae induce canine netosis resulting in different types of neutrophil extracellular traps. *Front. Immunol.*, 9(968), 1-12. doi: 10.3389/fimmu.2018.00968.
- Nelson, C. T. (2015). Principles of treatment canine heartworm disease. *Today's Veterinary Practice*, 53-59. Retirado de <https://todaysveterinarypractice.com/parasitology/ahs-heartworm-hotline-canine-heartworm-disease-principles-of-treatment/>, em março de 2021.
- Noack, S., Harrington, J., Carithers, D. S., Kaminsky, R. & Selzer, P. M. (2021). Heartworm disease – overview, intervention, and industry perspective. *Int. J. Parasitol.: Drugs Drug Resist.*, 16, 65-89. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2021.03.004>.
- Otranto, D. & Deplazes, P. (2019). Zoonotic nematodes of wild carnivores. *Int. J. Parasitol.: Parasites Wildl.*, 9, 370-383. <https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2018.12.011>.
- Pace, C. (2017). How to maximise your auscultation technique. *The Veterinary Nurse*, 8(9), 512-515. <https://doi.org/10.12968/vetn.2017.8.9.512>.

- Panarese, R., Iatta, R., Mendoza-Roldan, J. A., Szlosek, D., Braff, J., Liu, J., Beugnet, F., Dantas-Torres, F., Beall, M. J. & Otranto, D. (2020). Comparison of diagnostic tools for the detection of *Dirofilaria immitis* infection in dog. *Pathogens*, 9(499), 1-7. doi: 10.3390/pathogens9060499.
- Panetta, J. L., Calvani, N. E. D., Orr, B., Nicoletti, A. G., Ward, M. P. & Šlapeta, J. (2021). Multiple diagnostic tests demonstrate an increased risk of canine heartworm disease in northern Queensland, Australia. *Parasit. Vectors*, 14(393), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04896-y>.
- Pariaut, R., Jung, S. W., Vila, J. & Newhard, D. K. (2020). Resolution of caval syndrome during initial hemodynamic stabilization in dogs with heartworm disease. *J. Vet. Emerg. Crit. Care*, 1-7. doi: 10.1111/vec.12948.
- Paterson, T., Fernandez, C., Burnett, P.J., Lessey, L., Hockley, T., Hagen, R., Coomansingh, C., Sharma, B., Chandrashekar, R. & Schaper, R. (2020). Heartworm control in Grenada, West Indies: Results of a field study using imidacloprid 10% + moxidectin 2.5% and doxycycline for naturally-acquired *Dirofilaria immitis* infections. *Vet. Parasitol.*, 284, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109194>.
- Pennisi, M. G., Tasker, S., Hartmann, K., Belák, S., Addie, D., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Hofmann-Lehmann, R., Hosie, M., Lloret, A., Marsilio, F., Thiry, E., Truyen, U. & Möstl, K. (2020). Dirofilarioses in cats: European guidelines from the ABCD on prevention and management. *J. Feline Med. Surg.*, 22, 442-451. doi: 10.1177/1098612X20917601.
- Pereira, L. L., Rubim, P. M., Lemos, N. M. O., Alberigi, B. R. S., Bendas, A. J. R. & Filho, M. S. (2021). Dirofilariose ectópica em paciente canino assintomático: Relato de caso. *Pubvet*, 15 (7), 1-9. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v15n07a860.1-9>.
- Prichard, R. K. & Geary, T. G. (2019). Perspectives on the utility of moxidectin for the control of parasitic nematodes in the face of developing anthelmintic resistance. *Int. J. Parasitology: Drugs Drug Resist.*, 10, 69-83. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2019.06.002>.
- Pugliese, M., Biondi, V., La Maestra, R. & Passantino, A. (2021). Identification and clinical significance of heart murmurs in puppies involved in puppy trade. *Vet.*

