

UFRRJ
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)

DISSERTAÇÃO

ASPECTOS CLÍNICOS DA INFECÇÃO NATURAL POR *Dirofilaria immitis* EM CÃES ATENDIDOS NO SERVIÇO DE CARDIOLOGIA E DOENÇAS RESPIRATÓRIAS DO SETOR DE PEQUENOS ANIMAIS DO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

NATHÁLIA MARQUES DE OLIVEIRA LEMOS

2021



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

ASPECTOS CLÍNICOS DA INFECÇÃO NATURAL POR *Dirofilaria immitis* EM CÃES ATENDIDOS NO SERVIÇO DE CARDIOLOGIA E DOENÇAS RESPIRATÓRIAS DO SETOR DE PEQUENOS ANIMAIS DO HOSPITAL VETERINÁRIO DA UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

NATHÁLIA MARQUES DE OLIVEIRA LEMOS

Sob a Orientação da Professora
Marta Fernanda Albuquerque da Silva
e Co-orientação do Professor
Bruno Ricardo Soares Alberigi da Silva

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de concentração Ciências Clínicas.

Seropédica, RJ
Maio de 2021

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

L555a Lemos, Nathália Marques de Oliveira, 1987-
Aspectos clínicos da infecção natural por
Dirofilaria immitis em cães atendidos no Serviço de
Cardiologia e Doenças Respiratórias do Setor de
Pequenos Animais do Hospital Veterinário da
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro /
Nathália Marques de Oliveira Lemos. - Rio de Janeiro,
2021.
112 f.: il.
Orientadora: Marta Fernanda Albuquerque da Silva.
Coorientador: Bruno Ricardo Soares Alberigi da
Silva.
Dissertação (Mestrado). -- Universidade Federal
Rural do Rio de Janeiro, Medicina veterinária
(Patologia e Ciências Clínicas)/PPGMV - Seropédica,
2021.
1. Dirofilariose Canina. 2. Afecção
cardiorrespiratória. 3. Ecodopplercardiograma. 4.
Radiografia torácica. 5. Parasitologia veterinária.
I. Silva, Marta Fernanda Albuquerque da , 1962-,
orient. II. Silva, Bruno Ricardo Soares Alberigi da ,
1987-, coorient. III Universidade Federal Rural do
Rio de Janeiro. Medicina veterinária (Patologia e
Ciências Clínicas)/PPGMV - Seropédica. IV. Título.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de
Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA
(PATOLOGIA E CIÊNCIAS CLÍNICAS)**

NATHALIA MARQUES DE OLIVEIRA LEMOS

Dissertação submetida como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Medicina Veterinária**, no Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Área de Concentração em Ciências Clínicas.

TESE APROVADA EM 11/05/2021.

Conforme deliberação número 001/2020 da PROPPG, de 30/06/2020, tendo em vista a implementação de trabalho remoto e durante a vigência do período de suspensão das atividades acadêmicas presenciais, em virtude das medidas adotadas para reduzir a propagação da pandemia de Covid-19, nas versões finais das teses e dissertações as assinaturas originais dos membros da banca examinadora poderão ser substituídas por documento(s) com assinaturas eletrônicas. Estas devem ser feitas na própria folha de assinaturas, através do SIPAC, ou do Sistema Eletrônico de Informações (SEI) e neste caso a folha com a assinatura deve constar como anexo ao final da tese / dissertação.

MARTA FERNANDA ALBUQUERQUE DA SILVA (Dr.), UFRRJ
Orientador

FLAVYA MENDES DE ALMEIDA (Dr.), UFF

ALEXANDRE JOSE RODRIGUES BENDAS (Dr.), UFRRJ

LEUCIO CÂMARA ALVES (Dr.), UFRPE

CRISTIANE DIVAN BALDANI (Dr.), UFRRJ



Emitido em 2021

TERMO N° 570/2021 - PPGMV (12.28.01.00.00.00.51)

(N° do Protocolo: NÃO PROTOCOLADO)

(Assinado digitalmente em 01/06/2021 15:47)

ALEXANDRE JOSE RODRIGUES BENDAS

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DepoCIV (12.28.01.00.00.00.51)

Matrícula: 1170000

(Assinado digitalmente em 01/06/2021 10:02)

CRISTIANE DIVAN BALDANI

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

PPGMV (12.28.01.00.00.00.51)

Matrícula: 2572400

(Assinado digitalmente em 02/06/2021 15:27)

MARTA FERNANDA ALBUQUERQUE DA SILVA

PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR

DepoCIV (12.28.01.00.00.00.51)

Matrícula: 187386

(Assinado digitalmente em 01/06/2021 12:10)

FLAVYA MENDES DE ALMEIDA

ASSINANTE EXTERNO

CPF: 017.408.567-69

(Assinado digitalmente em 07/06/2021 14:10)

LEUCIO CAMARA ALVES

ASSINANTE EXTERNO

CPF: 224.961.224-20

Para verificar a autenticidade deste documento entre em <https://sigas.ufrrj.br/documentos/> informando seu número: 570, ano: 2021, tipo: TERMO, data de emissão: 01/06/2021 e o código de verificação: 965a26b634

Dedico esta dissertação a Deus, que é minha luz e meu caminho; e ao meu eterno mestre Jonimar Pereira Paiva (“*in memoriam*”), com todo o meu amor e gratidão.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por mais esta conquista e por tudo que me foi concedido na vida, bem como por todos os momentos preenchidos com sua presença de amor, que me proporciona a fé e a força necessárias para prosseguir na vida, lutando pelos meus sonhos e ideais.

Ao meu eterno mestre **Jonimar Pereira PAIva** (“*in memoriam*”), há pessoas que tem o dom de transformar nossas vidas e você é uma dessas pessoas. Muito mais que um orientador, um amigo, um PAI. Agradeço a Deus por nossos caminhos terem se cruzados e pela oportunidade de ter sido sua orientada. Me faltam palavras nesse momento diante de tanto amor e gratidão que tenho por ti. Gratidão por todos os ensinamentos e conselhos que me fizeram crescer pessoalmente e profissionalmente. Gratidão por sempre confiar em mim, até mesmo quando eu não confiava e sempre me incentivar a seguir em frente forte e de cabeça erguida, vibrando a cada conquista minha. Gratidão por me ensinar cardiologia e me apresentar as doenças respiratórias com suas aulas belíssimas que me fizeram amar essa área também. Você me despertou para vida acadêmica, me ensinou que podemos superar qualquer dificuldade e sermos a melhor versão de nós mesmos. Pessoa maravilhosa e um exemplo de profissional. Querido Joni essa conquista é graças a você. Gratidão.

Às minhas orientadoras e amigas **Marta Fernanda Albuquerque da Silva e Norma Vollmer Labarthe** e, ao meu orientador e amigo **Bruno Alberigi**. Difícil expor em palavras a gratidão, admiração, carinho e respeito que tenho por vocês. Gratidão por todo acolhimento, horas árduas de trabalho, pela pronta disponibilidade em ajudar e me ensinar a qualquer dia e qualquer hora, sempre com muita generosidade, felicidade, paciência, dedicação e humildade. Gratidão por todos os incentivos e conselhos que me fazem seguir em frente confiante e forte tanto na vida profissional como pessoal. O apoio incondicional de vocês para que eu pudesse concluir mais essa etapa importante da minha vida, foram essenciais e reconfortantes. Admiro muito vocês profissionalmente e pessoalmente e levo desse grande aprendizado um pedacinho do “eu” e da sabedoria de cada um de vocês que fizeram e fazem uma grande diferença na minha vida. É um privilégio e uma honra trabalhar ao lado de vocês e espero que possamos continuar trabalhando juntos ao longo dos anos. Gratidão.

À **Fabiana Batalha Knauckfuss** pelo auxílio na análise estatística, bem como por toda disponibilidade, carinho, apoio e ensinamento. Estando sempre disposta a dividir seu conhecimento independente de dia e horário.

A todos os integrantes da **CARDIOTEAM** por fortalecerem os significados de família, amizade, companheirismo e união. Que o espírito de equipe, amizade e amor que nos torna especiais sempre se renove e se fortaleça. Como dizia nosso amado mestre **Jonimar PAIva**: “O eu deu lugar para o nós”. Em especial ao professor **Alexandre Bendas**, que também é um grande amigo. Gratidão por todo apoio, motivação e por sempre estar disponível me ajudando e ensinando sempre que preciso. E ao **Mário, Daniel, Juliana, Karen, Isabele, Gabriel, Sophie e Camila**, por toda amizade, incentivo, bem como por toda ajuda em diferentes etapas do trabalho.

A todos os **residentes, técnicos e estagiários, em especial do SCDR, LABVET e Diagnóstico por imagem**, pelo aprendizado, trabalho em equipe e ajuda em diferentes etapas do projeto.

À **Cristiane Divan Baldani** por permitir o uso das dependências do LABVET para a realização do projeto, bem como por todo apoio, incentivo e carinho; e ao **Felipe Delorme Azevedo**, por permitir a realização do projeto nas dependências do HVPA.

À **UFRRJ** e ao **PPGMV** por todos esses anos de aprendizado e aperfeiçoamento profissional e pessoal, em especial aos **professores e diretores** por toda a dedicação e trabalho árduo para a qualidade do ensino e formação dos discentes.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela concessão de bolsa durante o primeiro ano de mestrado e à **Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ)** pela concessão de bolsa durante o segundo ano de mestrado, imprescindíveis para a execução do projeto.

Aos **funcionários do Hospital e LABVET, enfermeiros, equipe de limpeza, recepcionistas, auxiliares administrativos e de serviços gerais** por toda ajuda, sempre muito prestativos tornando os dias de trabalhos mais fáceis.

Aos **animais e tutores** que participaram do estudo. Gratidão por toda ajuda e aprendizado que me proporcionaram.

Aos **integrantes da minha banca** que junto com meus orientadores se dispuseram a avaliar este trabalho, contribuindo para o meu aperfeiçoamento acadêmico e profissional.

Aos **animais, em especial aos meus filhos de quatro patas**, anjos a quem dedicamos todo nosso estudo e trabalho. Gratidão por todas as demonstrações de amor incondicional que me acalmam e me fazem sorrir, que me dão força e incentivo para prosseguir, me sentindo recompensada, amada e me ensinando o verdadeiro sentido de ser Médica Veterinária.

Aos meus pais **Claudio Lemos** e **Vilma Lemos**, ao meu irmão **Rodrigo Lemos** e às minhas tias **Maria Alice Marques** e **Dolores Lemos**, por sempre acreditarem nos meus sonhos e apoiarem minhas decisões, incentivando-me. Gratidão por estarem presentes em todos os momentos da minha vida, tornando-os inesquecíveis e repletos de amor, cuidados e felicidade.

À **Eliane Nanni**. Talvez não existam palavras suficientes e significativas que permitam expressar minha admiração, meu amor e minha gratidão a você com o devido merecimento. Sua amizade, sua ajuda e seu apoio são para mim de valor inestimável. Gratidão por todos os ensinamentos, sempre de forma humilde, paciente e carinhosa, que contribuíram para a profissional e pessoa que sou hoje e para mais essa conquista.

Às **minhas amigas**, por me ensinarem o verdadeiro significado da amizade. Gratidão por toda ajuda e amor concedidos em minha vida. Vocês foram um verdadeiro alicerce para mais esta conquista.

Por fim e não menos importante, a **todos** que contribuíram de certa forma, tornando esta jornada possível.

RESUMO

LEMOS, Nathália Marques de Oliveira. **Aspectos clínicos da infecção natural por *Dirofilaria immitis* em cães atendidos no Serviço de Cardiologia e Doenças Respiratórias do Setor de Pequenos Animais do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**. 2021. 113f. Dissertação (Mestrado Patologia e Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Hospital Veterinário, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2021.

A dirofilariose canina é uma das principais afecções cardiorrespiratórias parasitárias cujo agente etiológico é o filarídeo *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856), associado ao seu endossimbionte *Wolbachia* sp. Muitos cães infectados são assintomáticos, sendo a suspeita clínica muitas vezes elaborada mediante o exame clínico minucioso ou pelo achado casual de microfilárias em exames laboratoriais. Animais sintomáticos apresentam manifestações clínicas inespecíficas, o que dificulta os médicos veterinários a suspeitarem da infecção e a incluírem-na no diagnóstico diferencial. Sendo assim, objetivou-se analisar os aspectos clínicos, descrevendo as alterações cardiorrespiratórias de cães, com mais de 12 meses de idade, apresentados ao Serviço de Cardiologia e Doenças Respiratórias (SCDR) do Hospital Veterinário de Pequenos Animais (HVP) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Após o consentimento formal dos tutores 26 cães foram submetidos a exame clínico (histórico, anamnese e exame físico), laboratorial (hemograma, pesquisa de microfilária e antígeno), radiográfico (radiografia torácica) e ecodopplercardiográfico. A maioria dos cães incluídos, parasitados (11/26) ou não (15/26), apresentava tosse (65,4%) e alteração na ausculta pulmonar (81%). O sopro em foco tricúspide foi observado em sete cães (26,9%), quatro deles infectados (57,1%) e três livres da infecção (42,9%). Ao ecodopplercardiograma observou-se insuficiência tricúspide em oito cães (30,8%), três deles infectados (37,5%) e insuficiência pulmonar em 12 (46,1%), sendo seis infectados (50%). A maioria dos animais apresentava alteração no padrão pulmonar (88,5%) à radiografia torácica. O padrão bronquial foi identificado em 45,5% dos cães infectados e em 46,7% nos cães não infectados. Já o padrão intersticial foi identificado em 18,2% dos infectados e em 6,7% dos livres da infecção. Nenhum animal apresentava conjunto de alterações que denotasse probabilidade de hipertensão pulmonar, embora tenham sido observados parâmetros que indiquem que tenha ocorrido aumento da pressão pulmonar. Helmintos foram visualizados ao ecodopplercardiograma em 45,5% das infecções. Os valores hematológicos dos cães infectados e dos não infectados foram semelhantes, apresentando valores médios dentro da faixa de referência para a espécie. As avaliações realizadas demonstraram que os animais estudados não apresentavam doença grave, sendo infectados ou não. Como a dirofilariose é uma doença cardiorrespiratória que apresenta características clínicas indiferenciáveis de afecções cardiorrespiratórias por outras etiologias, fez-se necessário realizar exames parasitológicos, fossem eles pesquisa de microfilárias ou de antígenos específicos ou até a visualização dos parasitos pelo ecodopplercardiograma, apesar de sua baixa sensibilidade. Conclui-se que a tosse foi o sinal clínico mais referido pelos tutores e, em todos os casos, confirmado pelos médicos veterinários durante o exame físico. A maioria dos animais apresentava sopro em foco tricúspide, ausculta pulmonar alterada, insuficiência da valva tricúspide e pulmonar e parênquima pulmonar com padrões bronquial ou intersticial.

Palavras-Chave: afecção cardiorrespiratória, dirofilariose canina, ecodopplercardiograma, radiografia torácica

ABSTRACT

LEMOS, Nathália Marques de Oliveira. **Clinical aspects of the natural canine *Dirofilaria immitis* infection of patients presented at the Serviço de Cardiologia e Doenças Respiratórias of the setor de Pequenos Animais of the Hospital Veterinário of the Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.** 2021. 113f. Thesis (Masters Program Patologia e Ciências Clínicas). Instituto de Veterinária, Hospital Veterinário, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2021.

Canine heartworm disease is one of the main cardiorespiratory parasitic illnesses. It's etiological agent is *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856), that has association with the endosymbiont *Wolbachia* sp. Many infected dogs are asymptomatic and many times the infection is included in the differential due to a detailed clinical examination or to an microfilariae incidental finding during laboratory work. The clinical signs shown by the symptomatic animals are unspecific, making it difficult for the attending veterinarian to include it in the differential diagnostic work. Therefore, the aim of this work was to analyze the clinical aspects of the older than 12 months dogs presented to the Serviço de Cardiologia e Doenças Respiratórias (SCDR) of the Hospital Veterinário de Pequenos Animais (HVPA) of the Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) with cardio respiratory illnesses. After the owners formal consent, 26 dogs were submitted to clinical examination (history, anamnesis and physical examination), to laboratory work (complete blood count, microfilariae detection test and antigen test), to chest x-rays and echodopplercardiogram. Most dogs included in the study, infected (11/26) or not (15/26), presented cough (65.4%) and abnormal lung sounds (81%). Murmur at the tricuspid focus was present in seven dogs (26.9%), four of them were infected (57.1%) and three free of infection (42.9%). The echodopplercardiogram showed tricuspid insufficiency in eight dogs (30.8%), three of them infected (37.5%) and pulmonary insufficiency in 12 (46.1%), six of them were infected (50%). The x-rays showed that most dogs presented altered pulmonary patterns (88.5%). Bronchial pattern was present in 45.5% of the infected dogs and in 46.7% of the free of infection. The interstitial pattern was present in 18.2% of the infected and in 6.7% of the uninfected. None of the examined dogs presented a set of signs that could denote pulmonary hypertension although high pulmonary pressure was indicated by scarce parameters. Worms were visualized by echodopplercardiogram in 45.5% of the infected dogs. The blood work results' means of the infected and of the naïve dogs were within the reference range for the species. The performed evaluations showed that all included dogs did not present severe disease, were they infected or not. Since heartworm disease is a cardio respiratory disease undifferentiated from generally caused cardio respiratory illnesses, it was mandatory to perform parasitological assays, were they microfilariae or specific antigen tests or even the worm detection by echodopplercardiogram, despite its low sensitivity. It could be concluded that the owners most claimed complaint was cough, that could be confirmed by the attending veterinarians during physical examination. Most dogs presented tricuspid murmur, altered pulmonary sounds, tricuspid and pulmonary valves insufficiency and bronchial or interstitial patterns of the pulmonary parenchyma.

Key-words: cardio-respiratory illness, canine heartworm, echodopplercardiogram, chest x-ray

LISTA DE ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

A	Onda A
A'	Onda A'
AD	Átrio direito
ADVD	Área Diastólica Máxima do Ventrículo Direito
AE	Átrio esquerdo
Ag	Antígeno
AO	Artéria Aorta
AP	Artéria Pulmonar
ASVD	Área Sistólica Máxima do Ventrículo Direito
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CHGM	Concentração de Hemoglobina Globular Média
cm	Centímetros
<i>D. immitis</i>	<i>Dirofilaria immitis</i>
DAPD	Diâmetro do Ramo Direito da Artéria Pulmonar na Diástole
DAPS	Diâmetro do Ramo Direito da Artéria Pulmonar na Sístole
DVDCM	Doença Valvar Degenerativa Crônica de Mitral
E	Onda E
E'	Onda E'
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
FAC	Variação Funcional da Área
FRD	Fenótipo de Raça Definida
GL	Grau de Liberdade
HAP	Hipertensão Arterial Pulmonar
HTW	<i>Dirofilaria immitis</i>
HVPA	Hospital Veterinário de Pequenos Animais
ICC	Insuficiência Cardíaca Congestiva
IDAP	Índice de Distensibilidade da Artéria Pulmonar
IV	Instituto de Veterinária
kg	Quilograma
L1	Larva de Primeiro Estádio ou Microfilárias

L2	Larva de Segundo Estádio
L3	Larva de Terceiro Estádio ou Larva Infectante
L4	Larva de Quarto Estádio
m/s	Metros por Segundo
MF	Machos e Fêmeas
mff	Microfilárias
MHz	Mega-Hertz
MK	Knott Modificado
ml	Mililitro
mm	Milímetro
Modo – B	Modo Bidimensional
Modo – M	Modo Unidimensional
p	Valor de p
RJ	Rio de Janeiro
S	Onda S
SCDR	Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias
SRD	Sem Raça Definida
T	Teste-T
TAPSE	Excursão Sistólica do Plano Anular Tricuspídeo
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TDI	Doppler Tecidual
U	Teste Mann Whitney
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
VD	Ventrículo Direito
VE	Ventrículo Esquerdo
VGM	Volume Globular Médio
VpP	Pico de Velocidade do Fluxo Pulmonar
χ^2	Qui-Quadrado
%	Por cento
μm	Micrómetro

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Frequências absolutas e relativas de cães por raça, sexo, idade, peso e pelagem, de acordo com a detecção de antígenos* ou de microfilárias** em amostras sanguíneas.....	58
Tabela 2: Frequências absolutas e relativas de cães por avaliação clínica, infecção por <i>Dirofilaria immitis</i> e faixa etária.....	60
Tabela 3: Médias e Desvios -padrão dos parâmetros hematológicos dos cães segundo infecção por <i>Dirofilaria immitis</i>	61
Tabela 4: Frequências absolutas e relativas de cães por avaliação cardíaca realizada por radiografia e por ecodopplercardiograma de acordo com a detecção da infecção por <i>Dirofilaria immitis</i>	63
Tabela 5: Frequências absolutas e relativas de cães por avaliação pulmonar realizada por radiografia e ecodopplercardiograma de acordo com a detecção da infecção por <i>Dirofilaria immitis</i>	65

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Classificação das manifestações dos sinais clínicos da dirofilariose canina.....	30
Quadro 2: Valores hematológicos de referência para a espécie canina.....	41

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Microfilária de *Dirofilaria immitis* visualizada na técnica de Knott modificado. Extremidade cefálica (A); Extremidade caudal (B) Fonte: MONTEIRO, 2016.22
- Figura 2:** Ciclo biológico de *Dirofilaria immitis* em cães. L1- larva de primeiro estágio; L2 - larva de segundo estágio; L3- larva de terceiro estágio; L4 - larva de quarto estágio; MF-machos e fêmeas (reprodução). Fonte: Adaptado da Zoetis.23
- Figura 3:** Distribuição geográfica da dirofilariose canina. Em azul, infecção por *Dirofilaria immitis*; em verde por *Dirofilaria repens* e em laranja por ambas espécies. Fonte: SIMÓN et al., 2012.24
- Figura 4:** Esquema da progressão da patogenia de *Dirofilaria immitis* em cães. Fonte: SIMÓN et al., 2012.27
- Figura 5:** Imagem de distensão abdominal (seta amarela) devido a ascite em cão naturalmente infectado por *D. immitis*. Fonte: Jonimar Paiva - SCDR, UFRJ.....28
- Figura 6:** Imagem de distensão jugular (seta laranja) em cão naturalmente infectado por *D. immitis* devido a insuficiência cardíaca congestiva direita. Fonte: WARE, 2011.....28
- Figura 7:** Imagem de cão naturalmente infectado por *D. immitis*, apresentando quadro clínico de caquexia. Fonte: Dra Amanda Schuback - Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro, RJ.29
- Figura 8:** Imagem radiográfica do tórax de um cão infectado por *D. immitis* nos posicionamentos ventrodorsal (a) e latero lateral esquerda (b), evidenciando aumento atrioventricular direito (seta amarela), aumento do calibre da artéria lobar caudal (seta vermelha) e padrão alveolar e intersticial (setas laranjas). Fonte: Dr. A. Sharma and Ms. M. Savadelis In: Troccap, Disponível em: www.troccap.com, Acesso em: 27 de Fevereiro de 2021.31
- Figura 9:** Imagem ecodopplercardiográfica, janela paraesternal longitudinal direita, evidenciando a presença *Dirofilaria immitis* (“sinal de igual”) em átrio direito (setas) em cão naturalmente infectado. AE: átrio esquerdo. VE: Ventrículo esquerdo. AD: átrio direito. Fonte: ROMANO et al., 2021.....32
- Figura 10:** Técnica de Knott modificada demonstrando *Acanthocheilonema reconditum* (A) e *Dirofilaria immitis* (B). Fonte: Byron Blagburn In: AMERICAN HEARTWORM SOCIETY.

Current Canine Guidelines for the Prevention, Diagnosis, and Management of Heartworm Infection in Dogs, 2020.	35
Figura 11: Imagem de microfilárias de <i>Dirofilaria immitis</i> Fonte: Arquivo Pessoal.....	41
Figura 12: Imagem do teste para detecção de antígenos de <i>Dirofilaria immitis</i> pelo teste SNAP 4DX PLUS® IDEXX®. (A) Controle positivo; (B) Marcação em azul demonstrando a presença de antígeno de <i>Dirofilaria immitis</i> na amostra avaliada. Fonte: Serviço de Patologia Clínica Veterinária da UFRRJ.	42
Figura 13: Imagem radiográfica evidenciando aumento da densidade em topografia de tronco pulmonar (círculo azul) de cão naturalmente infectado por <i>Dirofilaria immitis</i> . Fonte: Serviço de Diagnóstico por Imagem da UFRRJ.....	43
Figura 14: Imagem radiográfica evidenciando aumento do calibre da artéria pulmonar lobar caudal (B) em relação a Nona costela (A) em cão naturalmente infectado por <i>Dirofilaria immitis</i> .. Fonte: Instituto de Especialidades em Medicina Veterinária, Rio de Janeiro, Brasil.	44
Figura 15: Imagem radiográfica evidenciando aumento da radiopacidade pulmonar, broncograma aéreo (seta branca) e sinal lobar (setas pretas). Fonte: THRALL, 2013.	45
Figura 16: Imagem radiográfica evidenciando aumento da radiopacidade pulmonar (círculo azul). Fonte: THRALL, 2013.	45
Figura 17: Imagem radiográfica de cão no posicionamento ventrodorsal evidenciando aumento da radiopacidade peribronquial (setas). Fonte: THRALL, 2013.	46
Figura 18: Imagem radiográfica de cão no posicionamento ventrodorsal evidenciando aumento da radiopacidade do interstício pulmonar. Fonte: THRALL, 2013.....	46
Figura 19: Imagem radiográfica evidenciando aumento da radiopacidade do interstício pulmonar com visualização de formações nodulares (setas brancas). Fonte: THRALL, 2013.	47
Figura 20: Imagem radiográfica evidenciando aumento da radiopacidade do interstício pulmonar (setas pretas), caracterizando o padrão intersticial; e aumento da radiopacidade peribronquial (setas brancas), caracterizando o padrão bronquial. Posição ventrodorsal Fonte: THRALL, 2013.	47
Figura 21: Imagem radiográfica evidenciando aumento atrioventricular direito (círculo azul). Posição ventrodorsal. Fonte: Serviço de Diagnóstico por Imagem da UFRRJ.	48

Figura 22: Imagem ecocardiográfica de canino, corte paraesternal apical quatro câmaras, avaliando a função sistólica do ventrículo direito, pela FAC, no momento da diástole e no momento da sístole. AdVD: área diastólica máxima do ventrículo direito. AsVD: área sistólica máxima do ventrículo direito. Fonte: Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias da UFRRJ.	49
Figura 23: Imagem ecocardiográfica de canino, corte paraesternal apical quatro câmaras, avaliando a função sistólica do VD, pelo TAPSE. Fonte: Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias da UFRRJ.	50
Figura 24: Estudo Doppler tecidual do VD de paciente canino, mensurando a onda S' (vc1). Fonte: Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias da UFRRJ.	50
Figura 25: Estudo Doppler tecidual do VD de paciente canino, mensurando as ondas E' (v2) e A' (v3). Fonte: Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias da UFRRJ.	51
Figura 26: Imagem ecocardiográfica de canino, corte transverso da base, avaliando o IDAP, pela mensuração do diâmetro da AP na sístole (DIST 1) e na diástole (DIST 2). Fonte: Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias da UFRRJ.	52
Figura 27: Imagem ecocardiográfica de cão, corte apical quatro câmaras evidenciando regurgitação da valva tricúspide (seta branca - imagem A) e mensuração do gradiente de pressão do fluxo turbulento da regurgitação da valva tricúspide (B). Fonte: Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias da UFRRJ.....	53
Figura 28: Imagem ecocardiográfica de cão, no modo bidimensional, corte paraesternal direito no eixo curto, medindo-se o diâmetro da artéria pulmonar (B) e aorta (A). Fonte: Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias da UFRRJ.	54
Figura 29: Imagem ecocardiográfica de cão, no modo bidimensional, corte paraesternal direito no eixo curto, mensurando pelo Doppler pulsado, o pico de velocidade do fluxo pulmonar (vpP-seta). Fonte: Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias da UFRRJ.....	54
Figura 30: Imagem ecocardiográfica de cão em modo bidimensional, corte longitudinal, evidenciando presença de estruturas lineares hiperecóticas (setas amarelas) medindo 1,3 mm de diâmetro (Dist 1). Imagem compatível com a presença do parasito <i>D. immitis</i> . Fonte: Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias da UFRRJ.	55

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1 Agentes Etiológicos da Dirofilariose.....	21
2.2 Ciclo Biológico de <i>D. immitis</i>.....	22
2.3 Dirofilariose Canina.....	24
2.4 Acompanhamento Clínico da Doença	30
2.5 Diagnóstico da Infecção	34
2.6 Profilaxia.....	35
2.7 Tratamento	36
3 MATERIAL E MÉTODOS	38
3.1 Considerações Éticas	38
3.2 Localização do Estudo	38
3.3. Amostragem.....	38
3.3.1 Critérios de inclusão e exclusão	38
3.4 Delineamento Experimental.....	39
3.4.1 Exame clínico	39
3.4.2 Coleta de sangue	40
3.4.3 Exames laboratoriais.....	40
3.4.3.1 Hemograma	40
3.4.3.2 Diagnóstico da infecção por <i>D. immitis</i>	41
3.4.3.3 Exame radiográfico.....	42
3.4.3.4 Ecodopplercardiograma.....	48
3.5 Análise dos dados	55
4 RESULTADOS	57
4.1 Animais	57

4.2 Exame Clínico.....	59
4.3 Exames Complementares	60
4.3.1 Hemograma e doenças transmitidas por carrapatos	60
4.3.2 Avaliação cardíaca	62
4.3.3 Avaliação pulmonar	64
5 DISCUSSÃO	66
6 CONCLUSÕES.....	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74
APÊNDICES	85
Apêndice 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	85
Apêndice 2 - Ficha de captura de dados.....	87
Apêndice 3 - Planilhas com os dados completos dos animais incluídos no estudo	90
ANEXOS.....	95
Anexo 1 - Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais	95
Anexo 2 – Certificado da apresentação de trabalho científico em forma de slides, na VI semana acadêmica do Programa de Pós graduação em Medicina Veterinária da UFRRJ, realizado por plataforma Zoom, com dados obtidos na fase de inclusão do estudo.....	96
Anexo 3 – Artigo “Unusual pulmonar thromboembolism in a <i>Dirofilaria immitis</i> infected dog” publicado no periódico Brazilian Journal of Veterinary Medicine, volume 42, 2020.	97
Anexo 4 – Artigo “Canine heartworm: natural infection along remote coastal area of Rio de Janeiro” publicado no periódico Brazilian Journal of Veterinary Medicine, volume 43, 2021.	106

1 INTRODUÇÃO

A dirofilariose canina, conhecida há anos pela medicina veterinária, é uma doença parasitária que acomete tanto os pulmões quanto o coração. A maioria dos estudos clínicos dessa parasitose não foram desenvolvidos no Brasil e muitos foram conduzidos há anos, antes da disponibilização de ferramentas de exames complementares modernas.

Canídeos são os hospedeiros definitivos nos quais os helmintos se desenvolvem e reproduzem com eficácia, embora outras espécies também propiciem que o ciclo biológico se complete. Apesar da maioria dos cães infectados por *D. immitis* não apresentarem sinais clínicos, quando não diagnosticados e tratados, com o passar do tempo desenvolverão afecções cardiorrespiratórias inespecíficas e variadas. Assim, ante a qualquer suspeita, os pacientes devem ser submetidos a exame clínico completo e minucioso.

Exames complementares como a radiografia torácica e o ecodopplercardiograma auxiliam no diagnóstico, prognóstico e acompanhamento do paciente. Trabalhos dedicados a descrever e compreender a doença utilizando ferramentas e conceitos modernos de avaliação são raros na literatura mundial e, mais ainda, em ambientes tropicais.

Assim, para contribuir a preencher as lacunas do conhecimento, o presente estudo objetivou realizar análise de aspectos clínicos (sinais clínicos e alterações em exames complementares como hemograma, radiografia torácica e ecodopplercardiograma) da dirofilariose canina de animais atendidos no Serviço de Cardiologia e Doenças Respiratórias do Setor de Pequenos Animais do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro no período de outubro de 2019 a fevereiro de 2020, tendo como objetivos específicos: a) Descrever as alterações cardiorrespiratórias dos cães com mais de 12 meses de idade portadores de infecção por *Dirofilaria immitis*; b) Descrever as alterações cardiorrespiratórias dos cães com mais de 12 meses de idade livres de infecção por *Dirofilaria immitis* e; c) Comparar as alterações cardiorrespiratórias dos cães portadores de infecção por *Dirofilaria immitis* com as alterações daqueles sem a parasitose.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Agentes Etiológicos da Dirofilariose

Dirofilaria immitis (Leidy, 1856) é um Nematoda que alberga bactérias endossimbiontes do gênero *Wolbachia* (WERREN, 1997; BANDI et al., 2001; HISE et al., 2004; SIMÓN et al., 2007). Tanto o helminto quanto a bactéria são agentes etiológicos da dirofilariose canina (KNIGHT, 1987).

Segundo Smythe et al. (2006) a *Dirofilaria immitis* classifica-se sistematicamente:

Reino: Animalia

Filo: Nematoda

Classe: Secermentea

Ordem: Spirurida

Superfamília Filarioidea (Weiland, 1858) Stiles 1907

Família Onchocercidae (Leiper, 1911)

Subfamília Dirofilariinae Sandground, 1921

Gênero *Dirofilaria* Raillet & Henry, 1911

Espécie *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) Raillet & Henry, 1911

Os adultos de *D. immitis* apresentam dimorfismo sexual. Há diferenças no comprimento e no diâmetro, além da sua porção terminal. As fêmeas são maiores com média de 21,83 cm de comprimento e 1 a 1,3 mm de diâmetro, e os machos medem em média 13,76 cm de comprimento e 0,7 a 0,9 mm de diâmetro. Nas fêmeas a extremidade caudal é reta e nos machos espiralada (LOK, 1988; REY, 2001; FURTADO et al., 2010).

Os estádios de desenvolvimento são: larva de primeiro estágio (L1), larva de segundo estágio (L2), larva de terceiro estágio ou larva infectante (L3), larva de quarto estágio (L4) e formas adultas, que podem ser imaturas ou sexualmente maduras (LOK, 1988; REY, 2001).

As primeiras formas imaturas (L1) são chamadas de microfilárias. Ao exame de Knott modificado por Newton e Wright (1956) medem aproximadamente 301,77 µm de comprimento e 6,3 µm de diâmetro, apresentando extremidade cefálica ovalada e afilada e caudal reta (REDINGTON et al., 1977; LOK, 1988) (Figura 1).



Figura 1: Microfilária de *Dirofilaria immitis* visualizada na técnica de Knott modificado. Extremidade cefálica (A); Extremidade caudal (B) Fonte: MONTEIRO, 2016.

Bactérias do gênero *Wolbachia* são intracelulares gram negativas que apresentam relação estável de coadaptação e de dependência recíproca com *D. immitis* (WERREN, 1997; BANDI et al., 2001).

Segundo DUMLER et al. (2001) a *Wolbachia* classifica-se sistematicamente:
 Reino Bacteria (Haeckel, 1894) WOESE et. al., 1990
 Filo Proteobacterias GARRITY et. al., 2005
 Classe Alphaproteobacterias GARRITY et. al., 2006
 Ordem Rickettsiales GIESZCZYKIEWICZ, 1939
 Família Anaplasmataceae PHILIP, 1957
 Gênero *Wolbachia* HERTIG, 1936

Essas bactérias influenciam no desenvolvimento, reprodução e sobrevivência do nematóide (LIPSITCH et al., 1995; BANDI et al., 2001), uma vez que sintetizam moléculas essenciais para a produção de energia e para a divisão celular (BAZZOCCHI et al., 2008). Elas se concentram na hipoderme tanto de machos quanto de fêmeas de todas as formas, sejam elas imaturas ou não. Além disso, estão presentes em grande concentração no trato reprodutivo dos helmintos fêmea (BANDI et al., 2001).

2.2 Ciclo Biológico de *D. immitis*

Os canídeos são os hospedeiros definitivos aos quais o parasito é melhor adaptado, embora outros mamíferos também possam ser infectados (ATKINS et al, 2005). Os cães domésticos são os hospedeiros infectados com maior frequência nos ambientes urbanos (AHS, 2014). Quando parasitos (machos e fêmeas) presentes nas artérias pulmonares e nas câmaras cardíacas direitas dos cães atingem a maturidade sexual, se reproduzem e inicia-se a produção de larvas de primeiro estágio (L1 ou microfilárias) que são liberadas na corrente sanguínea. A

liberação das microfilárias (mf) se inicia aproximadamente aos 180 dias após a infecção dos cães (KNIGHT, 1987).

Quando os hospedeiros intermediários, culicídeos em sua maioria exofílicos (CÔNSOLI; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994), realizam seus repastos sanguíneos em cães microfilarêmicos, ingerem as microfilárias juntamente com o sangue (KARTMAN, 1953; TAYLOR, 1960). Os vetores são menos atraídos por cães de pelagem clara uma vez que percebem cores (MARANHÃO, 1976) e a facilidade com que os vetores acessam a pele dos animais microfilarêmicos é influenciada pelo comprimento da pelagem (FORATINI, 1987a; FORATINI, 1987b; FORATINI, 1995).

Nos mosquitos as larvas realizam duas mudas tornando-se infectantes (L3). As L3 migram para o aparato bucal dos mosquitos e quando eles realizarem o próximo repasto sanguíneo migrarão ativamente para a epiderme do hospedeiro. A infecção ocorre pela penetração das larvas pelo orifício deixado pela probóscida do mosquito. Quando o hospedeiro infectado for de uma espécie susceptível, o ciclo poderá se completar. As larvas infectantes ao alcançarem o tecido subcutâneo realizarão outra muda em três a quatro dias, tornando-se larvas de quarto estágio (L4) (SOULSBY, 1968; LOK, 1988).

A última muda ocorre em aproximadamente 50 - 70 dias após a infecção quando se inicia a migração em direção às artérias pulmonares (KNIGHT, 1987). Atingem o habitat em 90 a 120 dias após a infecção, não se fixam a qualquer estrutura e continuam seu desenvolvimento até alcançarem a maturidade sexual e o ciclo se completar com a liberação de microfilárias no sangue (6 - 9 meses) (KNIGHT, 1987; LOK, 1988, AHS, 2020) (Figura 2).

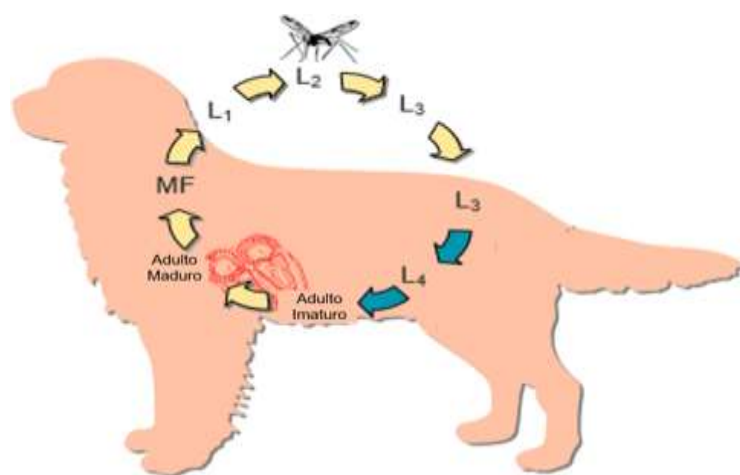


Figura 2: Ciclo biológico de *Dirofilaria immitis* em cães. L1- larva de primeiro estágio; L2 - larva de segundo estágio; L3- larva de terceiro estágio; L4 - larva de quarto estágio; MF-machos e fêmeas (reprodução).
Fonte: Adaptado da Zoetis.

2.3 Dirofilariose Canina

A dirofilariose canina acomete animais em todos os continentes, com maiores taxas de prevalência são observadas em áreas litorâneas tropicais ou subtropicais ano (LOK, 1988; LABARTHE, 1997; LEDESMA; HARRINGTON, 2011; SIMÓN et al., 2012; LITTLE et al, 2014) (Figura 3).



Figura 3: Distribuição geográfica da dirofilariose canina. Em azul, infecção por *Dirofilaria immitis*; em verde por *Dirofilaria repens* e em laranja por ambas espécies. Fonte: SIMÓN et al., 2012.

A maior ocorrência nesses ambientes parece ser decorrente do favorecimento ambiental para o aumento da densidade de mosquitos vetores (LABARTHE et al., 1988a; LOK, 1988; LABARTHE, 1997; LITTLE et al, 2014). Tanto assim que um estudo registrou a infecção por *D. immitis* em cães, residentes em áreas sem registro de ocorrência da parasitose anteriormente (FILHO et al., 2021).

Diversos fatores são enumerados como facilitadores da ocorrência da infecção: i) viagens de cães microfilarêmicos para áreas indenes; ii) falta de profilaxia adequada; iii) mudanças climáticas globais, principalmente o aquecimento global; iv) aumento da densidade de mosquitos vetores e; v) destruição de habitats naturais que forcem a dispersão de canídeos silvestres em busca de recursos (WALTERS; LAVOPIERRE, 1984; BROWN et al, 2012; ALHO et al, 2014; RINALDI et al, 2014; WANG et al, 2014).

Outros fatores podem influenciar na dispersão da parasitose, como por exemplo, a maior taxa de infecção dos cães macho (ALMEIDA et al., 2001; SONG et al., 2003; YILDIRIM et al., 2007; ROCHA, 2010; VEZZANI et al., 2011; LU et al., 2017) e as condições socio-

econômico-culturais da população humana local (WALTERS, 1995) semelhantes às condições socio-econômico-culturais do município de Seropédica, RJ (SILVA et al., 2020).

A maioria das infecções por *D. immitis* cursa de forma assintomática e crônica (GUERRERO, 2005; ESDA, 2017; AHS, 2020). Quando os sinais clínicos aparecem são inespecíficos, geralmente relacionados à carga parasitária, tempo de infecção, atividade física e resposta imunológica do cão (AHS, 2020).

Os vermes adultos habitam as artérias pulmonares caudais e de forma retrógrada migram em direção às câmaras cardíacas direitas e veia cava caudal (VENCO et al, 2005; AHS, 2020). Esta migração é influenciada pela carga parasitária absoluta e pela relativa (número de helmintos/tamanho do cão), assim é esperado que quanto menor o hospedeiro, maior a probabilidade da migração dos parasitas para regiões mais distantes das artérias pulmonares (CALVERT et al., 1999; VENCO et al., 2005).

Os parasitos movimentam-se vigorosamente contra o fluxo sanguíneo na luz das artérias pulmonares. Nesse movimento incessante nos vasos, agridem o endotélio vascular, causando descamação e inflamação (SIMÓN et al., 2012). Essa lesão endotelial leva a agregação plaquetária e a migração de leucócitos para a região, que ao liberar fatores de crescimento, promovem a proliferação das células da musculatura lisa arterial e sua migração em direção ao endotélio. Esse processo acarreta na formação de vilosidades que invadem a luz dos vasos reduzindo seu diâmetro (endarterite) (LABARTHE et al., 2009). A agregação plaquetária decorrente da agressão do parasita ao endotélio vascular, pode ainda acarretar obstrução do fluxo sanguíneo dos vasos pulmonares por dois mecanismos: pela formação de trombos hemáticos decorrentes de coagulação intravascular disseminada (RAWLINGS, 1986; CALVERT et al., 1998; RIDYARD, 2005, TAKASHIMA et al., 2017) ou pela ação mecânica ocasionada pela presença dos parasitos nos vasos (LABARTHE et al., 2009). Os trombos sejam hemáticos ou parasitários podem se fragmentar comprometendo o fluxo de sangue arterial e arteriolar pulmonar. Nos casos de tromboembolismo pulmonar, geralmente os pacientes manifestam dispneia súbita, prostração, intolerância grave ao exercício, muitas vezes acarretando em óbito secundário a hipóxia (RAWLINGS, 1986).

Quanto maior a carga parasitária e o tempo de infecção, maior será a agressão ao endotélio vascular, acarretando em lesões mais graves e maiores repercussões sistêmicas (SIMÓN et al., 2012).

Devido ao processo inflamatório, o endotélio se torna permeável ao plasma e às células sanguíneas. O extravasamento para o interstício pulmonar caracteriza inflamação intersticial

perivascular (RAWLINGS, 1986; LABARTHE et al., 2009). Com a cronicidade do processo ocorre substituição do parênquima pulmonar por tecido fibroso, comprometendo a distribuição adequada de oxigênio para os tecidos (SIMÓN et al., 2012).

O processo inflamatório estimula os receptores para tosse no tecido pulmonar. Como a inflamação pulmonar é a gênese do processo, o primeiro sinal clínico da doença é a tosse (TILLEY; GOODWIN, 2002; SIMÓN et al., 2012), sinal clínico em comum com outras doenças cardiorrespiratórias (MONTROYA-ALONSO, 2007; MAGGIORE, 2014; KEENE et al., 2019), que podem ocorrer concomitante à infecção. Com o progresso das lesões a fibrose e o extravasamento de fluidos para o parênquima pulmonar comprometem a função pulmonar levando ao maior esforço para captação de oxigênio, o que se traduz clinicamente como dispneia (RAWLINGS, 1986; LABARTHE et al., 2009). O acúmulo desse líquido caracteriza o edema pulmonar não cardiogênico, que ao exame físico pode ser detectado durante a auscultação pulmonar como crepitações (RAWLINGS, 1986; BOWMAN; ATKINS, 2009).

Outro ponto importante é o papel da *Wolbachia* sp no processo inflamatório pulmonar. As bactérias são pró-inflamatórias e quando os helmintos morrem e as liberam na circulação, há atração de macrófagos, neutrófilos e linfócitos para o local da agressão, agravando a reação inflamatória (BANDI et al., 2001). Tanto assim que a resposta dos pulmões à morte dos parasitos adultos é a exacerbação das alterações endoteliais já existentes, com maior proliferação das vilosidades e adesão plaquetária, formando trombos (RAWLINGS, 1986; LABARTHE et al., 2009).

Com a cronicidade dos casos ocorre a liberação de mediador inflamatório, endotelina-1 que leva a vasoconstrição das regiões acometidas e redirecionamento do fluxo sanguíneo a ser oxigenado para as regiões saudáveis (SIMÓN et al., 2012). Quando a extensão das lesões ultrapassa a capacidade compensatória desse mecanismo o redirecionamento do fluxo passa a contribuir para o aumento da resistência vascular. Dessa forma há hipertensão arterial pulmonar (HAP), o que dificulta a chegada de sangue aos pulmões, agravando os sinais respiratórios (CALVERT et al., 1998; MCHAFFIE, 2012).

Com o estabelecimento da HAP ocorre o aumento da pós-carga e a necessidade de maior esforço do ventrículo direito (VD) para ejetar sangue através da artéria pulmonar. Assim há aumento do volume residual (sobrecarga de volume), levando a hipertrofia excêntrica do VD (SIMÓN et al., 2012). O aumento da pressão no VD exerce pressão na valva tricúspide, que acaba permitindo refluxo de sangue do VD para o átrio direito (AD). À ausculta cardíaca o refluxo de sangue de VD para AD se traduz em sopro em foco tricúspide (JESSUP et al., 1987;

SIMÓN et al., 2012). Todavia, vale ressaltar que esse sopro também pode ser pela presença do parasito levando a turbulência sistólica no óstio tricúspide (ATWELL, 1988). Quando os parasitos se encontram na artéria pulmonar podem causar turbulência e levar à presença de sopro em foco pulmonar (ATWELL, 1988; SIMÓN et al., 2012).