- Sci.*, 8(139), 1-11. <https://doi.org/10.3390/vetsci8080139>.
- Purswell, E. K., Lashnits, E. W., Breitschwerdt, E. B. & Vaden, S. L. (2019). A retrospective study of vector-borne disease prevalence in dogs with proteinuria: Southeastern united states. *J. Vet. Intern. Med.*, 34, 742-753. doi: 10.1111/jvim.15610.
- Queiroz, L. L., Castro, L. T. S., Ariza, P. C., Santos, M. & Fioravanti, M. C. S. (2016). Proteínas de fase aguda (pfa) em cães. *Enciclopédia Biosfera*, 13(23), 1085-1096. doi: 10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2016_092.
- Reinero, C., Visser, L. C., Kellihan, H. B., Masseur, I., Rozanski, E., Clercx, C., Williams, K., Abbott, Jonathan, Borgarelli, M. & Scansen, B. A. (2020). ACVIM consensus statement guidelines for the diagnosis, classification, treatment, and monitoring of pulmonary hypertension in dogs. *J. Vet. Intern. Med.*, 34, 549-573. doi: 10.1111/jvim.15725.
- Romano, A. E., Saunders, A. B., Gordon, S. G. & Wesselowski, S. (2020). Intracardiac heartworm in dogs: Clinical and echocardiographic characteristics in 72 cases (2010-2019). *J. Vet. Intern. Med.*, 1-10. <https://doi.org/10.1111/jvim.15985>.
- Rosenthal, S. & Oyama, M. A. (2020). Management of heart failure. In David S. Bruyette, *Clinical small animal internal medicine (volume 1*, 1st ed., pp. 185-197). John Wiley & Sons, Inc.
- Rusenov, A., Lazarov, L., Kirkova, Z., Tonev, A., Rusenova, N. & Dilda, F. (2015). Transient glomerular dysfunction in dogs caused by *Dirofilaria immitis* infection. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 21(1), 117-121. doi: 10.9775/kvfd.2014.11680.
- Saari, S., Näreaho, A. & Nikander, S. (2019). Nematoda (roundworms). In Seppo Saari, Anu Näreaho & Sven Nikander, *Canine parasites and parasitic diseases* (1st ed., pp. 109-141). Elsevier, Inc.
- Saunders, A. B., Wesselowski, S. & Cusack, K. (2020). Transesophageal echocardiography-guided *Dirofilaria immitis* extraction from the right atrium in a dog. *CASE*, 4(4), 299-302. <https://doi.org/10.1016/j.case.2020.05.005>.
- Savadelis, M. D., McTier, T. L., Kryda, K., Maeder, S. J. & Woods, D. J. (2022). Moxidectin: Heartworm disease prevention in dogs in the face of emerging macrocyclic lactone resistance. *Parasit. Vectors*, 15(82), 1-11.

<https://doi.org/10.1186/s13071-021-05104-7>.