Com o desenvolvimento da doença a congestão no VD gera o estiramento exagerado das fibras miocárdicas, diminuindo a força contrátil. O agravamento do processo leva à falência miocárdica, instalando a insuficiência cardíaca congestiva (ICC) direita (Figura 4). A ICC cursa com congestão passiva sistêmica, aumento da pressão sanguínea na veia cava caudal e derrames cavitários como a efusão abdominal, caracterizando a ascite (Figura 5) (CALVERT, 2008; TILLEY; GOODWIN, 2002). O aumento da pressão sanguínea na veia cava caudal, leva a distensão da veia jugular e pulso jugular sistólico, visíveis ao exame físico (Figura 6), bem como a congestão dos vasos hepáticos e, conseqüentemente, a hepatomegalia. Nesse processo pode ocorrer insuficiência hepática com conseqüências gastrointestinais, tais como perda de peso e caquexia, por má absorção e perda de proteínas plasmáticas (Figura 7) (WARE, 2011).

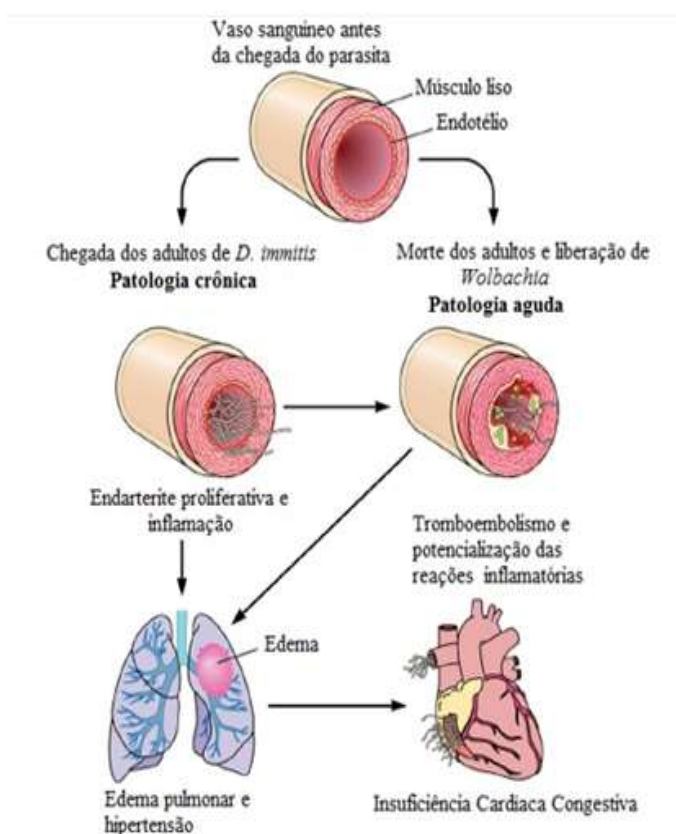


Figura 4: Esquema da progressão da patogenicidade de *Dirofilaria immitis* em cães. Fonte: SIMÓN et al., 2012.



Figura 5: Imagem de distensão abdominal (seta amarela) devido a ascite em cão naturalmente infectado por *D. immitis*. Fonte: Jonimar Paiva - SCDR, UFRRJ



Figura 6: Imagem de distensão jugular (seta laranja) em cão naturalmente infectado por *D. immitis* devido a insuficiência cardíaca congestiva direita. Fonte: WARE, 2011.



Figura 7: Imagem de cão naturalmente infectado por *D. immitis*, apresentando quadro clínico de caquexia. Fonte: Dra Amanda Schuback - Universidade Castelo Branco, Rio de Janeiro, RJ.

Outra consequência da função ventricular direita reduzida e subsequente redução do volume de sangue oxigenado pelos pulmões é a insuficiência de oxigênio para as demandas metabólicas do sistema nervoso central e tissulares da musculatura estriada esquelética, acarretando letargia e intolerância ao exercício (RAWLINGS, 1986; GOMPF, 2008; WARE, 2011). Além disso a função ventricular direita comprometida pode deslocar o septo para a esquerda, reduzindo a luz do ventrículo esquerdo (VE), gerando redução do débito cardíaco e hipotensão sistêmica, culminando em síncope (JESSUP et al., 1987; MACNEE, 1994; RENDER et al., 1995; CALVERT, 2008).

Cães que são deslocados de áreas endêmicas para áreas não endêmicas sem receberem profilaxia são mais suscetíveis a infecções maciças. Não é raro que grande número de parasitos alcance as artérias pulmonares em um curto espaço de tempo. Nesses casos não há tempo para os mecanismos compensatórios se estabelecerem, ocorrendo sobrecarga volumétrica súbita, com consequente elevação da pressão venosa central e dificuldade no retorno venoso (síndrome da veia cava). Ocorre choque cardiogênico, hemólise intravascular, coagulação intravascular disseminada, falência renal, falência hepática e óbito (SIMÓN et al., 2012).

Segundo a American Heartworm Society (2020), os sinais clínicos associados à dirofilariose canina podem ser classificados como discreto, moderado, grave e síndrome da veia cava (Quadro 1).

Quadro 1: Classificação das manifestações dos sinais clínicos da dirofilariose canina.

Discreto	Assintomático ou tosse
Moderado	Tosse, intolerância ao exercício, sons pulmonares anormais
Grave	Tosse, intolerância a exercícios, dispneia, sons cardíacos e pulmonares anormais, fígado aumentado (hepatomegalia), síncope (perda temporária de consciência por redução do fluxo sanguíneo para o cérebro), ascite (acúmulo de fluido na cavidade abdominal) e morte
Síndrome da veia cava	Início súbito de letargia grave e fraqueza acompanhada por hemoglobinemia e hemoglobinúria

Fonte: AMERICAN HEARTWORM SOCIETY. Current Canine Guidelines for the Prevention, Diagnosis, and Management of Heartworm Infection in Dogs, 2020. Disponível em: <https://heartwormsociety.org/images/pdf/2020-AHS-Canine-Guidelines.pdf>. Acesso em: 10 de Janeiro de 2021.

2.4 Acompanhamento Clínico da Doença

Os exames complementares como radiografia torácica, ecodopplercardiograma e hemograma, são importantes para o acompanhamento da doença e o prognóstico do paciente (TILLEY; GOODWIN, 2002; AHS, 2020). Estes exames são importantes não somente frente à infecção, como também para acompanhar animais portadores de afecções com alterações semelhantes (CALDAS et al., 2016; LEMOS, 2018).

A radiografia torácica permite avaliar a silhueta cardíaca e o parênquima pulmonar de forma a identificar possíveis alterações relacionadas à infecção por *D. immitis*. (THRALL, 2013). Quando presentes, as alterações radiográficas mais frequentes nos cães infectados são: dilatação do tronco pulmonar; alargamento e tortuosidade da artéria lobar caudal; sugestão de aumento atrial direito e/ou ventricular direito; padrão pulmonar alveolar ou intersticial; densificação difusa ou padrão micronodular do parênquima pulmonar (THRALL et al., 1980; CALVERT; RAWLINGS, 2002; MCCALL et al., 2008; BENDAS, 2018; AHS, 2020) (Figura 8).



Figura 8: Imagem radiográfica do tórax de um cão infectado por *D. immitis* nos posicionamentos ventrodorsal (a) e latero lateral esquerda (b), evidenciando aumento atrioventricular direito (seta amarela), aumento do calibre da artéria lobar caudal (seta vermelha) e padrão alveolar e intersticial (setas laranjas). Fonte: Dr. A. Sharma and Ms. M. Savadelis In: Troccap, Disponível em: www.troccap.com, Acesso em: 27 de Fevereiro de 2021.

O ecodopplercardiograma permite identificar alterações morfológicas e funcionais do coração decorrentes da infecção (BOON, 2011). O aumento das câmaras cardíacas direitas, dilatação do tronco pulmonar, hipertrofia do ventrículo direito, retificação do septo interventricular, insuficiências valvares, hipertensão pulmonar e disfunção diastólica são os achados que podem ser identificados nos animais portadores da infecção por *D. immitis* (NISHIMURA; TAJIK, 1997; CALVERT et al., 1999; SERRANO-PARREÑO et al., 2017; ALBERIGI, 2019; ROMANO et al., 2021; LEMOS et al, 2020).

Quando presentes no tronco principal, nos ramos proximais das artérias pulmonar ou nas câmaras cardíacas direitas, é possível visualizar a presença dos parasitos (CALVERT et al., 1999; VENCO et al., 2003; AHS, 2020). Para caracterização da presença dos helmintos adultos, observa-se imagens semelhantes ao “sinal de igual” (=), medindo aproximadamente 1,3mm de diâmetro (VENCO et al., 2003) (Figura 9).



Figura 9: Imagem ecodopplercardiográfica, janela paraesternal longitudinal direita, evidenciando a presença *Dirofilaria immitis* ("sinal de igual") em átrio direito (setas) em cão naturalmente infectado. AE: átrio esquerdo. VE: Ventrículo esquerdo. AD: átrio direito. Fonte: ROMANO et al., 2021.

O ventrículo direito (VD) é avaliado com relação a função sistólica e diastólica. A função sistólica do VD pode ser avaliada pela variação funcional da área (FAC) do VD, pela excursão sistólica do plano anular tricuspídeo (TAPSE) e, pela mensuração da onda S' pelo Doppler tecidual da parede livre do VD (MORITA et al., 2019). Já a função diastólica é avaliada pelo fluxo transtricuspídeo e mensuração das ondas E' e A' e a relação entre elas (E'/A') por meio do estudo Doppler tecidual da parede livre do VD (JUCURT et al., 2010).

O ecodopplercardiograma não permite uma mensuração precisa da pressão pulmonar, para isso seria necessário o uso de um cateter venoso central. No entanto, o valor estimado da pressão arterial pulmonar pode ser determinado pela regurgitação da tricúspide (pressão sistólica) ou pela regurgitação pulmonar (pressão diastólica) (CHETBOUL, 2016).

Atualmente o reconhecimento da probabilidade de hipertensão arterial pulmonar em cães (HAP) é determinada a partir de parâmetros clínicos, radiográficos e ecocardiográficos do paciente (REINERO et al., 2020). Segundo o consenso do *American College of Veterinary Internal Medicine* as características ecodopplercardiográficas para considerar a presença de HAP são: hipertrofia ventricular direita; disfunção sistólica do ventrículo direito; achatamento do septo interventricular; relação artéria pulmonar-aorta (AP/AO) com valores maiores que 1.0; velocidade do pico da regurgitação pulmonar maior que 2,5m/s; índice de distensibilidade da artéria pulmonar (IDAP) abaixo de 30%; e dilatação atrial esquerda. Os parâmetros radiográficos como aumento em topografia de tronco pulmonar, infiltrados pulmonares e aumento atrioventricular direito corroboram a probabilidade da HAP, juntamente com os sinais

clínicos como síncope, dispnéia, ICC direita, mucosas pálidas e taquipnéia em repouso ou prolongada pós atividade física (REINERO et al., 2020).

A análise hematológica é uma importante avaliação complementar do estado geral do paciente. As alterações que podem ser observadas em cães com dirofilariose são anemia normocítica normocrômica não regenerativa, trombocitopenia, leucocitose neutrofílica, eosinofilia e basofilia (CALVERT; RAWLINGS, 1983; POLIZOPOULOU et al., 2000; ROCHA, 2010).

A anemia não regenerativa ocorre devido ao processo inflamatório, pela liberação de citocinas que alteram a produção de células granulocíticas na medula óssea com diminuição da produção de eritróides (REBAR, 2003; GRIMES; FRY, 2015). A trombocitopenia está comumente relacionada com a hiperatividade plaquetária, de origem multifatorial pela presença do parasito como: substâncias secretadas por eles; lesão endotelial mecânica decorrente da sua movimentação; e por resposta imune do hospedeiro (RAWLINGS, 1986; NIWETPATHOMWAT et al., 2007; TAKASHIMA et al., 2017). Com o aumento da reatividade plaquetária ocorre aumento dos níveis de tromboxano e redução da atividade antitrombina, que favorecem a formação de trombos e consequente consumo de plaquetas, sendo esse processo identificado como trombocitopenia no exame hematológico (CLEMMONS et al., 1986; RAWLINGS, 1986; BOUDREAUX et al., 1989; NIWETPATHOMWAT et al., 2007; AMES, ATKINS, 2020).

A leucocitose neutrofílica é decorrente de quadros infecciosos secundários, como por exemplo as broncopneumonias, comumente observadas em cães doentes (POLIZOPOULOU et al., 2000; ROCHA, 2010), ou pela inflamação causada pela presença do parasita, que favorece o deslocamento do *pool* marginal de leucócitos (neutrófilos) para circulação e sua migração para a região endotelial acometida (POLIZOPOULOU et al., 2000).

A eosinofilia e a basofilia são comumente associadas a infecções parasitárias, pois o sistema imunológico reconhece o antígeno (do parasita) e aumenta a produção dessas células na medula óssea (OVINGTON, BEHM, 1997; LILIEHOOK et al., 2000; MEEUSEN, BALIC, 2000). Apesar de serem frequentemente observadas, não são específicas de infecções por *D. immitis* e a ausência das mesmas não significa ausência de infecção (CALVERT et al., 1999).

2.5 Diagnóstico da Infecção

O exame clínico completo pode ser útil para a determinação da suspeita da infecção. O histórico e a anamnese devem conter informações específicas, como: local que o animal reside, se é levado a áreas nas quais o desafio seja alto, se recebe profilaxia regularmente, qual o fármaco utilizado e como é realizada esta profilaxia. Além disso, os tutores devem informar se os animais apresentam tosse, cansaço fácil, dispneia ou síncope (CALVERT; RAWLINGS, 2002; TILLEY; GOODWIN, 2002). Embora o exame clínico seja indispensável, não deve ser interpretado como procedimento diagnóstico (TILLEY; GOODWIN, 2002).

A confirmação da infecção deve ser realizada pela detecção de microfilárias ou de antígenos do parasito adulto em amostras sanguíneas (VENCO, 2007; AHS, 2020). A pesquisa de microfilárias pode ser feita por: (a) observação direta de alíquotas de sangue ou, (b) testes de concentração (AHS, 2020). A observação direta é simples, de baixo custo e rápida, porém de baixa sensibilidade e especificidade (BOWMAN; MANNELLA, 2011). Os testes de concentração apresentam alta sensibilidade quando o cão é microfilarêmico, necessitando apenas uma microfilária por ml de sangue para serem detectadas (BOWMAN; MANNELLA, 2011).

Dentre as técnicas de concentração as mais utilizadas são a de filtração, do microhematócrito e a de Knott modificado (NEWTON; WRIGHT, 1956; AHS, 2020). A técnica de filtração apresenta alto custo por necessitar de insumos específicos e não permite a determinação da espécie da microfilária (BOWMAN; MANNELLA, 2011; MAGNIS et al., 2013). O teste do microhematócrito permite apenas a detecção de microfilárias. O teste de Knott modificado por Newton e Wright (1956) é o teste de eleição para a pesquisa microfilárias nas infecções por *D. immitis* (REDINGTON et al., 1977), por permitir a análise da morfologia das microfilárias e a sua mensuração. Dessa forma a diferenciação das larvas é possível, por exemplo entre *D. immitis* (comprimento >290 µm; extremidade anterior afilada e gancho cefálico ausente) e *Acanthocheilonema reconditum* (comprimento >275 µm; extremidade anterior obtusa e gancho cefálico presente) (NEWTON; WRIGHT, 1956; RAWLINGS, 1986; TILLEY; GOODWIN, 2002; BOWMAN; MANNELLA, 2011; MAGNIS et al., 2013; AHS, 2018) (Figura 10).

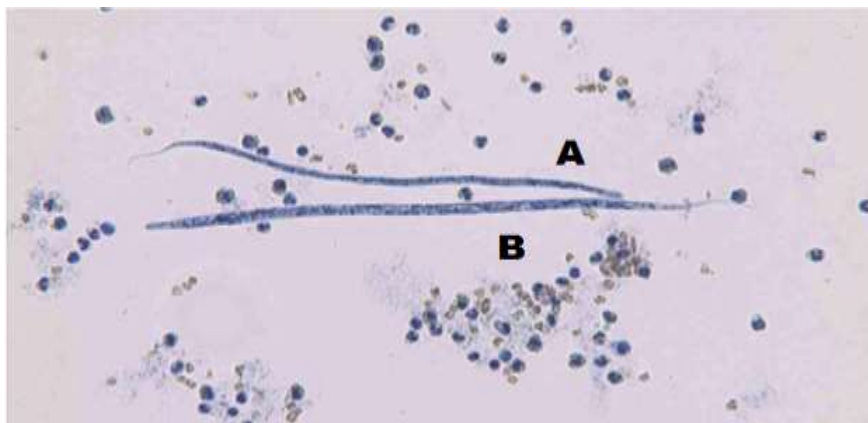


Figura 10: Técnica de Knott modificada demonstrando *Acanthocheilonema reconditum* (A) e *Dirofilaria immitis* (B). Fonte: Byron Blagburn In: AMERICAN HEARTWORM SOCIETY. Current Canine Guidelines for the Prevention, Diagnosis, and Management of Heartworm Infection in Dogs, 2020.

A pesquisa de antígenos pode ser feita pelo método de ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) ou de imunocromatografia (AHS, 2020). Os testes para detecção de antígenos são sensíveis e específicos, detectando proteínas secretadas pelas fêmeas adultas. O teste de ELISA é o de eleição para o diagnóstico em cães (ESDA, 2017; AHS, 2020).

Como os testes recomendados (teste de Knott e teste de ELISA) detectam parasitos em fases de desenvolvimento distintas, resultados discrepantes não são raros (VELASQUEZ et al., 2014; DRAKE et al., 2015). Deve-se sempre associar os dois, mantendo em mente que as microfilárias são as formas mais imaturas dos parasitos e que os antígenos são produto do trato reprodutor dos parasitos fêmea sexualmente ativos (AHS, 2020). Há cães que não apresentarão microfilaremia e há cães que produzirão anticorpos contra os antígenos dos parasitos. Essas exceções são decorrentes da resposta individual do animal à parasitose e podem dificultar a interpretação dos resultados dos testes (LITTLE et al., 2014; BENDAS et al., 2017; LITTLE et al., 2018; AHS, 2020).

2.6 Profilaxia

A prevenção da infecção por *D. immitis* consiste na administração de lactonas macrocíclicas. Há quatro moléculas de lactonas macrocíclicas registradas no Brasil: ivermectina, selamectina, milbemicina oxima e moxidectina (PRICHARD et al., 2012). Há várias formas farmacêuticas das diferentes moléculas. As apresentações de ivermectina e de milbemicina oxima são para administração por via oral. A única apresentação de selamectina

é para uso tópico. Já a moxidectina tem duas formas farmacêuticas, pode ser administrada por via tópica ou por via parenteral (subcutânea) (AHS, 2014).

A prevenção deve ser iniciada a partir de oito semanas de vida, com exceção da moxidectina injetável. Como o período pré-patente da infecção é longo, para garantir que o filhote não estava infectado antes de receber a primeira dose de preventivo, testes de pesquisa de microfilárias e de detecção de antígenos devem ser realizados seis e 12 meses após o início da medicação profilática. Ao se planejar quimioprofilaxia a ser iniciada em cães acima de sete meses de idade, o primeiro passo deve ser a realização dos testes diagnósticos. O ideal é que só se inicie a profilaxia daqueles animais não infectados. Ainda assim um animal infectado poderá apresentar resultados negativos nos testes em função do longo período pré-patente, portanto, a repetição dos testes em seis e em 12 meses deve ser mantida (ESDA, 2017; AHS, 2020). Além disso, a título de manter a farmacovigilância, recomenda-se que todos os cães que recebem profilaxia sejam testados a cada ano (AHS, 2020).

2.7 Tratamento

Os objetivos do tratamento consistem em melhorar a clínica do paciente e eliminar todos os estádios parasitários de *D. immitis*. Nesses objetivos deve-se evitar complicações devido ao protocolo terapêutico (LABARTHE et al., 2002; AHS, 2020).

O tratamento recomendado internacionalmente é a administração do fármaco adulticida, dicloridrato de melarsomina, por via intramuscular profunda na dose de 2,5mg/kg, em três aplicações. A primeira um mês antes da segunda e a terceira 24 horas após a segunda, sempre associado ao uso da doxiciclina e lactona macrocíclica (AHS, 2020).

O paciente deve ser submetido a avaliação clínica completa, com foco especial no sistema cardiopulmonar. Quando o paciente apresentar trombocitopenia ou sinais de comprometimento pulmonar ou cardíaco deve receber tratamento específico para estabilização (ESDA, 2017; AHS, 2020). Outro ponto importante é a restrição ao exercício durante o tratamento do paciente com o intuito de minimizar os riscos de tromboembolismo decorrentes da morte do parasito adulto (AHS, 2020).

Nos países onde o dicloridrato de melarsomina não é registrado o tratamento adulticida deve ser feito com protocolos alternativos (TROCCAP, 2021). Estudos com esses protocolos demonstraram segurança e, inclusive relataram melhora dos pacientes em alguns casos (BENDAS et al, 2018; ALBERIGI et al 2020).

Os tratamentos alternativos baseiam-se na administração de lactonas macrocíclicas de forma contínua, em associação com doxiciclina (ROSSI et al., 2010). As moléculas que apresentaram melhor resultado adulticida foram ivermectina (DZIMIANSKI et al., 2001; McCALL et al., 2001) e moxidectina (SAVADELIS et al., 2017; BENDAS et al., 2008; ALBERIGI, 2020).

A associação de lactonas macrocíclicas com antibióticos da classe das tetraciclina (doxiciclina ou minociclina) tem se mostrado indispensável para o sucesso dos tratamentos alternativos. Os antibióticos atuam sobre os endossimbiontes (*Wolbachia* spp) indispensáveis à homeostasia dos vermes (ROSSI et al., 2010) e, conseqüentemente os tornam mais susceptíveis à ação das lactonas macrocíclicas (LABARTHE; GUERRERO, 2005; BENDAS et al., 2008; ROSSI et al., 2010).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Considerações Éticas

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/IV/UFRRJ), sob o número nº 1870260819 (Anexo 1).

Apesar da vigência da autorização da CEUA ser de outubro de 2019 a dezembro de 2020, o estudo foi interrompido em fevereiro devido ao fechamento do Hospital Veterinário consequente à Pandemia de Covid-19.

3.2 Localização do Estudo

O estudo foi realizado no Hospital Veterinário de Pequenos Animais (HVPA) da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ) localizado na BR-465 km 7 – Seropédica – Rio de Janeiro. As avaliações foram realizadas nos Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias (SCDR), de Diagnóstico por Imagem e no laboratório de Patologia Clínica Veterinária (LABVET).

3.3. Amostragem

Os cães foram incluídos por conveniência quando apresentados ao SCDR, independentemente de suspeita clínica, de outubro de 2019 a fevereiro de 2020.

3.3.1 Critérios de inclusão e exclusão

Os tutores de cães com mais de 12 meses de idade, à exceção de raças braquicefálicas e animais com insuficiência cardíaca congestiva secundária a cardiopatias primárias, eram convidados a participar do estudo e, àqueles que concordavam, o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice 1) era apresentado e explicado. Os tutores que concordavam com a proposta assinavam o TCLE e os animais podiam ser incluídos no estudo.

Qualquer tutor poderia desistir de manter o seu cão no estudo a qualquer momento, sem prejuízo. Além disso, caso os exames propostos no projeto não fossem realizados o animal era excluído do estudo.

3.4 Delineamento Experimental

Uma vez autorizado formalmente pelos tutores os cães eram submetidos a: i) exame clínico composto por histórico e anamnese; ii) exame físico com ênfase no sistema cardiovascular; iii) coleta de sangue para hemograma, pesquisa de microfilárias e pesquisa de antígenos de *D. immitis*; iv) avaliação cardíaca e pulmonar por meio de radiografia torácica e ecodopplercardiograma. As informações obtidas eram registradas na ficha de captura de dados (Apêndice 2).

3.4.1 Exame clínico

O exame clínico era realizado por médicos veterinários clínicos do Serviço de Cardiologia e Doenças respiratórias (SCDR) capacitados para que as análises atendessem aos mesmos critérios.

Inicialmente o animal permanecia livre no ambiente do consultório para aclimação. Nesse tempo, dados de histórico e anamnese foram coletados. Perguntas objetivas sobre tosse, dispnéia, cianose, intolerância ao exercício e síncope eram formuladas aos tutores. O exame físico era realizado inicialmente com a ausculta cardíaca com auxílio de um estetoscópio começando pela região do choque de ponta do lado esquerdo, localizando o foco mitral, mais cranial e lateral à base cardíaca, acompanhado da ausculta do foco aórtico e pulmonar e, do lado direito do foco tricúspide. A ausculta pulmonar era realizada por meio da varredura completa do tórax posicionando o estetoscópio nos espaços intercostais (CAMACHO; MUCHA, 2014). Em seguida era realizada avaliação do reflexo de tosse pela discreta compressão digital na região da traqueia cervical (GOMPF, 2008). Na sequência era realizado o teste de piparote colocando uma das mãos sobre a parede abdominal e com a outra mão, na parede abdominal contralateral, realizava-se golpes sutis com o dedo médio ou indicador (FEITOSA, 2020).

3.4.2 Coleta de sangue

Após o exame físico, amostras de sangue eram colhidas por punção das veias cefálica, safena ou jugular, optando-se por aquela que o animal aceitasse melhor. Após antissepsia da região uma alíquota de sangue era coletada respeitando o volume máximo de 1% do volume total de sangue dos cães (70-100ml/kg), coletando-se um volume mínimo de 2,0ml de sangue (CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE, 1988). As amostras eram divididas em duas alíquotas, acondicionadas em tubos contendo o anticoagulante Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético (EDTA). As alíquotas eram imediatamente refrigeradas a aproximadamente 4°C e levadas ao Laboratório de Patologia Clínica Veterinária (LABVET) da UFRRJ para processamento.

Uma alíquota era imediatamente utilizada para realização de hemograma e a outra mantida a 4°C por, no máximo, cinco dias até a realização de pesquisa de microfilárias e de antígenos de *D. immitis*.

3.4.3 Exames laboratoriais

3.4.3.1 Hemograma

Primeiramente uma alíquota da amostra sanguínea era submetida a análise no contador hematológico automático de células¹, para a obtenção da contagem de hemácias, hematócrito, hemoglobina, volume globular (%), concentração de hemoglobina globular média (CHGM) (%), volume globular médio (VGM) (fL), leucócitos e plaquetas. Em seguida, eram confeccionados esfregaços sanguíneos para posterior coloração hematológica rápida (Panótico Rápido®) e observados em microscópio óptico², para avaliação da morfologia das células e leucometria específica, bem como para conferir os valores de plaquetas. Os valores de hematócrito eram também conferidos manualmente com auxílio de microcapilar. A avaliação da concentração de proteínas era realizada pela técnica de refratometria, com auxílio de refratômetro portátil³ (JAIN, 1993). Os valores considerados de referência para a espécie canina estão no quadro 2 a seguir:

1Poch 100iV/Roche, São Paulo, Brasil

2 Nikon E200mv led®, São Paulo, Brasil

3 OPTIKA HR – 130 ATC 0 – 32% BRIX, Ponteranica, Itália

Quadro 2: Valores hematológicos de referência para a espécie canina

Parâmetros	Valores de referência
Hemácias	5,5 - 8,5 x10 ⁵ céls/µl
Hemoglobina	12 - 18 g/dL
Hematócrito	37 - 55 %
VGM	60 - 77 fL
CHCM	32 - 36 g/dL
Metarrubríctos	0 %
Leucócitos	6000 - 17000 céls/µl
Mielócitos	0 céls/µl
Metamielócitos	0 céls/µl
Bastões	0 - 300 céls/µl
Segmentados	3000 - 11400 céls/µl
Linfócitos	1000 - 4800 céls/µl
Monócitos	150 - 1350 céls/µl
Eosinófilos	100 - 750 céls/µl
Basófilos	Raros céls/µl
Plaquetas	2x10 ⁵ -5 x10 ⁵ céls/µl
Proteínas	6 - 7,5 g/dL

VGM -Volume globular médio

CHCM - Concentração de hemoglobina globular média

Fonte: RIZZI et al. Normal hematology of the dogs. in: WEIS, D.J.; WARDROP, K.J. **Shalms veterinary hematology**. 6.ed. USA: Willey-Blackwell, 2010. p. 799-810.

3.4.3.2 Diagnóstico da infecção por *D. immitis*

A pesquisa de microfilárias era realizada pela técnica de Knott modificada (NEWTON; WRIGHT, 1956), sem coloração, sempre pela mesma médica veterinária. A avaliação era realizada gota por gota até que todo o sedimento fosse examinado ou que microfilárias fossem encontradas e identificadas (Figura 11).



Figura 11: Imagem de microfilárias de *Dirofilaria immitis*
Fonte: Arquivo Pessoal.

A pesquisa de antígenos era realizada pela técnica de ELISA (*Enzyme Linked immunoSorbent Assay*) utilizando-se testes comerciais de fluxo lateral (SNAP 4DX PLUS® IDEXX®) conforme recomendações do fabricante. (Figura 12).

Foram considerados portadores da infecção aqueles que apresentavam microfilaremia ou antigenemia.

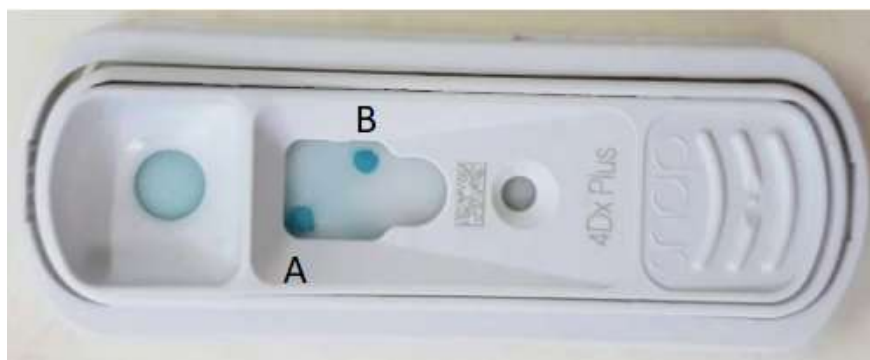


Figura 12: Imagem do teste para detecção de antígenos de *Dirofilaria immitis* pelo teste SNAP 4DX PLUS® IDEXX®. (A) Controle positivo; (B) Marcação em azul demonstrando a presença de antígeno de *Dirofilaria immitis* na amostra avaliada. Fonte: Serviço de Patologia Clínica Veterinária da UFRRJ.

3.4.3.3 Exame radiográfico

As imagens foram obtidas utilizando-se emissor de raios X Intercal® modelo Cr125-300mA com captura de imagem pela reveladora digital Carestream CR Vita Flex⁴.

As radiografias torácicas foram realizadas nas posições latero-lateral direita, latero-lateral esquerda e ventrodorsal para avaliação dos pulmões e da silhueta cardíaca.

Para obtenção das imagens latero-laterais posicionava-se os animais em decúbito lateral com os membros torácicos estendidos e tracionados cranialmente. Para a obtenção das imagens ventrodorsal os cães eram posicionados em decúbito dorsal em calha de espuma, alinhando-se o corpo e estendendo os membros torácicos cranialmente. Os membros pélvicos eram contidos para evitar movimentos durante o exame.

A avaliação das imagens radiográficas era realizada de forma cega, sempre pelo mesmo médico veterinário para determinar o padrão pulmonar e analisar o tronco pulmonar, a artéria lobar caudal e a silhueta cardíaca.

⁴ Cr1251 ®– 300MA; Carestream®, Rochester, Estados Unidos

A artéria tronco pulmonar era avaliada na imagem obtida pelo posicionamento ventrodorsal, analisando-se a presença de aumento em sua topografia, caracterizando a dilatação da artéria pulmonar (Figura 13). Nessa mesma projeção era avaliado o calibre das artérias pulmonares lobares caudais comparando o diâmetro dos vasos com o diâmetro da porção média da nona costela. Quando o calibre da artéria pulmonar lobar era maior que o diâmetro da nona costela na área de interseção entre elas considerou-se aumento da artéria lobar caudal (THRALL, 2013) (Figura 14).

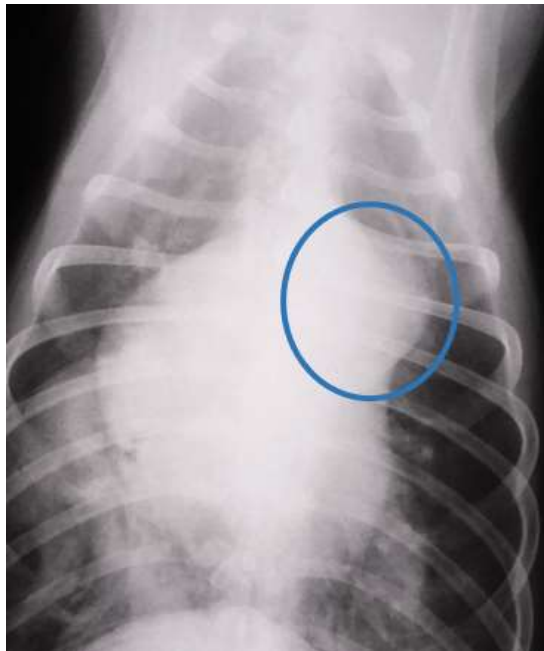


Figura 13: Imagem radiográfica evidenciando aumento da densidade em topografia de tronco pulmonar (círculo azul) de cão naturalmente infectado por *Dirofilaria immitis*. Fonte: Serviço de Diagnóstico por Imagem da UFRRJ.

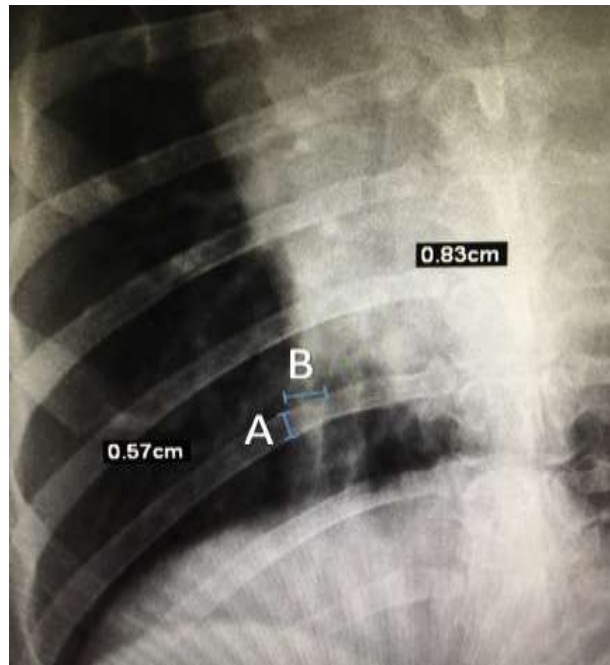


Figura 14: Imagem radiográfica evidenciando aumento do calibre da artéria pulmonar lobar caudal (B) em relação a Nona costela (A) em cão naturalmente infectado por *Dirofilaria immitis*.. Fonte: Instituto de Especialidades em Medicina Veterinária, Rio de Janeiro, Brasil.

O padrão pulmonar foi caracterizado de acordo com o padrão predominantemente observado nas radiografias. Considerou-se: i) padrão alveolar - presença de broncograma aéreo, de sinal lobar ou de aumento da radiopacidade pulmonar (Figuras 15 e 16); ii) padrão bronquial - presença de aumento de radiopacidade peribronquial (Figura 17); iii) padrão intersticial - caracterizado pelo aumento da radiopacidade do interstício pulmonar (Figura 18); iv) padrão micronodular - presença de aumento da radiopacidade do interstício pulmonar e visualização de formações nodulares (Figura 19); v) densificação difusa do parênquima - presença de associação de padrão bronquial com intersticial de forma proporcionalmente dominantes (THRALL, 2013) (Figura 20).



Figura 15: Imagem radiográfica evidenciando aumento da radiopacidade pulmonar, broncograma aéreo (seta branca) e sinal lobar (setas pretas). Fonte: THRALL, 2013.

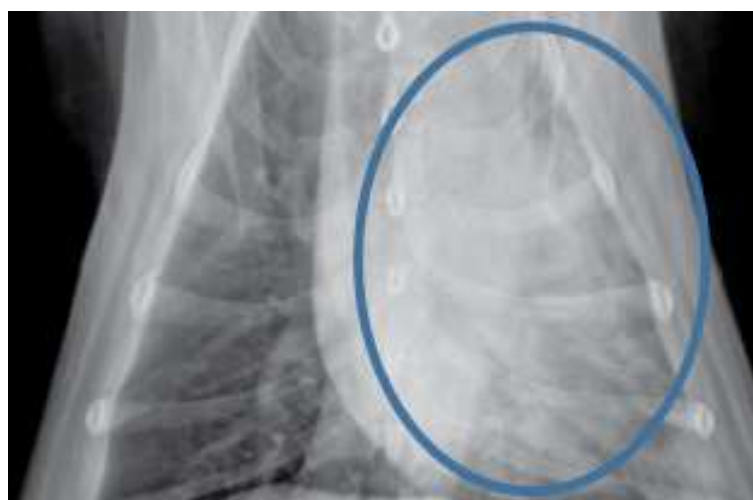


Figura 16: Imagem radiográfica evidenciando aumento da radiopacidade pulmonar (círculo azul). Fonte: THRALL, 2013.

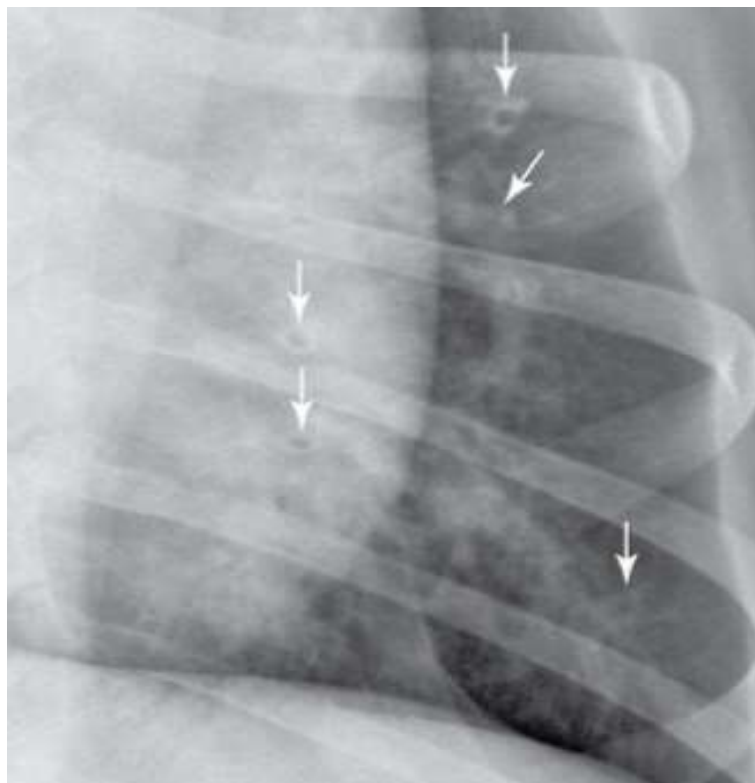


Figura 17: Imagem radiográfica de cão no posicionamento ventrodorsal evidenciando aumento da radiopacidade peribronquial (setas). Fonte: THRALL, 2013.



Figura 18: Imagem radiográfica de cão no posicionamento ventrodorsal evidenciando aumento da radiopacidade do interstício pulmonar. Fonte: THRALL, 2013.

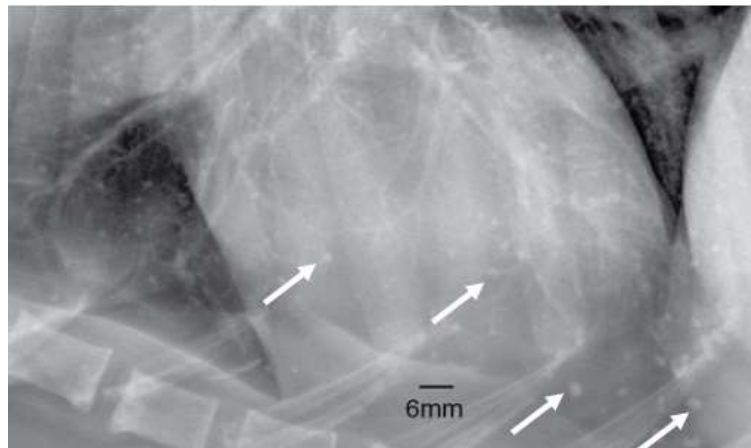


Figura 19: Imagem radiográfica evidenciando aumento da radiopacidade do interstício pulmonar com visualização de formações nodulares (setas brancas). Fonte: THRALL, 2013.

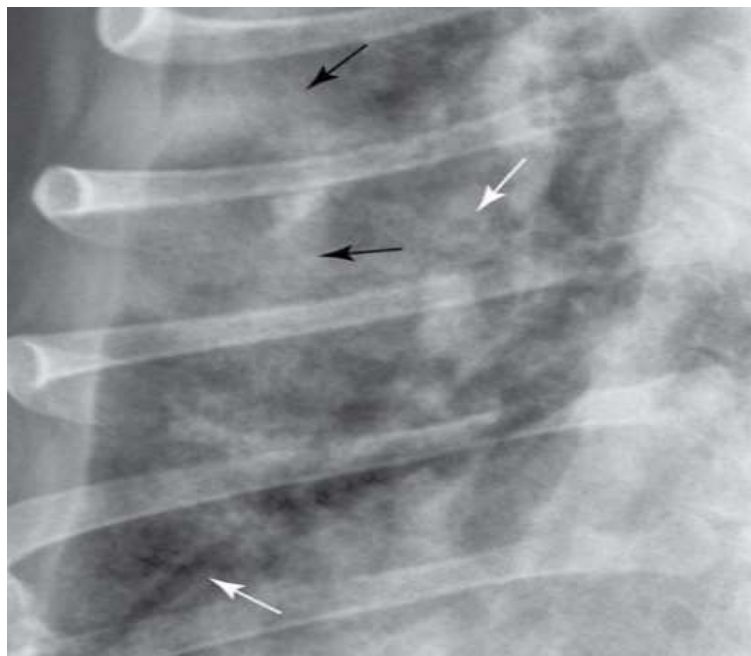


Figura 20: Imagem radiográfica evidenciando aumento da radiopacidade do interstício pulmonar (setas pretas), caracterizando o padrão intersticial; e aumento da radiopacidade peribronquial (setas brancas), caracterizando o padrão bronquial. Posição ventrodorsal. Fonte: THRALL, 2013.

A silhueta cardíaca era avaliada utilizando-se a projeção ventrodorsal. A presença de aumento da densidade em topografia atrioventricular direita pela observação da imagem de “D” invertido era considerada aumento (THRALL, 2013) (Figura 21).



Figura 21: Imagem radiográfica evidenciando aumento atrioventricular direito (círculo azul). Posição ventrodorsal. Fonte: Serviço de Diagnóstico por Imagem da UFRRJ.

3.4.3.4 Ecodopplercardiograma

O exame ecodopplercardiográfico era realizado de forma cega, sempre pelo mesmo operador, utilizando o aparelho Esaote MyLab Gamma⁵ com transdutores setoriais multifrequenciais (1 a 4 MHz ou 4 a 11 MHz). O animal era contido em decúbito lateral direito. Posicionava-se o transdutor com gel condutor de feixes de ultrassom na região torácica para obtenção das imagens sonográficas pré-estabelecidas conforme as normas preconizadas pela *Echocardiography Committee of the Specialty of cardiology – American College of Veterinary Internal Medicine* (THOMAS et al., 1993) com modificações sugeridas por Madrón (2016) quanto ao posicionamento, janelas, cortes, determinação de medidas e valores.

A função ventricular esquerda foi avaliada no modo bidimensional com relação a morfologia e função das valvas atrioventricular esquerda (mitral) e valva aórtica; avaliação da função diastólica pelo Doppler e da função sistólica pelo modo unidimensional (Modo-M) pelo método de Teicholz com o intuito de identificar alterações que pudessem repercutir na função do ventrículo direito. Foram avaliadas também a morfologia e função das valvas atrioventricular direita (tricúspide) e pulmonar.

⁵EsaoteMylabgamma, Genova, Itália

A função sistólica do ventrículo direito (VD) foi avaliada pela variação fracional da área (FAC) do VD; excursão sistólica do plano anular tricuspídeo (TAPSE) e mensuração da velocidade da onda S. Foram considerados portadores de disfunção sistólica aqueles animais que apresentassem duas das três variáveis com valores diminuídos.

A variação fracional da área do VD foi avaliada no corte apical quatro câmaras, mensurando a área diastólica máxima do VD (ADVD) e a área sistólica máxima do VD (ASVD), obtidas no modo bidimensional (Modo-B), fazendo-se o tracejado da região endocárdica do VD desde do anel valvar ao longo da parede livre até o ápice e, depois de volta ao anel valvar ao longo do septo interventricular. O valor era obtido pela fórmula $FAC = [(ADVD - ASVD) / ADVD] \times 100$ (Figura 22).

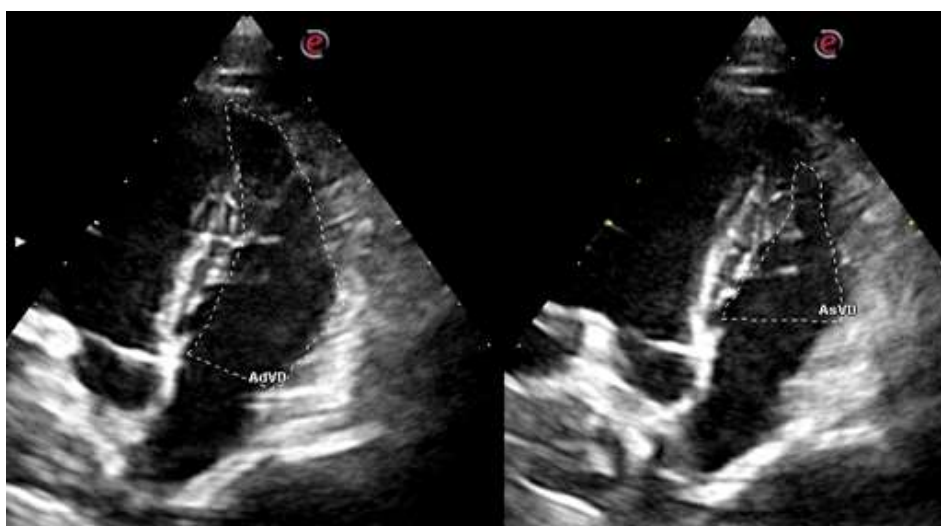


Figura 22: Imagem ecocardiográfica de canino, corte paraesternal apical quatro câmaras, avaliando a função sistólica do ventrículo direito, pela FAC, no momento da diástole e no momento da sístole. AdVD: área diastólica máxima do ventrículo direito. AsVD: área sistólica máxima do ventrículo direito. Fonte: Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias da UFRRJ.

A excursão sistólica do plano anular tricuspídeo também foi avaliada no corte apical quatro câmaras, posicionando o cursor do modo-M sobre o anel tricúspide e mensurando a distância de seu movimento durante a sístole em centímetros. Foram considerados como normais valores acima de 1cm para cães de até 10kg; 1,5cm para cães entre 10 e 20kg e 1,5 a 2cm para cães entre 20 e 40kg (MADRON, 2016) (Figura 23).

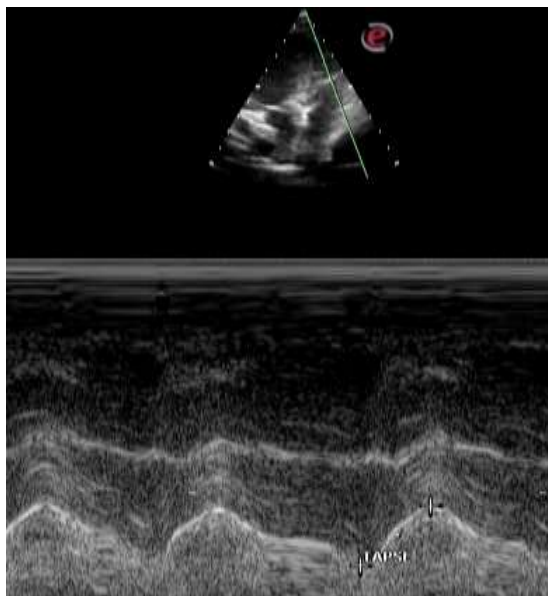


Figura 23: Imagem ecocardiográfica de canino, corte paraesternal apical quatro câmaras, avaliando a função sistólica do VD, pelo TAPSE. Fonte: Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias da UFRRJ.