- Savadelis, M. D., Roveto, J. L., Ohmes, C. M., Hostetler, J. A., Settje, T. L., Dzimianski, M. T. & Moorhead, A. R. (2018). Evaluation of heat-treating heartworm-positive canine serum samples during treatment with Advantage Multi® for dogs and doxycycline. *Parasit. Vectors*, *11*(98), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2685-z>.
- Sidley, J. A. (2018). Top 5 complications during & after heartworm treatment. *Clinician's brief*. Retirado de <https://www.cliniciansbrief.com/article/top-5-complications-during-after-heartworm-treatment>, em março de 2021.
- Simón, F., González-Miguel, J., Diosdado, A., Gómez, P. J., Morchón, R. & Kartashev, V. (2017). The complexity of zoonotic filariasis episytem and its consequences: A multidisciplinary view. *BioMed Res. Intern.*, *2017*, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2017/6436130>.
- Simón, F., Siles-Lucas, M., Morchón, R., González-Miguel, J., Mellado, I., Carretón, E. & Montoya-Alonso, J. A. (2012). Human and animal dirofilariasis: The emergence of a zoonotic mosaic. *Clin. Microbiol. Ver.*, *25*(3), 507-544. doi:10.1128/CMR.00012-12.
- Sobotyk de Oliveira, C., Savadelis, M. D., McLean, N. J. & Verocai, G. G. (2020). Assessing the potential cross-reactivity using a commercial heartworm ELISA kits of serum from dogs naturally infected with *Onchocerca lupi*. *Vet. Parasitol.*, *280*, 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109070>.
- Soussa, RW., Woodward, A., Marty, M. & Cannon, CM. (2019). Breed is associated with the *abcb1-1A* mutation in Australian dogs. *Aust. Vet. J.*, 1-5. doi: 10.1111/avj.12896.
- Stancu, A., Ghise, A., Pentea, M., Vaduva, D. M. B., Velimirovici, D. E., Carpinisan, L. & Cristina, R. T. (2017). Chylothorax consecutive heartworm disease in dogs. *Materiale Plastice*, *54*(4), 784-787. Retirado de <http://www.revmaterialeplastice.ro>, em abril de 2021.
- Summers, A. (2020). Diseases of the cardiovascular system. In Alleice Summers, *Common diseases of companion animals* (4th ed., pp. 1–19). Elsevier, Inc.
- Tahir, D., Davoust, B. & Parola, P. (2019). Vector-borne nematode diseases in pets and humans in the Mediterranean Basin: An update. *Vet. World*, *12*(10), 1630-1643.

doi: 10.14202/vetworld.2019.1630-1643.

- Torres-Chable, O. M., Brito-Argaez, L. G., Islas-Flores, I. R., Zaragoza-Vera, C. V., Zaragoza-Vera, M., Arjona-Jimenez, G., Baak-Baak, C. M., Cigarroa-Toledo, N., Gonzalez-Garduño, R., Machain-Williams, C. & Garcia-Rejon, J. E. (2020). *Dirofilaria immitis* proteins recognized by antibodies from individuals living with microfilaremic dogs. *J. Infect. Dev. Ctries*, 14(12), 1442-1447. doi: 10.3855/jidc.12711.
- Vardanyan, R. & Hruby, V. (2016). Anthelmintics. In Ruben Vardanyan & Victor Hruby, *Synthesis of best-seller drugs* (1st ed., pp. 749-764). Elsevier, Inc. <https://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-411492-0.00036-5>.
- Vezzosi, T., Domenech, O., Costa, G., Marchesotti, F., Venco, L., Zini, E., Fernández del Palacio, M. J. & Tognetti, R. (2018). Echocardiographic evaluation of the right ventricular dimension and systolic function in dogs with pulmonary hypertension. *J. Vet. Intern. Med.*, 32, 1541-1548. <https://doi.org/10.1111/jvim.15253>.
- Vieira, A. L., Vieira, M. J., Oliveira, J. M., Simões, A. R., Diez-Baños, P. & Gestal, J. (2014). Prevalence of canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in dogs of central Portugal. *Parasite*, 21(5), 1-7. doi: 10.1051/parasite/2014003.
- Volk, H. A. (2015). Fit, collapse or strange episodes. In Jill E. Maddison, Holger A. Volk & David B. Church, *Clinical reasoning in small animal practice* (1st ed., pp. 97–123). John Wiley & Sons, Ltd.
- Volk, H. A., Church, D. B. & Maddison, J. E. (2015). Weakness. In Jill E. Maddison, Holger A. Volk & David B. Church, *Clinical reasoning in small animal practice* (1st ed., pp. 75–95). John Wiley & Sons, Ltd.
- Young, L. M., Wiseman, S., Crawley, E., Wallace, K. & Snyder, D. E. (2021). Field study to investigate the effectiveness and safety of a novel orally administered combination drug product containing milbemycin oxime and lotilaner (credelio® plus) for the prevention of heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) in client-owned dogs in the USA. *Parasit. Vectors*, 14(284), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04767-6>.