Ainda no mesmo corte apical quatro câmaras foi realizado o Doppler tecidual (TDI) do VD. A amostra do Doppler pulsado foi posicionada sobre o músculo ventricular direito na parede livre próximo ao aparato valvar tricuspídeo, mensurando assim a onda S, considerando valores abaixo de 0,12m/s diminuídos (CHETBOUL et al., 2005) (Figura 24).

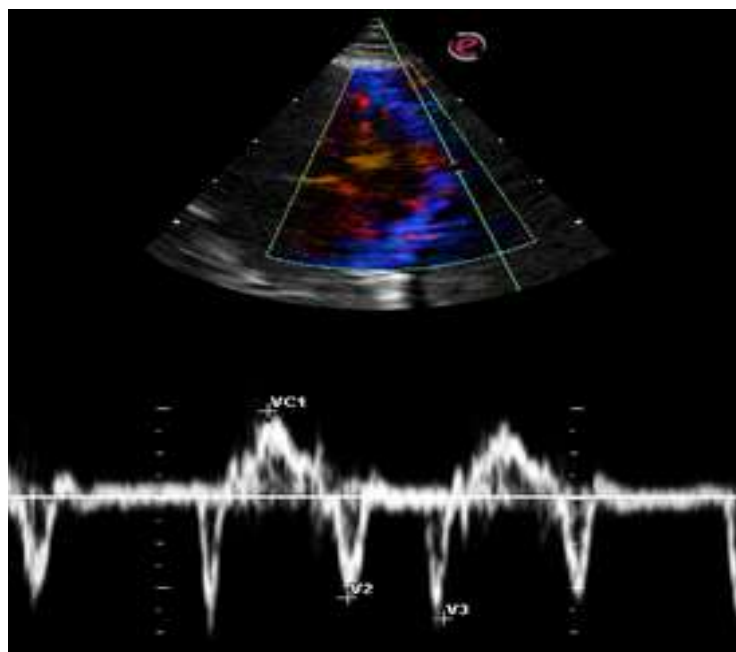


Figura 24: Estudo Doppler tecidual do VD de paciente canino, mensurando a onda S' (vc1). Fonte: Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias da UFRRJ.

A função diastólica do VD foi avaliada pelo fluxo transtricupideo e a relação entre as ondas E e A, bem como pelo Doppler tecidual do ventrículo direito, avaliando-se as ondas E' e A' (Figura 25). Foram considerados portadores de disfunção diastólica aqueles animais que apresentassem pelo menos uma das variáveis com valores diminuídos. Considerou-se normal a relação das ondas E/A no fluxo transtricuspideo e das ondas E'/A' quando os valores estavam acima de 1,12 (MADRON, 2016).

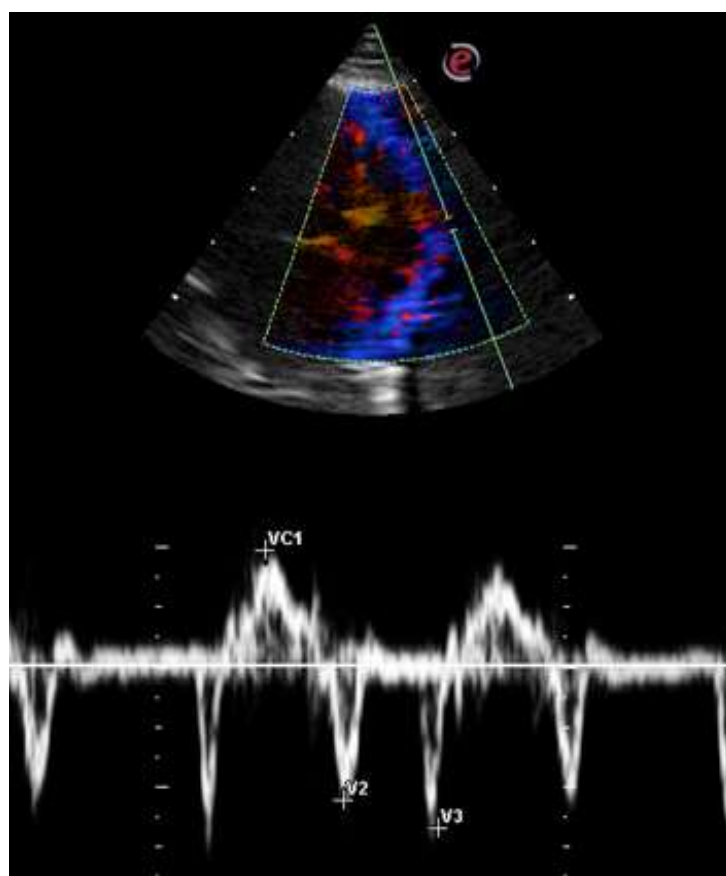


Figura 25: Estudo Doppler tecidual do VD de paciente canino, mensurando as ondas E' (v2) e A' (v3). Fonte: Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias da UFRJ.

Com relação a avaliação da pressão pulmonar foram realizados o índice de distensibilidade da artéria pulmonar (IDAP) e o gradiente de pressão do fluxo turbulento da regurgitação da valva tricúspide quando presente.

A avaliação do IDAP foi realizada corte paraesternal longitudinal modificado pelo modo-M, mensurando o diâmetro do ramo direito da artéria pulmonar na sístole (DAPS) e na diástole (DAPD), sendo os resultados aplicados na equação: $IDAP = ([DAPS - DAPD] / DAPS) \times$

100. Valores de IDAP abaixo de 35% foram considerados indicativos de hipertensão pulmonar (VENCO et. al., 2014) (Figura 26).

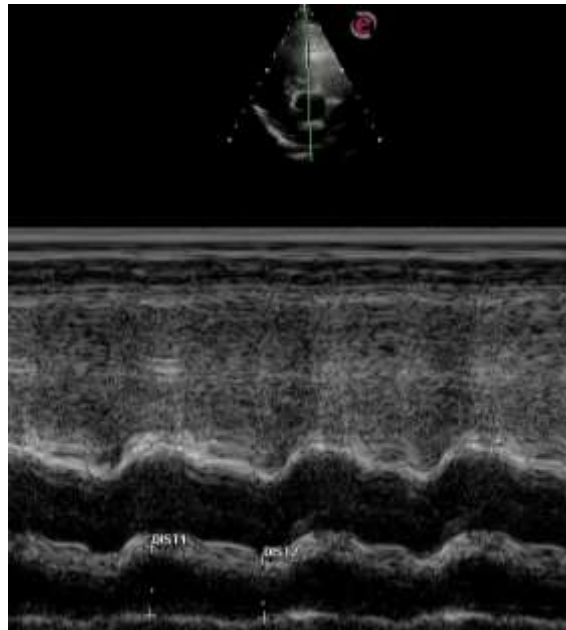


Figura 26: Imagem ecocardiográfica de canino, corte transverso da base, avaliando o IDAP, pela mensuração do diâmetro da AP na sístole (DIST 1) e na diástole (DIST 2). Fonte: Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias da UFRRJ.

Para a estimativa da velocidade máxima do fluxo sistólico arterial pulmonar foi realizado o Doppler contínuo e colorido para identificar a presença de insuficiência da valva tricúspide. Quando a insuficiência era presente, realizava-se a determinação da velocidade máxima do jato regurgitante por meio do Doppler contínuo, estimando-se a pressão pela equação de Bernoulli modificada: $\text{gradiente de pressão} = 4 \times (\text{pico de velocidade do fluxo regurgitante})^2$ (Figura 27).

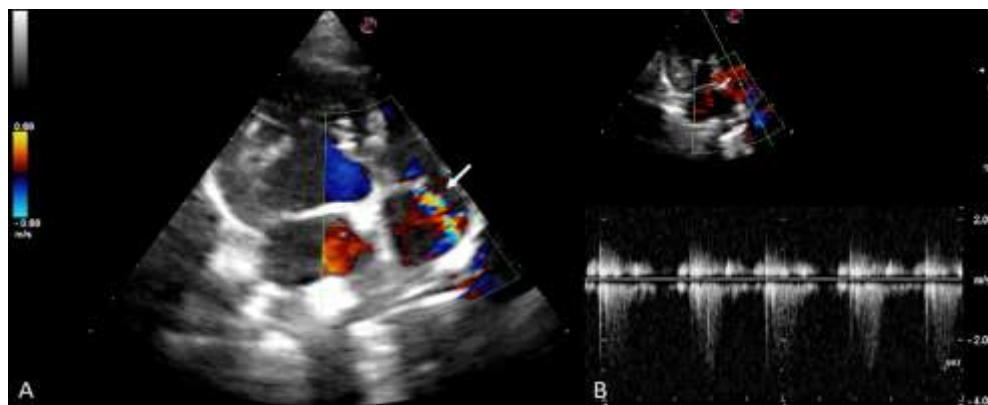


Figura 27: Imagem ecocardiográfica de cão, corte apical quatro câmaras evidenciando regurgitação da valva tricúspide (seta branca - imagem A) e mensuração do gradiente de pressão do fluxo turbulento da regurgitação da valva tricúspide (B). Fonte: Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias da UFRRJ.

A probabilidade de hipertensão arterial pulmonar foi estimada por uma associação de fatores como: hipertrofia ventricular direita, disfunção sistólica do ventrículo direito, achatamento do septo interventricular, relação artéria pulmonar aorta (AP/AO) com valores maior que 1.0, velocidade do pico do fluxo pulmonar maior que 2,5m/s, IDAP abaixo de 30%, dilatação atrial direita (REINERO et al., 2020).

A relação AP/AO foi realizada no modo bidimensional, corte paraesternal direito no eixo curto, medindo-se o diâmetro da artéria pulmonar e aorta no momento em que as valvas pulmonar e aórtica encontravam-se fechadas, valores acima de 1,0 foram indicativos de dilatação da artéria pulmonar (CHETBOUL, 2016) (Figura 28). Neste mesmo corte ecocardiográfico foi mensurada a velocidade do pico do fluxo pulmonar, posicionando-se o Doppler pulsado imediatamente após a valva pulmonar no interior da artéria pulmonar. Foram considerados alterados valores acima de 1,5 m/s (CHETBOUL, 2016) (Figura 29).

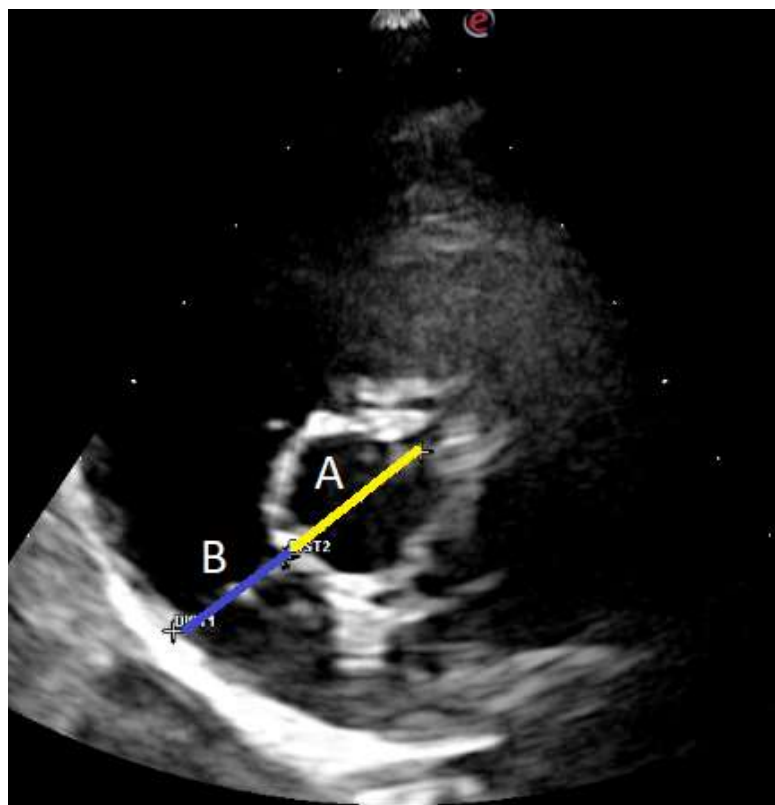


Figura 28: Imagem ecocardiográfica de cão, no modo bidimensional, corte paraesternal direito no eixo curto, medindo-se o diâmetro da artéria pulmonar (B) e aorta (A). Fonte: Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias da UFRRJ.

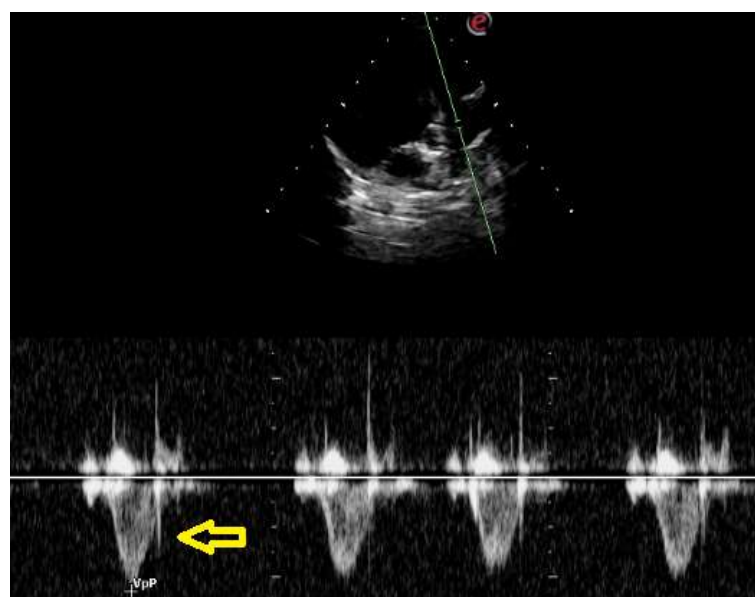


Figura 29: Imagem ecocardiográfica de cão, no modo bidimensional, corte paraesternal direito no eixo curto, mensurando pelo Doppler pulsado, o pico de velocidade do fluxo pulmonar (vpP-seta). Fonte: Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias da UFRRJ.

Avaliou-se a presença de filarídeos nas câmaras cardíacas direitas no corte apical quatro câmaras e/ou nas artéria pulmonar pelo corte paraesternal longitudinal modificado visualizando tanto o ramo direito como o esquerdo do tronco pulmonar (Figura 30). Quando identificados, o diâmetro dos parasitas foi mensurado segundo Venco et al (2017), sendo considerado compatível com a presença do parasito quando o valor era de aproximadamente 1,3mm.

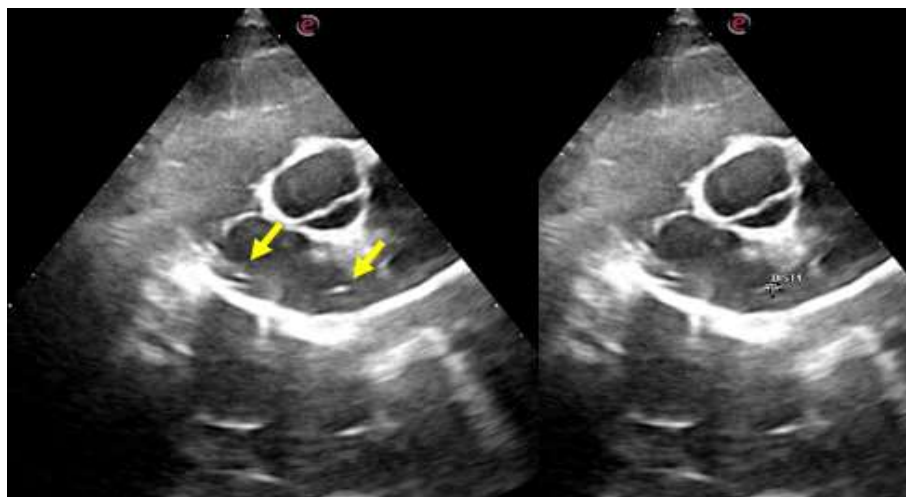


Figura 30: Imagem ecocardiográfica de cão em modo bidimensional, corte longitudinal, evidenciando presença de estruturas lineares hiperecóticas (setas amarelas) medindo 1,3 mm de diâmetro (Dist 1). Imagem compatível com a presença do parasito *D. immitis*. Fonte: Serviços de Cardiologia e Doenças Respiratórias da UFRRJ.

3.5 Análise dos dados

Os dados coletados foram tabulados em planilhas do programa Microsoft Excel[®] 2013. Para os dados demográficos e clínicos os animais foram agrupados de acordo com a idade (1-6 anos - adultos jovens; >6-10 anos - adultos; > 10 anos sênior). As avaliações obtidas pela ausculta pulmonar foram agrupadas em normal ou alterada (ruídos aumentados, contínuos ou descontínuos e suas classificações).

Para as variáveis quantitativas foram calculadas as medidas de tendência central (média, mediana, moda) e de variação (desvio padrão, variância, coeficiente de variação) e para as qualitativas foram estimadas as frequências absolutas e relativas.

As comparações entre as médias das variáveis paramétricas foram realizadas pelos teste *t de Student* e para as não paramétricas pelo teste de Mann Whitney e a comparação entre as frequências foram realizadas pelos testes de Qui-quadrado ou Exato de Fisher dependendo do valor do n.

Para a comparação das variâncias entre e dentro das categorias de cada parâmetro foi aplicada a Análise de Variância (ANOVA).

Todas as análises foram realizadas utilizando-se o programa SPSS 25.0 (IBM) e foi considerado 5% de probabilidade.

4 RESULTADOS

4.1 Animais

Foram avaliados 30 cães, dos quais quatro foram excluídos por não terem realizado todos os exames necessários ao longo do estudo, logo, 26 animais foram incluídos. Dentre eles, 15 (57,7%) foram considerados livres de infecção, e 11 (42,3%) infectados, sendo que a maioria dos infectados era proveniente do município de Seropédica (63,6% - 7/11). Dentre os animais infectados, cinco (45,4%) apresentaram microfilaremia e antigenemia, quatro (36,4%) apresentaram apenas antigenemia e dois (18,2%) apenas microfilaremia.

A maioria examinada apresentava idade superior a seis anos (80,8% - 21/26) com a média de idade de $9,8 \pm 3,9$ anos (Apêndice 3). Apesar de não haver confirmação estatística, a frequência da infecção foi maior entre os cães com menos de seis anos de idade (60%), enquanto aqueles mais velhos apresentavam taxa de infecção menor (38,1%) ($\chi^2=0,794$ $p=0,6196$ GL= 1) (Tabela 1).

A maioria dos cães examinados apresentava peso superior a 10kg (76,9% - 20/26) com média de $16,9 \pm 9,5$ kg (Apêndice 3). As taxas de infecção dos animais com menos de 10kg (33,3% - 2/6) foi semelhante à taxa dos mais pesados (45% - 9/20) ($\chi^2=0,257$ $p=0,6739$ GL= 1) (Tabela 1).

A maioria dos animais eram fêmeas 57,7% (15/26) e dessas 40% (6/15) tiveram a infecção confirmada. Dentre os 11 machos (42,3%) 45,5% (5/11) eram portadores da infecção ($\chi^2=0,02$ $p=1$ GL= 1) (Tabela 1).

A maioria dos cães examinados eram sem raça definida (SRD) (73,1% - 19/26) quando comparados aos animais com fenótipo de raça definida (FRD) (26,9% - 7/26) ($\chi^2=11,077$; $p=0,0023$ GL=1). Embora sem diferença estatística, a frequência da infecção entre os SRD foi maior (52,6% - 10/19) do que daqueles com fenótipo de raça definida (14,3 % - 1/7) ($\chi^2=3,082$ $p=0,1783$ GL= 1). Dentre os animais com fenótipo de raça definida, foram examinados quatro Poodles, dois Cocker Spaniel Inglês e um Retriever do Labrador (Tabela 1).

Com relação a pelagem, na cor dos pelos não houve diferença estatística ($\chi^2=0,46$ $p=0,4258649$ GL=1) assim como quando avaliado o comprimento dos pelos ($\chi^2=1,99$ $p=0,1092475$ GL=1). Dos cães estudados 46,1% (12/26) apresentavam predominância de pelos escuros e 54% (14/26) claros; 61,5% (16/26) pelagem curta e 38,5% (10/26) pelagem longa.

Dois dos 26 animais apresentavam subpelo (8%), sendo um de pelo curto e outro de pelo longo (Tabela 1).

Tabela 1: Frequências absolutas e relativas de cães por raça, sexo, idade, peso e pelagem, de acordo com a detecção de antígenos* ou de microfilárias** em amostras sanguíneas.

			HTW +				HTW -
		N	Mff +/Ag+ (%)	Mff -/Ag+ (%)	Mff+/Ag- (%)	Total (%)	(%)
Raça	SRD	19	4 (21)	4 (21)	2 (10,52)	10 (52,6)	9 (47,4)
	FRD	7	1 -	0 -	0 -	1 (14,3)	6 (85,7)
Sexo	Fêmea	15	1 (6,7)	3 (20)	2 (13,3)	6 (40)	9 (60)
	Macho	11	4 (36,4)	1 (9,1)	0 -	5 (45,5)	6 (54,5)
Idade (anos)	1-6	5	1 (20)	0 -	2 (40)	3 (60)	2 (40)
	>6-10	11	0 -	3 (27,3)	0 -	3 (27,3)	8 (72,7)
	>10	10	4 (40)	1 (10)	0 -	5 (50)	5 (50)
Peso (kg)	Até 10	6	0 -	2 (33,3)	0 -	2 (33,3)	4 (66,7)
	>10-20	12	1 (8,3)	2 (16,7)	1 (8,3)	4 (33,3)	8 (66,7)
	>20	8	4 (50)	0 -	1 (12,5)	5 (62,5)	3 (37,5)
COR Pelos	Escura	12	4 (33,3)	1 (8,3)	1 (8,3)	6 (50)	6 (50)
	Clara	14	1 (7,1)	3 (21,4)	1 (7,1)	5 (35,7)	9 (64,3)
Comprimento Pelos	Curta	16	5 (31,3)	3 (18,7)	1 (6,3)	9 (56,3)	7 (43,7)
	Longa	10	0 -	1 (10)	1 (10)	2 (20)	8 (80)

Não houve diferença significativa pelo de Teste de Qui-Quadrado ou Exato de Fisher a 5% de significância em qualquer das avaliações

N – número de animais

HTW - *Dirofilaria immitis* Mff – Microfilária Ag- Antígeno SRD – sem raça definida FRD – fenótipo raça definida

*SNAP 4DX PLUS® IDEXX®)

** Knott Modificado (NEWTON; WRIGHT, 1956)

4.2 Exame Clínico

Nenhuma das informações relatadas pelos tutores mostrou diferença significativa entre animais infectados e não infectados por *D. immitis*.

Segundo a informação dos tutores, a maioria dos cães incluídos apresentava tosse (65,4% - 17/26). Ao comparar com os resultados obtidos pelo exame físico, desses 17 apenas um não teve o sinal clínico confirmado pela avaliação do reflexo de tosse. Por outro lado, dentre os nove cães cujos tutores não referiram tosse, cinco apresentavam reflexo de tosse positivo ao exame físico. Nota-se que dos cães sem relato de tosse 66,7% eram portadores da infecção (6/9) sendo que três (3/6) apresentavam reflexo de tosse positivo (Tabela 2).

Síncope não foi relatada por nenhum dos tutores. Dispnéia e cianose foram relatos raros. As duas referências à dispnéia referiram-se a animais livres da infecção e de idade avançada (sênior). Cianose foi observada pelos tutores de dois cães seniores. Um deles era portador da infecção e o outro não.

A intolerância ao exercício foi relatada para sete cães. Três deles infectados sem predominância de faixa etária e para quatro cães não infectados (dois adultos e dois seniores) (Tabela 2).

Nenhuma das alterações observadas pelos veterinários ao exame físico evidenciou diferença significativa entre os grupos de animais avaliados. Ascite não foi identificada em nenhum dos animais do estudo.

Sopro em foco tricúspide foi observado em sete cães, quatro deles infectados (um adulto e três seniores) e três livres da infecção (dois adultos e um sênior). Já a ausculta do foco pulmonar revelou que apenas um cão adulto jovem infectado apresentou sopro (Tabela 2).

Dentre os exames realizados na avaliação física, a ausculta dos pulmões revelou que a maioria dos animais apresentava alteração (81% - 21/26) embora sem associação com a infecção. Dentre eles, nove (42,9%) estavam infectados e 12 (57,1%) não (Tabela 2).

Tabela 2: Frequências absolutas e relativas de cães por avaliação clínica, infecção por *Dirofilaria immitis* e faixa etária

Avaliação clínica	HTW +						HTW -			
			Idade em anos				Idade em anos			
			1-6	>6-10	>10	Total (%)	1-6	>6-10	>10	Total (%)
Tosse*	17	Sim	1	1	3	5 (29,4)	2	5	5	12 (70,6)
	9	Não	2	2	2	6 (66,7)	0	3	0	3 (33,3)
Reflexo de tosse	21	Sim	2	1	4	7 (33,3)	2	7	5	14 (66,7)
	5	Não	1	2	1	4 (80)	0	1	0	1 (20)
Intolerância ao exercício*	7	Sim	1	1	1	3 (42,9)	0	2	2	4 (57,1)
	19	Não	2	2	4	8 (42,1)	2	6	3	11 (57,9)
Sopro em foco tricúspide	7	Sim	0	1	3	4 (57,1)	0	2	1	3 (42,9)
	19	Não	3	1	3	7 (36,8)	2	6	4	12 (63,2)
Sopro em foco pulmonar	1	Sim	1	0	0	1 (100)	0	0	0	0 -
	25	Não	2	3	5	10 (40)	2	7	6	15 (60)
Ausculta pulmonar	21	Sim	3	1	5	9 (42,9)	2	7	3	12 (57,1)
	5	Não	0	2	0	2 (40)	0	1	2	3 (60)

Não houve diferença significativa pelo de Teste de Qui-Quadrado ou Exato de Fisher a 5% em qualquer das avaliações clínicas

N – número de animais

HTW - *Dirofilaria immitis*

*Segundo informação do tutor

4.3 Exames Complementares

4.3.1 Hemograma e doenças transmitidas por carrapatos

Os valores hematológicos dos cães infectados e dos não infectados foram semelhantes. Apesar dos cães infectados apresentarem médias dos valores de hemoglobina ($t= 2,1843$; $p= 0,0389$), hematócrito ($t= 1,959$; $p= 0,0309$) e VGM ($U= 38$; $p= 0,0209$) significativamente

menores, os dois grupos apresentavam valores médios dentro da faixa de referência para a espécie (Tabela 3). A plaquetometria tanto dos cães infectados quanto dos livres da infecção foi semelhante, também apresentando valores médios dentro da faixa de referência para a espécie (Tabela 3), todavia apesar de não ter diferença estatística, a porcentagem de cães apresentando trombocitopenia foi maior entre os infectados (36,4% - 4/11) do que entre os livres da infecção (6,7% - 1/15) ($\chi^2=1,94$; $p=0,1279264$; GL=1).

Nenhum dos animais examinados apresentava anticorpos anti- *Borrelia burgdorferi*. Anticorpos Anti- *Anaplasma* spp. não foram detectados entre os cães portadores de infecção por *D. immitis*, enquanto anticorpos anti- *Ehrlichia* spp. foram encontrados em cinco. Entre os animais livres da infecção por *D. immitis*, um apresentava anticorpos Anti- *Anaplasma* spp; um Anti- *Ehrlichia* spp. e dois apresentavam anticorpos Anti- *Anaplasma* spp. e Anti- *Ehrlichia* spp. Vale ressaltar que dentre os quatro cães infectados que apresentavam trombocitopenia dois apresentavam também anticorpos Anti- *Ehrlichia* spp.. O animal não infectado que apresentava trombocitopenia apresentava também anticorpos Anti- *Ehrlichia* spp. e Anti- *Anaplasma* spp.

Tabela 3: Médias e Desvios padrões dos parâmetros hematológicos dos cães segundo infecção por *D. immitis*

Parâmetro	Infectado n=11		Não infectado n=15		p-valor
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	
Hemácias(x106Céls/ μ L)	5,7	0,97	6,4	1,09	0,1518
Hemoglobina (g/dL)	12,3 ^a	2,20	14,7 ^b	2,50	0,0389**
Hematócrito (%)	37,4 ^c	6,21	44,3 ^d	7,76	0,0309**
VCM (fL)	62,3 ^e	10,61	68,9 ^f	2,54	0,0209**
CHCM (g/dL)	36,4	11,67	33,1	1,19	0,8153
Leucócitos (Céls/ μ L)	12,1	3,24	12,5	5,85	0,8646
Bastões (Céls/ μ L)	82,2	96,52	31,2	68,90	-
Segmentados (Céls/ μ L)	8671,3	3309,8	8541	2942,4	0,8512
Linfócitos (Céls/ μ L)	1896	1859	1616	826	0,6404
Monócitos (Céls/ μ L)	448	403,7	657,3	593,11	0,9379
Eosinófilos (Céls/ μ L)	856	586,7	1024,4	1470,6	0,9379
Plaquetas (Céls/ μ L)	279636	142793	365467	142866	0,1431
Proteínas (g/dL)	8,1	1,4	8,0	1,1	0,7966

Todos os valores estavam dentro da faixa de referência para a espécie

Letras diferentes nas colunas indicam diferença estatística.

**significativo a 5% de probabilidade pelos teste de T ou Mann Whitney

n – número de animais

VGM -Volume globular médio

CHCM - Concentração de hemoglobina globular média

4.3.2 Avaliação cardíaca

Aumento atrioventricular direito foi observado em 38,5% (10/26) dos animais estudados. A frequência de animais infectados entre os que apresentavam a alteração foi menor (40% - 4/10) (dois adultos e dois seniores) que entre os não infectados (60%- 6/10) (um adulto jovem, dois adultos e três seniores) (Tabela 4).

A insuficiência tricúspide foi observada em oito cães, três deles infectados (um adulto e dois seniores) e cinco livres da infecção (um adulto jovem, dois adultos e dois seniores). Dentre os infectados, dois eram portadores de doença valvar degenerativa crônica de tricúspide. Já a insuficiência pulmonar foi observada em 12 animais, sendo seis infectados (três adultos jovens, dois adultos e um sênior) e seis não infectados (três adultos e três seniores) (Tabela 4).

A disfunção sistólica do ventrículo direito (VD) foi identificada em nove cães, sendo quatro infectados (um adulto jovem, um adulto e dois seniores) e os outros cinco não infectados (um adulto jovem, três adultos e um sênior). O número de animais com disfunção diastólica do VD, embora sem significância, foi maior em animais não infectados (66,7% - 10/15) do que em animais infectados (54,5% - 6/11) ($\chi^2 = 0,05$ $p = 0,6890564$). Todos os animais que apresentavam disfunção sistólica também apresentavam disfunção diastólica (Apêndice 3). Dentre os 16 animais que apresentavam disfunção diastólica, um jovem adulto, um adulto e quatro seniores estavam infectados. Já os livres da infecção eram um adulto jovem, quatro adultos e cinco seniores.

Tabela 4: Frequências absolutas e relativas de cães por avaliação cardíaca realizada por radiografia e por ecodopplercardiograma de acordo com a detecção da infecção por *Dirofilaria immitis*

Avaliação cardíaca			HTW +				HTW -			
			Idade em anos				Idade em anos			
	N		1-6	>6-10	>10	Total (%)	1-6	>6-10	>10	Total (%)
Radiografia										
Aumento atrioventricular direito	10	Sim	0	2	2	4 (40)	1	2	3	6 (60)
	16	Não	3	1	3	7 (43,7)	1	6	2	9 (56,3)
Ecodopplercardiograma										
Insuficiência tricúspide	8	Sim	0	1	2	3 (37,5)	1	2	2	5 (62,5)
	18	Não	3	2	3	8 (44,4)	1	6	3	10 (55,6)
Insuficiência pulmonar	12	Sim	3	2	1	6 (50)	0	3	3	6 (50)
	14	Não	0	1	4	5 (35,7)	2	5	2	9 (64,3)
Onda S alterada*	7	Sim	1	1	1	3 (42,9)	1	3	0	4 (57,1)
	19	Não	1	3	4	8 (42,1)	1	5	5	11 (57,9)
TAPSE diminuído*	12	Sim	1	0	2	3 (25)	2	4	3	9 (75)
	14	Não	2	3	3	8 (57,1)	0	4	2	6 (42,9)
FAC aumentada*	14	Sim	2	2	4	8 (57,1)	1	3	2	6 (42,9)
	12	Não	1	1	1	3 (25)	1	5	3	9 (75)
E/A reduzida**	5	Sim	0	0	1	1 (20)	1	2	1	4 (80)
	21	Não	3	3	4	10 (47,6)	1	6	4	11 (52,4)
E'/A' reduzida**	18	Sim	0	2	4	6 (33,3)	1	6	5	12 (66,7)
	8	Não	3	1	1	5 (62,5)	1	/2	0	3 (37,5)

Não houve diferença significativa pelo de Teste de Qui-Quadrado ou Exato de Fisher a 5% em qualquer das avaliações cardíacas

N – número de animais HTW - *Dirofilaria immitis*

TAPSE - excursão sistólica do plano anular tricuspídeo FAC - variação fracional da área E/A – relação onda E e onda A E'/A' - relação onda E' e onda A'

*Parâmetros utilizados para avaliação da função sistólica do ventrículo direito

**Parâmetros utilizados para avaliação da função diastólica do ventrículo direito

4.3.3 Avaliação pulmonar

A dilatação do tronco pulmonar e da artéria lobar caudal foi detectada tanto nos animais infectados quanto naqueles livres da infecção, sem diferença estatística. Não houve diferença entre animais infectados ou não infectados tanto na avaliação do tronco pulmonar ($\bar{x}=5,024$; $p=0,9855$) quanto na avaliação da artéria lobar caudal ($x^2=6,359$; $p=0,9566$) (Tabela 5).

A maioria dos animais apresentava alteração do padrão pulmonar (88,5% - 23/26), fossem eles infectados ou não (Tabela 5). Nenhum dos animais apresentava padrão alveolar ou micronodular. O padrão bronquial foi identificado em 45,5 % (5/11) dos cães infectados (um adulto jovem e quatro seniores) e em 46,7% (7/15) dos não infectados (quatro adultos e três seniores); o padrão intersticial foi identificado em 18,2% (2/11) dos infectados (um adulto e um sênior) e em 6,7% (1/15) dos livres da infecção (adulto). O padrão bronquial e o padrão intersticial foram identificados concomitantemente em 27,3% (3/11) dos infectados (dois adultos jovens e um adulto) e 33,3% (5/15) dos não infectados (dois adultos jovens, dois adultos e um sênior) (Apêndice 3).

Nenhum animal, infectado ou não, apresentava um conjunto de alterações que denotasse a probabilidade de hipertensão pulmonar. Tanto assim que dos 11 animais infectados nenhum apresentava hipertrofia concêntrica do ventrículo direito (VD), relação AP/AO $>1,0$ ou Vpp $>2,5$ m/s. Quatro cães não apresentavam qualquer indício de hipertensão pulmonar (dois adultos jovens e dois seniores). Cinco apresentavam apenas uma avaliação alterada: disfunção sistólica (um adulto jovem, um adulto e um sênior), dilatação do tronco pulmonar (um adulto) ou IDAP reduzido (um sênior). Dois apresentavam dilatação do tronco pulmonar associada à disfunção sistólica (um adulto e um sênior). Dentre os 15 livres da infecção, nenhum apresentava hipertrofia concêntrica do VD, relação AP/AO $>1,0$ ou Vpp $>2,5$ m/s. Seis cães não apresentavam qualquer indício de hipertensão pulmonar (um adulto jovem, um adulto e quatro seniores). Oito apresentavam apenas uma avaliação; quatro com dilatação do tronco pulmonar (três adultos e um sênior) e quatro com disfunção sistólica (um adulto jovem, dois adultos e um sênior). Um apresentava disfunção sistólica associada a IDAP reduzido (adulto) (Apêndice 3).

Quando os animais infectados e os não infectados foram comparados, a diferença estatística significativa só foi observada na presença de filarídeos na artéria pulmonar ($U=45$; $p=0,0258$). Entretanto, apesar do achado ser diagnóstico, apenas 45,5% dos animais infectados apresentavam-se com helmintos visíveis ao ecodopplercardiograma (Tabela 5).

Tabela 5: Frequências absolutas e relativas de cães por avaliação pulmonar realizada por radiografia e ecodopplercardiograma de acordo com a detecção da infecção por *Dirofilaria immitis*

Avaliação pulmonar			HTW +				HTW -			
			Idade em anos				Idade em anos			
N			1-6	>6-10	>10	Total (%)	1-6	>6-10	>10	Total (%)
Radiografia										
Dilatação tronco pulmonar	7	Sim	0	2	1	3 (42,9)	0	3	1	4 (57,1)
	19	Não	3	1	4	8 (42)	2	5	4	11 (58)
Dilatação da artéria lobar caudal	5	Sim	0	2	0	2 (40)	0	2	1	3 (60)
	21	Não	3	1	5	9 (42,9)	2	6	4	12 (57,1)
Padrão pulmonar alterado	23	Sim	3	5	2	10 (43,5)	2	7	4	13 (56,5)
	3	Não	0	1	0	1 (33,3)	0	1	1	2 (66,7)
Ecodoppercardiograma										
Presença de filarídeos	5	Sim	1	2	2	5 ^a (100)	0	0	0	0 ^b -
	21	Não	2	1	3	6 (28,6)	2	8	5	15 (71,4)
AP/AO aumentada	21	Sim	3	2	5	10 (47,7)	2	6	3	11 (52,3)
	5	Não	0	0	1	1 (20)	0	2	2	4 (80)
IDAP reduzido	2	Sim	0	0	1	1 (50)	0	1	0	1 (50)
	24	Não	3	3	4	10 (41,7)	2	7	5	14 (58,3)

Letras diferentes nas colunas indicam diferença estatística pelo de Teste de Qui-Quadrado ou Exato de Fisher a 5%

N – número de animais

HTW - *Dirofilaria immitis*

AP/AO – Relação artéria pulmonar (AP) e aorta (AO)

IDAP- Índice de distensibilidade da artéria pulmonar

5 DISCUSSÃO

A infecção por *D. immitis* detectada (42,3%) foi mais alta do que o esperado para a região metropolitana do Rio de Janeiro (7%) (MENDES-DE-ALMEIDA et al., 2021), sugerindo que a amostra estudada apresentava viés devido à característica do Serviço de Cardiologia e Doenças Respiratórias (SCDR). Como a maioria dos cães infectados apresenta microfilaremia detectável em exames de rotina (AHS, 2020), é possível que os médicos veterinários da região indiquem que esses animais sejam levados para o atendimento especializado em doenças cardiorrespiratórias da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ). Além disso, a localização do SCDR no município de Seropédica, RJ pode ter influenciado uma vez que a maioria dos cães infectados viviam na localidade (63,6% - 7/11) que sofreu alterações ambientais e, conseqüentemente, infecções por *D. immitis* passaram a ser identificadas (FILHO et al., 2021).

A média das idades dos animais incluídos no estudo não surpreendeu (9,8 anos), uma vez que a maioria dos animais encaminhados para atendimento no SCDR apresenta idade superior a sete anos (LEMOS, 2018). Uma pesquisa que examinou cães de origens distintas desde que apresentassem idade superior a 12 meses incluiu 79,2% dos animais com menos de seis anos (LABARTHE et al, 2014) enquanto neste estudo 80,8% dos animais apresentavam idade superior a seis anos. Dois fatos contribuem para essa característica: i) todos os animais com mais de sete anos de idade, candidatos a procedimento cirúrgico no Hospital Veterinário de Pequenos Animais (HVP) da UFRRJ são encaminhados para avaliação de risco cirúrgico no SCDR e; ii) afecções cardiorrespiratórias são mais frequentes em cães com mais de seis anos de idade em decorrência da sua natureza degenerativa e crônica (TILLEY; GOODWIN, 2002).

Apesar de semelhantes, a taxa de infecção foi maior em cães mais pesados (>10kg), o que pode ter sido em função da forma de vida deles. Um estudo que analisou características de cães naturalmente infectados por *D. immitis*, sugeriu que os maiores tendem a ser mantidos livres em quintais (LABARTHE et al., 2014), o que facilita a hematofagia dos vetores, em sua maioria exofílicos (CÔNSOLI, LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, 1994), aumentando o risco de infecção.

A maior frequência absoluta de fêmeas no estudo, pode ter sido decorrente do elevado número de cadelas com neoplasia mamária que são encaminhadas ao SCDR para avaliação pré-operatória (CALDAS et al., 2016). Esse valor não traduz maior número de infecções dentro da população de cães infectados estudada (6 fêmeas e 5 machos), sugerindo que não haja

predisposição por sexo, embora a literatura sugira que possa haver (ALMEIDA et al., 2001; SONG et al., 2003; YILDIRIM et al., 2007; ROCHA, 2010; VEZZANI et al., 2011; LU et al., 2017).

O elevado número de cães SRD (73,1%) pode ser reflexo dos tutores atendidos no SCDR, uma vez que o HVPA se localiza em área onde as condições sócio-econômico-culturais da população (SILVA et al., 2020) dificultam a aquisição de cães de raça definida. A diferença nas frequências da infecção em animais com fenótipo de raça definida (FRD) ou SRD sugere que: os FRD recebam maior atenção e cuidados por parte dos tutores ou; os SRD permaneçam mais tempo expostos aos vetores em áreas externas aos domicílios do que os FRD.

A taxa de infecção de animais de pelagem clara (35,7%) comparada aos de pelagem escura (50%) parece confirmar que os vetores percebam diferenças entre cores como já sugerido (MARANHÃO, 1976), sendo menos atraídos por cores claras, como já relatado (LABARTHE et al., 2014). Além disso, a taxa de infecção de cães com pelagem curta (56,3%) quando comparada à daqueles com pelagem longa (20%) sugere que os mosquitos tenham acesso mais fácil à pele dos animais de pelagem curta (FORATINI, 1987a; FORATINI, 1987b; FORATINI, 1995). Outro fator a ser considerado é a dificuldade imposta às larvas infectantes durante a migração desde a pele circunvizinha à picada até o orifício deixado pela proboscida do mosquito.

A tosse relatada pelos tutores e confirmada pelo reflexo da tosse sugere que quando os tutores percebem que seus cães tosse, eles de fato apresentam o sinal. Por outro lado, quando os tutores não perceberam, muitos animais apresentavam reflexo de tosse positivo. Portanto, a importância da tosse como sinal clínico de um processo patológico deve ser valorizada pelos veterinários e pesquisada minuciosamente pelo reflexo de tosse (FEITOSA, 2020).

Apesar da tosse ser um achado frequente em cães portadores da infecção (MCHAFFIE, 2012; SIMÓN et al., 2012), houve maior frequência de relatos referentes aos cães não infectados (70,6%) do que aos infectados (29,4%). Essa inversão não surpreende, uma vez que os cães não infectados com tosse, em sua maioria, tinham idade superior a seis anos, faixa etária mais frequentemente acometida por doenças cardiorrespiratórias que cursam com tosse (TILLEY; GOODWIN, 2002; MONTOYA-ALONSO, 2007). A idade superior a seis anos dos cães parasitados que apresentavam tosse permite ainda inferir que a infecção deles tenha ocorrido há mais tempo, favorecendo a manifestação clínica das lesões (MCHAFFIE, 2012; SIMÓN et al., 2012).

A ausência de relatos de síncope e de detecção de ascite, bem como os poucos relatos de dispneia e de cianose demonstram que a maioria dos animais avaliados não apresentavam doenças cardiorrespiratórias em estágios avançados, uma vez que esses sinais caracterizam-nas (CALVERT, 2008; GOMPF, 2008). Embora a anamnese deva ser considerada fundamental em uma consulta, os relatos advindos de tutores leigos devem ser cuidadosamente relativizados para não levarem a falsas interpretações (CALVERT; RAWLINGS, 2002; TILLEY; GOODWIN, 2002). Tanto assim que a maioria dos tutores não parece ter observado ou valorizado a intolerância ao exercício, uma vez que esses relatos foram apresentados dispersamente pelas faixas etárias e pela presença da infecção.

Apesar do exame físico ter demonstrado que as alterações detectáveis à ausculta cardíaca não puderam ser associadas à infecção, é importante destacar que apenas um cão infectado adulto jovem apresentava sopro no foco pulmonar. Essa observação sugere que esse sinal de difícil detecção pela ausculta e que exige colaboração do paciente para ser detectado (WARE, 2011), deva ser investigado minuciosamente durante o exame de cães infectados, independentemente da idade.

Do mesmo modo, apesar da maioria dos cães apresentarem alterações à ausculta pulmonar (81%), elas não puderam ser associadas à infecção ou à idade dos cães. Entretanto, a presença de alteração na avaliação dos pulmões ao exame físico pode ser observada indiretamente pela maioria dos tutores na forma de tosse (65,4%). Apesar da frequência das alterações pulmonares detectadas à ausculta ser superior, é possível inferir que a tosse além de ocorrer nesses casos (BOWMAN; ATKINS, 2009), é perceptível e identificada pelos tutores. No entanto, vale ressaltar que outras causas de tosse de origem extra-pulmonar podem ocorrer (MAGGIORE, 2014; KEENE et al., 2019) e influenciar no diagnóstico, logo a presença de tosse deve ser considerada com cautela uma vez que nem sempre animais que apresentem tosse terão alteração pulmonar (GOMPF, 2008).

A semelhança dos parâmetros cardiológicos entre os grupos de animais infectados ou livres da infecção detectada no presente estudo não surpreendeu. Animais idosos tendem a apresentar alterações cardíacas semelhantes àsquelas de cães infectados por *D. immitis* independente de idade (GOMPF, 2008).

A avaliação da silhueta cardíaca no exame radiográfico não demonstrou a ocorrência de *Cor pulmonale* na maioria dos animais estudados independentemente da infecção. O aumento atrioventricular direito foi observado em menos animais infectados (36,4%) do que esperado, uma vez que é achado frequente nesses cães (CALVERT; RAWLINGS, 2002; MCCALL et al.,

2008, BENDAS, 2018; ALBERIGI, 2019, AHS, 2020). Sendo assim, é possível sugerir que a maioria dos animais não apresentavam aumento da pressão arterial pulmonar capaz de gerar remodelamento cardíaco (JESSUP et al., 1987; MACNEE, 1994; RENDER et al., 1995; SIMÓN et al., 2012). No entanto, o aumento das câmaras cardíacas direitas identificado na radiografia foi frequente nos cães não infectados (40%), sugerindo que outras causas de *Cor pulmonale* ocorrem em cães.

Apesar da hipertensão arterial pulmonar (HAP) não ter sido caracterizada nos animais do estudo, sinais ecodopplercardiográficos sugerem que pode ter ocorrido aumento da pressão arterial pulmonar. Esses sinais incluem a presença de insuficiência tricúspide ou pulmonar, independentemente de faixa etária ou de infecção, que pode ser resultado de aumento da pressão pulmonar que sobrepuje a resistência do aparato valvar (JESSUP et al., 1987; SIMÓN et al., 2012).

Apesar da insuficiência tricúspide ser frequente em cães com HAP secundária a doença valvar adquirida (REINERO et al., 2020), devido aos critérios de inclusão deste estudo nenhum cão apresentava doença valvar degenerativa crônica de mitral (DVDCM) com repercussão hemodinâmica que justificasse a insuficiência tricúspide. No entanto, dois cães seniores infectados apresentavam sinais de doença valvar degenerativa crônica de tricúspide que justificavam sua insuficiência. Apesar de poder estar relacionada ao aumento da pressão arterial pulmonar, a insuficiência pulmonar é um achado frequente em cães saudáveis (BOON, 2011), sendo assim, esse achado deve ser interpretado de forma holística com outros achados ecodopplercardiográficos, radiográficos e clínicos para maiores conclusões.

A disfunção diastólica foi mais frequentemente observada pelo Doppler tecidual do que pelo fluxo transtricuspideo, confirmando que o Doppler tecidual é o mais sensível para detectar essa disfunção, como descrito anteriormente (ALBERIGI, 2019; LEMOS et al., 2020). É interessante ressaltar que a maioria dos animais avaliados que apresentavam essa disfunção tinham mais de seis anos de idade, o que pode ter sido influenciado pelo fato de cães idosos terem o miocárdio ventricular com menor capacidade de relaxamento (BOON 2011). Entretanto, como a disfunção diastólica foi relatada como frequente em cães naturalmente infectados por *D. immitis* independentemente da idade (ALBERIGI et al., 2020), era provável que o número de cães apresentando a disfunção fosse maior entre os animais infectados, independentemente da idade.

Quando a disfunção miocárdica do VD dos cães infectados incluídos é avaliada *in totum* observa-se que todos os cães que apresentavam disfunção sistólica apresentavam a diastólica

também, o que permite inferir que na infecção por *D. immitis* a disfunção diastólica ocorre antes da sistólica como em outras afecções (NISHIMURA, TAJIK, 1997).

A semelhança dos resultados quantitativos e qualitativos obtidos nas radiografias dos animais infectados e dos não infectados não surpreendeu, uma vez que a maioria dos encaminhados ao SCDR são portadores de sinais cardiorrespiratórios ou de idade avançada. Apesar do elevado percentual de alterações bronquiais e intersticiais nos cães infectados incluídos no estudo poder ser explicado pela inflamação decorrente das lesões ocasionadas pela presença dos vermes e seus endossimbiontes (RAWLINGS, 1986; BANDI et al., 2001; LABARTHE et al., 2009; SIMÓN et al., 2012), pode estar superestimado devido ao viés etário da população estudada.

Como não foram observadas complicações pulmonares tais como: i) granulomas subsequentes ao processo inflamatório decorrente de ação dos eosinófilos com proliferação da musculatura lisa bronquial e células alveolares (micronodular) (RAWLINGS, 1986) ou, ii) extravasamento de líquido para o interstício pulmonar ou para os alvéolos (alveolar); é possível sugerir que os cães não apresentavam sinais de doença grave (AHS, 2020). Ao avaliar os não infectados essas alterações também não foram observadas, o que pode ser interpretado como sinal de que os animais encaminhados ao SCDR não apresentavam metástases, infecções, inflamação ou acúmulo de líquidos ou secreções.

Como nenhum animal infectado apresentava conjunto de alterações que sugerisse a presença de HAP ao exame ecodopplercardiográfico, é possível inferir que os danos endoteliais característicos da doença (CALVERT et al., 1998; LABARTHE et al., 2009; SIMÓN et al., 2012) não foram suficientes para comprometer a vasculatura pulmonar. Já nos cães livres da infecção, a ausência dessas alterações associada à ausência de complicações no parênquima pulmonar representadas pelos padrões micronodular e alveolar (THRALL, 2013), sugerem que esses animais não eram acometidos por doenças pulmonares graves.

Como a presença de filarídeos foi observada em poucos cães (45,5%) e todos eles tiveram confirmação por teste parasitológico, é possível inferir que é um exame específico embora demande acuidade do operador para que artefatos não se confundam com os parasitos (VENCO et al., 2003). Cabe ressaltar que, embora específico, o ecodopplercardiograma foi pouco sensível para o diagnóstico da infecção, mostrando que mesmo quando o operador for experiente, o diagnóstico deve incluir pesquisa de microfilárias e de antígenos (VENCO et al., 2003, VENCO, 2007).

É interessante observar que não houve diferença significativa nos valores hematológicos médios entre os cães infectados e os não infectados. Todos os valores médios dos parâmetros do eritrograma e do leucograma estavam dentro dos valores de referência para a espécie, como já observado (CALVERT; RAWLINGS, 1983), embora a maioria dos relatos registrem que animais microfilarêmicos possam apresentar anemia moderada, linfocitose ou trombocitopenia (NIWETPATHOMWAT et al., 2007).

Nenhum animal incluído no estudo apresentava pneumonia segundo os exames clínico e radiográfico realizados, o que explica os resultados da leucometria dentro dos valores de referência apresentado pelos animais portadores da infecção, como esperado (CALVERT; RAWLINGS, 1983).

Apesar de a eosinofilia ter sido relacionada com a infecção por *D. immitis* (LILIEHOOK et al., 2000), não foi observada nos cães infectados do estudo. É possível que os registros antigos incluíssem cães portadores de parasitoses concomitantes que elevem os eosinófilos, como por exemplo helmintoses gastrintestinais (OVINGTON, BEHM, 1997; MEEUSEN, BALIC, 2000). Por outro lado, há relatos recentes mostrando que a infecção por *D. immitis* cursa sem eosinofilia (CALVERT et al., 1999; BENDAS, 2018; ALBERIGI, 2019).

A contagem de plaquetas semelhante entre cães infectados e livres da infecção contradisse o esperado (CALVERT; RAWLINGS, 1983; POLIZOPOULOU et al., 2000; TAKASHIMA et al., 2017), isso porque durante a infecção, o endotélio dos vasos sofre ação mecânica pelo movimento do parasito que o “chicoteia” incessantemente e causa sua descamação (SIMÓN et al., 2012). É esperado que essa lesão vascular atraia plaquetas, aumente a produção de tromboxano e diminua a de antitrombina, favorecendo a formação de trombos e consequentemente o consumo de plaquetas, o que reduz sua presença no sangue de forma a permitir que a sensibilidade analítica do hemograma detecte (NIWETPATHOMWAT et al., 2007; AMES, ATKINS, 2020). É provável que não tenha sido possível detectar estatisticamente que a trombocitopenia é mais frequente entre os animais infectados uma vez que o cão não infectado por *D. immitis* e apresentando trombocitopenia apresentava também anticorpos contra *Ehrlichia* spp e *Anaplasma* spp, infecções que podem cursar com trombocitopenia.

Apesar do tamanho da amostra ter sido uma limitação do estudo, é interessante observar que tanto animais infectados como aqueles livres da infecção por *D. immitis*, não apresentavam doença grave. Os exames realizados nesta amostra indicaram que, ao comparar os portadores da infecção aos livres da infecção, o exame clínico, hemograma, e os exames de imagem não

foram sensíveis para determinar a etiologia parasitária da afecção. Essa etiologia demandou pesquisa de microfilárias e de antígenos específicos.

O fato de os animais não apresentarem doença grave merece destaque, uma vez que pode sugerir maior zelo pela saúde de seus animais por parte dos tutores, como tem sido observado nos últimos anos, independentemente de sua classe socioeconômica-cultural. Os tutores buscaram atendimento no HVPA enquanto os animais apresentavam sinais brandos de doença e aceitaram o atendimento especializado no SDCR quando recomendado, fosse para esgotar a investigação ou para reduzir o risco cirúrgico por avaliações pré operatórias.

É oportuno comentar que esse comportamento dos tutores facilitou a identificação precoce da infecção pelo helminto. O diagnóstico precoce foi possível em muitos dos animais infectados encaminhados ao SCDR que não apresentavam suspeita da infecção, promovendo assim melhor prognóstico ao tratamento da doença (AHS, 2020) e permitindo a oportunidade de uma convivência mais saudável entre tutores e animais.

6 CONCLUSÕES

Apesar do número de animais incluídos no estudo ter sido baixo, possivelmente interferindo nos resultados estatísticos, ao avaliar o conjunto de resultados dos animais portadores ou livres da infecção por *D. immitis* é possível sugerir, embora sem confirmação estatística, que a maioria dos animais apresentava:

- tosse referida pelos tutores e confirmadas pelos médicos veterinários;
- intolerância ao exercício;
- sopro em foco tricúspide;
- ausculta pulmonar alterada;
- o parênquima pulmonar com padrões intersticial ou bronquial;
- insuficiência das valvas tricúspide e pulmonar;
- contagem de plaquetas dentro dos valores de referência para a espécie.

O estudo permitiu mostrar que não houve diferença significativa nos valores hematológicos médios entre os cães infectados e os não infectados, e que a média de todos os parâmetros avaliados estava dentro dos valores de referência para a espécie.

Mesmo com as limitações impostas pelo tamanho da amostra, foi possível observar que a presença de helmintos no exame ecodopplercardiográfico apresentou baixa sensibilidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALBERIGI, B. S. R. **Avaliação clínica e eficácia da associação de moxidectina de liberação lenta e doxicilina no tratamento de cães naturalmente infectados com *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856).** 2019. 110P. Tese (Doutorado) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2019.
- ALBERIGI, B.; FERNANDES, J.; PAIVA, J. P.; MENDES-DE-ALMEIDA, F.; KNACKFUSS, F.; MERLO, A.; LABARTHE, N. Efficacy of semi-annual therapy of na extended-release injectable moxidectin suspension and oral doxycycline in *Dirofilaria immitis* naturally infected dogs. **Parasites & Vectors**, United Kingdom, v. 13, n.503, p.1-8, 2020
- ALHO, A. M.; LANDUM, M.; FERREIRA, C.; MEIRELES, J.; GONCALVES, L.; CARVALHO, L. M.; BELO, S. Prevalence and seasonal variations of canine dirofilariosis in Portugal. **Veterinary Parasitology**, EUA, v. 206, n. 1/2, p. 99-105, November, 2014.
- ALMEIDA, M. A. O.; BARROS, M. T. G.; SANTOS, E. P.; AYRES, M. C. C.; GUIMARÃES, J. E.; GONDIM, L. F. P. Parasitismo de cães por microfilárias de *Dirofilaria immitis*: influência da raça, sexo e idade. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, Bahia, v. 2, n.3, p. 59-64, 2001.
- AMERICAN HEARTWORM SOCIETY. **Current Canine Guidelines for the Prevention, Diagnosis, and Management of Heartworm Infection in Dogs.** Revised 2014. Disponível em: <https://heartwormsociety.org/images/pdf/2014-AHS-Canine-Guidelines.pdf>. Acesso em: 10 de outubro 2019.
- AMERICAN HEARTWORM SOCIETY. **Current Canine Guidelines for the Prevention, Diagnosis, and Management of Heartworm Infection in Dogs.** 2018. Disponível em: <https://heartwormsociety.org/images/pdf/2018-AHS-Canine-Guidelines.pdf>. Acesso em: 17 fevereiro 2019.
- AMERICAN HEARTWORM SOCIETY. **Current Canine Guidelines for the Prevention, Diagnosis, and Management of Heartworm Infection in Dogs.** 2020. Disponível em: <https://heartwormsociety.org/images/pdf/2020-AHS-Canine-Guidelines.pdf>. Acesso em: 10 de janeiro de 2021.
- AMES M.K, ATKINS, C. E. Treatment of dogs with severe heartworm disease. **Veterinary Parasitology**, v. 283, p. 1-6, Maio 2020.
- ATKINS, C. E.; MORESCO, A.; LISTER, A. Prevalence of naturally occurring *Dirofilaria immitis* infections among non domestic cats housed in an area in wich heartworms are endemic. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v. 227, n.1, p. 139-143, July, 2005.
- ATWELL, R. B. Clinical Signs and Diagnosis of Canine Dirofilariosis. In: BOREHAM, P. F. L.; ATWELL, R.B. (org.). **Dirofilariosis**. Florida: CRC Press, 1988. cap. 4, p.61-81.

BANDI, C.; TREES, A. J.; BRATTIG, N. W. *Wolbachia* in filarial nematodes: evolutionary aspects and implications for the pathogenesis and treatment of filarial diseases. **Veterinary Parasitology**, v. 98, n. 1-3, p. 215-238, July, 2001.

BAZZOCCHI, C., GENCHI, C., PALTRINIERI, S., LECCHI, C., MORTARINO, M., & BANDI, C. Immunological role of the endosymbionts of *Dirofilaria immitis*: the Wolbachia surface protein activates canine neutrophils with production of IL-8. **Veterinary Parasitology**, v. 117, n.1-2, p. 73-83, 2008.

BENDAS, A. J. R. **Avaliação da associação de moxidectina 2,5% e imidacloprida 10% tópica com doxiciclina no tratamento de cães (*Canis familiaris* linnaeus, 1758) naturalmente infectados por *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)**. 2018. 94p. Tese (Doutorado) - Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2018.

BENDAS, A. J. R.; ALMEIDA, F. M.; SIMSON, C. V.; LABARTHE, N. Heat pretreatment of canine samples to evaluate efficacy of imidacloprid+ moxidectin and doxycycline in heartworm treatment. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 246, Maio 2017.

BENDAS, A.; PAIVA, J.P.; ROSSI, M.I.D.; KNACKFUSS, F.B.; SILVANO, D.R.B.; MENDES-DE-ALMEIDA, F.; GUERRERO, J. LABARTHE, N.. The use of doxycycline in microfilaremic *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) naturally infected dogs. **Journal of Applied Research in Veterinary Medicine**, v.6, n.1, p.55-59 , 2008.

BENDAS, A.J.R.; MENDES-DE-ALMEIDA, F.; GUERRERO, J.; LABARTHE, N. Update on *Dirofilaria immitis* EPIDEMIOLOGY IN South America and Mexico: literature review. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**. V. 54, N. 4. P. 319-329, 2017.

BOON, J. A. **Veterinary Echocardiography**. 2. ed. West Sussex: John Wiley & Sons, 2011. 767p.

BOUDREAUX, M. K.; DILLON, A. R. Platelet function, antithrombin-III activity, and fibrinogen concentration in heartworm-infected and heartworm-negative dogs treated with thiacetarsamide. **American Journal of Veterinary Research**, v. 52, n. 12, p. 1986-1991, 1991.

BOWMAN, D. D.; ATKINS, C. E. Heartworm biology, treatment, and control. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 39, n. 6, p. 1127-1158, November, 2009.

BOWMAN, D. D.; MANNELLA, C. Macrocytic lactones and *Dirofilaria immitis* microfilariae. **Topics in Companion Animal Medicine**, Ohio, v. 26, n. 4, p. 160-172, November, 2011.

BROWN, H. E.; HARRINGTON, L. C.; KAUFMAN, P. E.; MCKAY, T.; BOWMAN, D. D.; NELSON, C. T.; WANG, D.; LUND, R. Key factors influencing canine heartworm, *Dirofilaria immitis*, in the United States. **Parasites & Vectors**, United Kingdom, v. 5, p. 245, October, 2012.

CALAZANS, 2018 - **Epidemiologia da dirofilariose canina no município de Porto Seguro - Bahia** - Universidade Estadual de Santa Cruz, 2018.

CALDAS, S. A.; MIRANDA, I. C.; BRITO, M. de F.; NOGUEIRA, V. de A.; CID, G. de C.; COSTA, S. Z. R.; FRANÇA, T. do N.; PINTO, L. F. Clinical and pathological features of

mammary tumors in female dogs (*Canis familiaris*). Brazilian Journal of Veterinary Medicine, v.38, n. 2, p. 81-85, 2016. Disponível em: <http://rbmv.org/index.php/BJVM/article/view/156>. Acesso em: 30 março 2021.

CALVERT, C. A. T., J. D. Heartworm Disease. In: SMITH JR, F. W. K.; TILLEY, L. P.; OYAMA, M. A.; SLEEPER, M. M. **Manual of Canine and Feline Cardiology**. 4. ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 2008. 464p.

CALVERT, C. A.; RAWLINGS, C. A. Dirofilariose canina. In: TILLEY, L.P.; GOODWIN, J. K. **Manual de Cardiología para cães e gatos**, 3. ed. São Paulo: Roca, 2002. cap. 11, p. 223-227.

CALVERT, C. A.; RAWLINGS, C. A.; MCCALL, J. W. Canine Heartworm Disease. In: FOX, P. R.; Sisson, D.; MOISE, N. S. **Textbook of canine and feline Cardiology, Principles and clinical practice**. 2. ed. Philadelphia: WB Saunders, 1999. p.702-726.

CALVERT, C.A., R.; MCCALL, J. W. Canine Heartworm Disease In: LIVINGSTONE, C. **Canine and Feline Cardiology**. Philadelphia, 1998. cap. 30, p.519-549

CALVERT, C. A.; RAWLINGS, C. A. Diagnosis and management of canine heartworm disease. **Current veterinary therapy VIII, KIRK, RW bds**, v. 348, p. 359, 1983.

CAMACHO, A.A., MUCHA, C.J. Semiologia do Sistema circulatório de cães e gatos. In: FEITOSA, F.L. **Semiologia Veterinária A Arte do Diagnóstico**. 3.ed. São Paulo: Roca, 2014. p. 246-274.

CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE, 1988 Disponível em: <https://www.ccac.ca/>, Acesso em: 27 de fevereiro 2021.

CHETBOUL, V. Pulmonary Arterial Hypertension. In: CHETBOUL, V.; BUSSADORI, C.; MADRON, E. **Clinical Echocardiography of the Dog and Cat**. 1. ed. Missouri: Elsevier, 2016. Cap. 14, p. 229-240.

CHETBOUL, V.; SAMPEDRANO, C. C.; GOUNI, V.; CONCORDET, D.; LAMOUR, T.; GINESTA, J.; NICOLLE, A. P.; POUCHELON, J. L.; LEFEBVRE, H. P. Quantitative assessment of regional right ventricular myocardial velocities in awake dogs by Doppler tissue imaging: repeatability, reproducibility, effect of body weight and breed, and comparison with left ventricular myocardial velocities. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 19, n. 6, p. 837-844, June, 2005.

CLEMMONS, R. M. et al. Interaction between canine platelets and adult heartworms: platelet recognition of heartworm surfaces. **American Journal of Veterinary Research**, v. 47, n. 2, p. 322-325, 1986.

CÔNSOLI, A. G. B.; LOURENÇO-DE-OLIVEIRA, R. **Principais mosquitos de importância sanitária no Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 1994. 228 p.

DRAKE, J.; GRUNTMEIR, J.; MERRITT, H.; ALLEN, L.; LITTLE, S. E. False negative antigen tests in dogs infected with heartworm and placed on macrocyclic lactone preventives. **Parasites & Vectors**, v. 8, n. 1, p. 68, February, 2015.

DUMLER, J. S., BARBET, A. F., BEKKER, C. P., DASCH, G. A., PALMER, G. H., RAY, S. C.; RURANGIRWA, F. R. Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and HGE agent's as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. **International journal of systematic and evolutionary microbiology**, v. 51, n. 6, p. 2145-2165, 2001.

DZIMIANSKI, M.; MCCALL, J.; STEFFENS, W.L.; SUPAKORNDEJ, N.; MANSOUR, A.E.; ARD, M.; MCCALL, S.D.; HACK, R. **The safety of selamectin in heartworm infected dogs and its effect on adult worms and microfilariae. Recent advances in heartworm disease: Symposium**, 2001. p.135-140.

EUROPEAN SOCIETY OF DIROFILARIOSIS AND ANGIOSTRONGYLOSIS. **Guidelines for clinical management of canine heartworm disease**. 2017 Disponível em: <https://www.esda.vet/guide-lines-tutorials/>. Acesso em: 05 março 2019.

FEITOSA, F.L. Introdução à semiologia. In: FEITOSA, F.L. **Semiologia Veterinária A Arte do Diagnóstico**. 3.ed. São Paulo: Roca, 2020. p. 1-24.

FILHO, M. S.; ALBERIGI, B.; BAILUS, D.M.P; LEMOS, N.M.O; BENDAS, A.J.R; PAIVA, J.P. Canine heartworm: natural infection along remote coastal área of Rio de Janeiro. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 43, p. 1-7, 2021.

FORATINNI OP, GOMES AC, NATAL D, KAKITANI I, MARUCCI D: Frequência domiciliar e endofilia de mosquitos Culicidae no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Revista Saúde Pública**, V. 21, p. 188–192, 1987a

FORATINNI OP, GOMES AC, NATAL D, KAKITANI I, MARUCCI D: Preferências alimentares de mosquitos Culicidae no Vale do Ribeira, São Paulo, Brasil. **Revista Saúde Pública**, v. 21, p. 171-187, 1987b.

FORATINNI OP, KAKITANI I, MASSAD EM, MARUCCI D: Studies on mosquitoes (Diptera: Culicidae) and anthropic environment. 9-Synanthropic and epidemiological vector roles of Aedes scapularis in south-eastern Brazil. **Revista Saúde Pública**, v. 29, p. 199-207, 1995.

FURTADO, A. P.; MELO, F. T.; GIESE, E. G.; SANTOS, J. N. Morphological redescription of *Dirofilaria immitis*. **International Journal of Parasitology**, EUA, v. 96, n. 3, p. 499-504, June, 2010.

GOMPF, R. The history and Physical Examination. In: SMITH JR, F. W. K.; TILLEY, L. P.; OYAMA, M. A.; SLEEPER, M. M. **Manual of Canine and Feline Cardiology**. 4. ed. Misosuri: Saunders, 2008. Cap. 1, p.2-23.

GRIMES, C. N.; FRY, M. M. Nonregenerative anemia: mechanisms of decreased or ineffective erythropoiesis. **Veterinary Pathology**, v. 52, n. 2, p. 298-311, 2015.

GUERREO, J. **Heartworm pathophysiology in dogs and cats**. PROCEEDINGS OF THE 30TH CONGRESS OF THE WORLD SMALL ANIMAL ASSOCIATION, 2005.

HISE, A. G.; GILLETTE-FERGUSON, I.; PEARLMAN, E. The role of endosymbiotic *Wolbachia* bacteria in filarial disease. **Cellular Microbiology**, v. 6, n. 2, p. 97-104, February, 2004.

JAIN, N. C. **Essentials of Veterinary Hematology**. Philadelphia: Lea e Febiger, 1993. p. 54

JESSUP, M.; SUTTON, M. S. J.; WEBER, K. T.; JANICKI, J. S. The effect of chronic pulmonary hypertension on left ventricular size, function, and interventricular septal motion. **American Heart Journal**, v. 113, n. 5, p. 1114-1122, May, 1987.

JURCUT, R.; GIUSCA, S.; GERCHE, A. L.; VASILE, S.; GINGHINA, C.; VOIGT, J. U. The echocardiographic assessment of the right ventricle: what to do in 2010? **European Journal of Echocardiography**, v. 11, n. 2, p. 81-96, March, 2010.

KARTMAN, L. Factors influencing infection of the mosquito with *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856). **Experimental Parasitology**, v. 2, n. 1, p. 27-78, January, 1953.

KEENE, B. W; ATKINS, C.; BONAGURA, J.; FOX, P.; GORDON, S.; HAGGSTROM, J.; LUIS-FUENTES, V; OYAMA, M. A.; RUSH, J. E; STEPIEN, R; UECHI M. Guidelines for the diagnosis and treatment of myxomatous mitral valve disease in dogs. ACVIM Consensus Statement. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 23, p. 1-14, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jvim.15488>. Acesso em: 12 março 2019.

KNIGHT, D. H. Heartworm infection. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 17, n. 6, p. 1463-1518, November, 1987.

LABARTHE, N. V.; PAIVA, J. P.; REIFUR, L.; ALMEIDA, F. M.; MELO, A.; PINTO, C. J. C.; JULIANI, P. S.; ALMEIDA, M. A. O.; ALVES, L. C. Updated canine infection rates for *Dirofilaria immitis* in areas of Brazil previously identified as having a high incidence of heartworm-infected dogs. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 1, p. 493, November, 2014.

LABARTHE, N.; ALVES, L.; SERRÃO, M. L. Dirofilariose em pequenos animais domésticos e como zoonose. In: ALMOSNY, N. R. P. **Hemoparasitoses em Pequenos Animais Domésticos**. 1. ed. Rio de Janeiro: LF livros, 2002. Cap. 6, p.135.

LABARTHE, N.; GUERRERO, J. Epidemiology of heartworm: what is happening in South America and Mexico? **Veterinary Parasitology**, Estados Unidos da América, v. 133, n. 2/3, p. 149-156, October, 2005.

LABARTHE, N.; PAIVA, J.; CAMPOS, J. Dirofilariose. In: MARCONDES, C. B. **Doenças Transmitidas e causadas por artrópodes**. 1ed. São Paulo: Ateneu, 2009. cap. 20, p.283-299.

LABARTHE, N.; SERRAO, M. L.; MELO, Y. F.; DE OLIVEIRA, S. J.; LOURENCO-DE-OLIVEIRA, R. Mosquito frequency and feeding habits in an enzootic canine dirofilariasis area in Niterói, state of Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 93, n. 2, p. 145-154, 1998a.

LEDESMA, N.; L. HARRINGTON. Mosquito vectors of dog heartworm in the United States: vector status and factors influencing transmission efficiency. **Topics in Companion Animal Medicine**, Ohio, v. 26, n. 4, p.178-185, November, 2011.

LEIDY, J. A. A synopsis of entozoan and some of their ecto-congeneres observed by the author. **Proceedings of the National Academy of Sciences**. Philadelphia, v. 8, p. 43-59, 1856.

LEMOS, N. M. O. **Relatório semestral de atividades práticas**. Instituto de Veterinária, UFRRJ, 2018

LEMOS, N.M.O; BALLOT, S.; BENDAS, A.; ALBERIGI, B. R. S.; LABARTHE, N..V.; SILVA, M.F.A. Avaliação ecocardiográfica da função ventricular direita em cães naturalmente infectados por *Dirofilaria immitis*. **Anais VI SAMVET**, UFRRJ, Seropédica, 2020.

LILLIEHÖÖK, I., GUNNARSSON, L., ZAKRISSON, G., TVEDTEN, H. Diseases associated with pronounced eosinophilia: a study of 105 dogs in Sweden. **Journal of Small Animal Practice**, v. 41, n. 6, p. 248-253, 2000.

LIPSITCH, M.; NOWAK, M. A.; EBERT, D.; MAY, R. M. The population dynamics of vertically and horizontally transmitted parasites. **Proceedings of the Royal Society Biological Science**, London, v. 260, p. 321-327, 1995.

LITTLE, S. E.; RAYMOND, M. R.; THOMAS, J. E.; GRUNTMEIR, J.; HOSTETLER, J. A.; MEINKOTH, J. H.; BLAGBURN, B. Heat treatment prior to testing allows detection of antigen of *Dirofilaria immitis* in feline serum. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 1, p. 1-4, January, 2014.

LITTLE, S.; SALEH, M.; WOHLTJEN, M.; NAGAMORI, Y. Prime detection of *Dirofilaria immitis*: understanding the influence of blocked antigen on heartworm test performance. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 1, p. 186, March, 2018.

LOK, J. B. Taxonomy and Distribution. In: BOREHAM, P. F. L. ATWELL, R.B (org.). **Dirofilaria** 1st ed. Florida: CRC Press, 1988. p.249.

LU, T. L.; WONG, J.Y.; TAN, T. L.; HUNG, Y. W. Prevalence and epidemiology of canine and feline heartworm infection in Taiwan. **Parasites & Vectors**, United Kingdom, v. 10, n. 2, p. 484, November, 2017.

MACNEE, W. Pathophysiology of *cor pulmonale* in chronic obstructive pulmonary disease. Part two. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 150, n. 4, p. 1158-1168, October, 1994.

MADRON, E. *Dirofilaria*: Specific Bidimensional Aspects. In: CHETBOUL, V.; BUSSADORI, C.; MADRON, E. **Clinical Echocardiography of the Dog and Cat**. 1. ed. Missouri: Elsevier, 2016. cap. 15, p.241-243.

MAGGIORE, A. D. Tracheal and airway collapse in dogs. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, v. 44, n. 1, p. 117-127, 2014.

MAGNIS, J.; LORENTZ, S.; GUARDONE, L.; GRIMM, F.; MAGI, M.; NAUCKE, T. J.; DEPLAZES, P. Morphometric analyses of canine blood microfilariae isolated by the Knott's test enables *Dirofilaria immitis* and *D. repens* species-specific and *Acanthocheilonema* (syn.

Dipetalonema) genus-specific diagnosis. **Parasites & Vectors**, United Kingdom, v. 6, p. 48, February, 2013.

MARANHÃO Z.C: **Entomologia Geral**. São Paulo, SP, Brazil: Nobel; 1976.

MCCALL, J. GUERRERO, J.; ROBERTS, R.E.; SUPAKORNDEJ, N.; MANSOUR, A.E.; DZIMIANSKI, M.T.; MCCALL, S.D. Further evidence of clinical prophylactic, retro-active (reach-back) and adulticidal activity of monthly administrations of ivermectin (Heartgard Plus™) in dogs experimentally infected with heartworms. **Recent advances in heartworm disease: Symposium**, 2001. p.189-200.

MCCALL, J. W.; GENCHI, C.; KRAMER, L. H.; GUERRERO, J.; VENCO, L. Chapter 4 heartworm disease in animals and humans. **Advances in Parasitology**, v. 66, n. 1, p. 193-285, January, 2008.

MCHAFFIE, J. *Dirofilaria immitis* and *Wolbachia pipientis*: a thorough investigation of the symbiosis responsible for canine heartworm disease. **Parasitology Research**, v. 110, n. 2, p. 499-502, September, 2012.

MEEUSEN, E.N.T; BALIC, A. Do eosinophils have a role in the killing of helminth parasites?. **Parasitology Today**, v. 16, n. 3, p. 95-101, 2000.

MENDES-DE-ALMEIDA, F., ALVES, L. C., DO AMARAL FERNANDES, P., DE MENEZES LEIVAS, R.,; LABARTHE, N. Infection with *Dirofilaria immitis* and Other Infections in Cats and Dogs from Rio de Janeiro, Brazil: The Need for Prophylactic Enforcement. **Acta Parasitologica**, p. 1-7, March, 2021.

MONTEIRO, L. M. V. W. ***Dirofilaria immitis*: infecção canina em fisionomias distintas e susceptibilidade às lactonas macrocíclicas**. Orientadoras: Flavya Mendes de Almeida; Norma Vollmer Labarthe; Tânia Zaverucha do Valle. 2016. 170f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) - Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Fluminense, Niterói, 2016.

MONTOYA -ALONSO, J. **Enfermidades respiratórias em pequenos animais**. São Paulo: interbook, 2007.

MOREIRA, H. R., MADEIRA, E. A. O., CUNHA, D. N. L., SCOFIELD, A., GÓES-CAVALCANTE, G., ABEL, I., GUIMARÃES, R. J. P. S., FERNANDES, J. I. *Dirofilaria immitis* infection in dogs in Algodoal Island, Brazilian Amazon. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, V. 39, N.7, P. 510–515, 2019.

MORITA, T.; NAKAMURA, K.; OSUGA, T.; MORISHITA, K.; SASAKI, N.; OHTA, H.; TAKIGUCHI, M. Right ventricular function and dyssynchrony measured by echocardiography in dogs with precapillary pulmonary hypertension. **Journal of Veterinary Cardiology**, v. 23, n. 1, p. 1-14, June, 2019.

NEWTON, W. L.; WRIGHT, W. H. The occurrence of a dog filariid other than *Dirofilaria immitis* in the United States. **The Journal of Parasitology**, v. 42, n. 3, p. 246-258, June, 1956.

NISHIMURA, Rick A.; TAJIK, A. Jamil. Evaluation of diastolic filling of left ventricle in health and disease: Doppler echocardiography is the clinician's Rosetta Stone. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 30, n. 1, p. 8-18, 1997.

NIWETPATHOMWAT A, KAEWTHAMASORN M, TIAWSIRISUP S, TECHANGAMSUWAN S, SUVARNVIBHAJA S. A retrospective study of the clinical hematology and the serum biochemistry tests made on canine dirofilariasis cases in an animal hospital population in Bangkok, Thailand. **Research in Veterinary Science**. v. 82, p.364-369, 2007.

OVINGTON, K. S.; BEHM, C. A. The enigmatic eosinophil: investigation of the biological role of eosinophils in parasitic helminth infection. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 92, p. 93-104, 1997.

POLIZOPOULOU, Z. S.; KOUTINAS, A. F.; SARIDOMICHELAKIS, M. N.; PATSIKAS, M. N.; LEONTIDIS, L.S.; ROUBIES, N.A.; DESIRIS, A. K. Clinical and laboratory observations in 91 dogs infected with *Dirofilaria immitis* in northern Greece. **Veterinary Record** v. 146, n. 16, p. 466-469, 2000. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1136/vr.146.16.466>. Acesso em: 12 janeiro 2019.

PRICHARD, R.; MÉNEZ, C.; LESPINE, A. Moxidectin and the avermectins: consanguinity but not identity. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, v. 2, n. 1, p. 134-153, December, 2012.

RAWLILNGS, C. A. **Heartworm Disease in Dogs and Cats**. Philadelphia: Saunders, 1ST ed. 1986.

REBAR AH. Interpretación del Hemograma Canino y Felino. In: **Clinical Handbook Series**. 2nd Edition. St Louis, Missouri: Nestlé Purina PetCare Company. 2003: p. 1-90.

REDINGTON, B. C. et al. The various microfilariae found in dogs in the United States. In: MORGAN, H. C., **Proceedings of Heartworm Symposium**, Bonner Springs, KS. p. 14-21, 1997.

REINERO, C., VISSER, L. C., KELLIHAN, H. B., MASSEAU, I., ROZANSKI, E., CLERCX, C., SCANSEN, B. A. ACVIM consensus statement guidelines for the diagnosis, classification, treatment, and monitoring of pulmonary hypertension in dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 34, n. 2, p. 549-573, 2020.

RENDER, M. L.; WEINSTEIN, A. S.; BLAUSTEIN, A. S. Left ventricular dysfunction in deteriorating patients with chronic obstructive pulmonary disease. **Chest**, v. 107, n. 1, p. 162-168, January, 1995.

REY, N. **Parasitologia**, 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. p.549-561.

RIDYARD, A. Heartworm and lungworm in dogs and cats in the UK. **IN PRACTICE**, Londres, v. 27, n. 5, p. 237-237, March, 2005.

RINALDI, L.; MUSSELA, V.; MARZATICO, G.; MORTARINO, M.; GENCHI, C.; CRINGOLI, G. Mapping and modeling *Dirofilaria* infections in Europe. **Parasites & Vectors**, United Kingdom, v. 7, n. 1, p. 20, April, 2014.

RIZZI et al. Normal hematology of the dogs. in: WEIS, D.J.; WARDROP, K.J. **Shalms veterinary hematology**. 6.ed. USA: Willey-Blackwell, p. 799-810, 2010.

ROCHA, C.A.R. ***Dirofilaria immitis* e dirofilariose canina: um estudo retrospectivo**. Orientador: Luis Cardoso. 2010. 73f. Dissertação (Mestrado integrado em medicina veterinária) - Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, Vila Real, 2010.

ROMANO, A. E., SAUNDERS, A. B., GORDON, S. G., WESSELOWSKI, S. Intracardiac heartworms in dogs: Clinical and echocardiographic characteristics in 72 cases (2010-2019). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 35, n. 1, p. 88-97, 2021.

ROSSI, M. I. D.; AGUIAR-ALVES, F.; SANTOS, S.; PAIVA, J.; BENDAS, A.; FERNANDES, O.; LABARTHE, N. Detection of *Wolbachia* DNA in blood from dogs infected with *Dirofilaria immitis*. **Experimental Parasitology**, v. 126, n. 2, p. 270-272, October, 2010.

SAVADELIS, M. D.; OHMES, C. M.; HOSTETLER, J. A.; SETTJE, T. L.; ZOLYNAS, R.; DZIMIANSKI, M. T.; MOORHEAD, A. R. Assessment of parasitological findings in heartworm-infected beagles treated with Advantage Multi® for dogs (10% imidacloprid+ 2.5% moxidectin) and doxycycline. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 245, May, 2017.

SERRANO-PARREÑO, B.; CARRETON, E.; CARO-VADILLO, A. C.; FALCON-CORDON, Y.; FALCON-CORDON, S. MONTOYA-ALONSO, J. A. Evaluation of pulmonary hypertension and clinical status in dogs with heartworm by Right Pulmonary Artery Distensibility Index and other echocardiographic parameters. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 106, February, 2017.

SILVA, P. C. B., Oliveira-Junior, R. R. & Borges, M. S. (2020). Scenarios of territorial inequalities in the Brazil: a study on Baixada Fluminense (RJ). **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 72767-72779, 2020.

SIMÓN, F.; KRAMER, L. H.; ROMAN, A.; BLASINI, W.; MORCHON, R.; MARCOS-ATXUTEGI, C.; GRANDI, G.; GENCHI, C. Immunopathology of *Dirofilaria immitis* infection. **Veterinary Research Communications**, v. 31, n. 2, p. 161-171, February, 2007.

SIMÓN, F.; SILES-LUCAS, M.; MORCHON, R.; GONZALEZ-MIGUEL, J.; MELLADO, I.; CARRETON, E.; MONTOYA-ALONSO, J. A. Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic mosaic. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, n. 3, p. 507-544, July, 2012.

SMYTHE, A. B.; SANDERSON, M. J.; NADLER, S. A. Nematode small subunit phylogeny correlates with alignment parameters. **Systematic Biology**, v. 55, n. 6, p. 972-992, December, 2006.

SONG, K. H.; LEE, S. E.; HAYASAKI, M.; SHIRAMIZU, K.; KIM, D. H.; CHO, K. W. Seroprevalence of canine Dirofilariasis in South Korea. **Veterinary Parasitology**, EUA, v. 114, n. 3, p. 231-236, June, 2003.

SOULSBY, E. J. L. Helminths, arthropods and protozoa of domesticated animals. **Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals**. 1968.

TAKASHIMA, Y., ONODA, I., CHIOUS.P., KITO, K. In vitro canine platelet aggregation caused by *Dirofilaria immitis* extract. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 79, n.2, p. 388-392. February, 2017.

TAYLOR, A. E. R. The development of *Dirofilaria immitis* in the mosquito *Aedes aegypti*. **Journal of Helminthology**, v. 34, n. 1-2, p. 27-38, August, 1960.

THOMAS, W. P., GABER, C. E., JACOBS, G. J., KAPLAN, P. M., LOMBARD, C. W., VET, M., MOSES, B. L. Recommendations for standards in transthoracic two-dimensional echocardiography in the dog and cat. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 7, n. 4, p. 247-252, 1993.

THRALL, D. E. Practical approach to obtaining and interpreting thoracic radiographs in dogs, with emphasis on heartworm disease and its mimics. **American Heartworm Society 14th Triennial Symposium**, Florida, 2013.

THRALL, D. E.; BADERTSCHER, R. R.; LEWIS, R. E.; MCCALL, J. W.; LONSONSKY, J. M. Radiographic changes associated with developing dirofilariasis in experimentally infected dogs. **American Journal of Veterinary Research**, v. 41, n. 1, p. 81-90, January, 1980.

TILLEY, L. P.; GOODWIN, J. K. **Manual de Cardiologia para Cães e Gatos**. 3. ed. São Paulo: Roca, 2002. 489p.

TRANCOSO, T. A. L., LIMA, N. D. C., BARBOSA, A. S., LELES, D., FONSECA, A. B. M., LABARTHE, N. V., UCHÔA, C. M. A. Detection of *Dirofilaria immitis* using microscopic, serological and molecular techniques among dogs in Cabo Frio, RJ, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 29, n. 1, 2020.

TROCCAP, Disponível em: www.troccap.com, Acesso em: 27 de fevereiro 2021.

VELASQUEZ, L.; BLAGBURN, B. L.; DUNCAN-DECOQ, R.; JOHNSON, E. M.; ALLEN, K. E.; MEINKOTH, J.; GRUNTMEIR, J.; LITTLE, S. E. Increased prevalence of *Dirofilaria immitis* antigen in canine samples after heat treatment. **Veterinary Parasitology**, v. 206, n. 1-2, p. 67-70, November, 2014.

VENCO, L.; MANZOCCHI, S.; GENCHI, M.; KRAMER, L. H. Heat treatment and false-positive heartworm antigen testing in ex vivo parasites and dogs naturally infected by *Dirofilaria repens* and *Angiostrongylus vasorum*. **Parasites & Vectors**, United Kingdom, v. 10, n. 2, p. 476, November, 2017.

VENCO, L.; MIHAYLOVA, L.; BOON, J. A. Right Pulmonary Artery Distensibility Index (RPAD Index). A field study of an echocardiographic method to detect early development of pulmonary hypertension and its severity even in the absence of regurgitant jets for Doppler evaluation in heartworm-infected dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 206, n. 1-2, p. 60-66, November, 2014.

VENCO, L. Heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in dogs. In: GENCHI, C.; RINALDI, L. ; CRINGOLI, G. **Dirofilaria immitis and D. repens in dog and cat and human infections**. Naples: Rolando Editore, p.117– 125, 2007.

VENCO, L. Heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in dogs IN GENCHI, C.; RINALDI, L.; CRINGOLI, G. ***Dirofilaria immitis* and *D. repens* in dog and cat and human infections**. Itália: Naples, Italy, p. 117– 125, 2005.

VENCO, L.; GENCHI, C.; VIGEVANI COLSON, P.; KRAMER, L. Relative utility of echocardiography, radiography, serologic testing and microfilariae counts to predict adult worm burden in dogs naturally infected with heartworms. **Recent Advances in Heartworm Disease, Symposium**, p.111-24, 2003.

VEZZANI, D.; CARBAJO, A. E.; FONTANARROSA, M. F.; SCODELLARO, C. F.; BASABE, J.; CANGIANO, G.; EIRAS, D. F. Epidemiology of canine heartworm in its southern distribution limit in South America: Risk factors, inter-annual trend and spatial patterns. **Veterinary Parasitology**, EUA, v. 176, n. 2-3, p. 240-249, March, 2011.

WALTERS, L.L. Risk factors for heartworm infection in Northern California. In: **Proceedings of the American Heartworm Symposium**, v. 95, p. 5-26, Auburn, AL, 1995.

WALTERS, L.L.; LAVOPIERRE, M.M.J. Landscape epidemiology of mosquito-borne canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) in northern California, USA. **Journal Medicine Entomology**, v. 21, p. 1-16, 1984.

WANG, D.; BOWMAN, D. D.; BROWN, H. E.; HARRINGTON, L. C.; KAUFMAN, P. E.; MCKAY, T.; NELSON, C. T.; SHARP, J. L.; LUND, R. Factors influencing U.S. canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) prevalence. **Parasites & Vectors**, United Kingdom, v. 7, p. 264, June, 2014

WARE, Wendy. **Cardiovascular disease in small animal medicine**. CRC Press. Chapter 2 p 26-31, 2011.

WERREN, J. H. Biology of Wolbachia. **Annual Review Entomology**, v.42, p.587-609, 1997
Disponível em: <https://www.annualreviews.org/journal/ento>. Acesso em: 20 janeiro 2019.

YILDIRIM, A.; ICA, A.; ATALAY, O.; DUZLU, O.; INCI, A. Prevalence and epidemiological aspects of *Dirofilaria immitis* in dogs from Kayseri Province, Turkey. **Research in Veterinary Science**, Itália, v. 82, n. 3, p. 358–363, June, 2007.

ZOETIS Disponível em: <https://www.zoetis.com.br/>, Acesso em: 27 de fevereiro 2021.

APÊNDICES

Apêndice 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

PACIENTE:

DATA:

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título: “Aspectos clínicos e fatores predisponentes da infecção natural por *Dirofilaria immitis* em cães atendidos no Serviço de Cardiologia e Doenças Respiratórias do Setor de Pequenos Animais do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.”

Nome do animal: _____ Idade: _____
Raça: _____ Cor pelagem: _____
Sexo: () F () M Pelagem: () Curta () Longa () Subpelo

1. Eu, _____, por meio deste, certifico que sou o responsável pelo animal acima descrito (ou agente autorizado por ele).

Protocolo a ser realizado:

O animal será submetido a avaliação clínica, colheita de amostra de sangue, realização de exames cardiológicos (que poderão incluir eletrocardiografia, ecodopplercardiografia e radiografias torácicas).

2. O veterinário responsável pelo estudo explicou-me sobre a natureza do estudo, assim como respondeu a todas as minhas perguntas relativas ao que será realizado com meu animal.
3. Eu forneci ao veterinário responsável pelo estudo, de sã consciência, todas as informações referentes às medicações que foram dadas ao meu animal no último ano. Estou ciente de que não devo dar nenhuma medicação ao meu animal sem conhecimento do veterinário responsável pelo estudo.
4. Eu concordo em cooperar com o veterinário responsável pelo estudo, assegurando que seguirei o protocolo proposto, embora entenda que estou completamente livre para retirar meu animal do estudo a qualquer tempo. Eu entendo que minha assinatura neste formulário não representa uma renúncia aos meus direitos ou aos direitos do meu animal de estimação.
5. Me comprometo a informar ao veterinário responsável pelo estudo se meu animal manifestar quaisquer sinais de anormalidade ou se ocorrer qualquer evento não usual, durante as etapas do estudo.

6. Entendo que meu animal precisará realizar revisões rotineiras solicitadas, bem como deverá realizar novos exames, a fim de concluir os estudos, em datas pré-estabelecidas pelos veterinários responsáveis para o desfecho do estudo.
7. Eu permito voluntariamente a participação do meu animal neste estudo. Tendo em vista os itens acima apresentados, eu, de forma livre e esclarecida manifesto o meu consentimento em que meu animal participar da pesquisa.

Nome do responsável (ou representante): _____

_Endereço: _____

Telefone: _____ Celular: _____ E-mail: _____

Data: _____

Assinatura Responsável pelo animal

Assinatura do Responsável pelo estudo

Veterinários a serem contactados em caso de urgência

- Nathália Marques de Oliveira Lemos
Cel: (21)987038586
E-mail: nathycardiovet@gmail.com
- Marta Fernanda Albuquerque da Silva
Cel: (21)999444056
E-mail: martafasilva@gmail.com

Apêndice 2 - Ficha de captura de dados

PACIENTE:

DATA:

FICHA DE CAPTURA DE DADOS – MESTRADO

Título: “Aspectos clínicos da infecção natural por *Dirofilaria immitis* em cães atendidos no Serviço de Cardiologia e Doenças Respiratórias do Setor de Pequenos Animais do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.”

Animal

Nome: _____ **Raça:** _____ **Cor:** _____

Pelagem: () Curta () Longa () Subpelo **Peso:** _____ **Idade:** _____

Responsável

Nome: _____

Endereço: _____ **Bairro:** _____

Tel: _____ **Cel:** _____ **E-mail:** _____

Histórico/Anamnese geral

Tosse: () Sim () Não _____

Dispneia: () Sim () Não _____

Cianose: () Sim () Não _____

Síncope: () Sim () Não _____

Cansaço fácil/Intolerância ao exercício: () Sim () Não _____

Exame físico

Ausculata cardíaca Sopro: () Sim () Não **Focos:** _____

Ausculata pulmonar

() Ruídos normais () Ruídos aumentados: () Inspiratório () Expiratório

() Ruídos contínuos: () Inspiratório () Expiratório

() Ruídos descontínuos: () Fino () Áspero

Reflexo de tosse: () Presente () Ausente _____

Teste de Piparote: () Positivo () Negativo

Confirmação infecção**Knott Modificado:** () Positivo () Negativo**Antígeno *D. immitis*:** () Reativo () Não reativo**Anticorpos:*****Ehrlichia*** () Reativo () Não reativo***Anaplasma*** () Reativo () Não reativo***Borrelia*:** () Reativo () Não reativo**Exames complementares****Exame de sangue**

Parâmetro	Valores	Referência
Hemácias(x106Céls/ μ L)		5,5 - 8,5 x10 ⁵ céls/ μ l
Hemoglobina (g/dL)		12 - 18 g/dL
Hematócrito (%)		37 - 55 %
VCM (fL)		60 - 77 fL
CHCM (g/dL)		32 - 36 g/dL
Leucócitos (Céls/ μ LL)		6000 - 17000 céls/ μ l
Bastões (Céls/ μ L)		0 - 300 céls/ μ l
Segmentados (Céls/ μ L)		3000 - 11400 céls/ μ l
Linfócitos (Céls/ μ L)		1000 - 4800 céls/ μ l
Monócitos (Céls/ μ LL)		150 - 1350 céls/ μ l
Eosinófilos (Céls/ μ L)		100 - 750 céls/ μ l
Plaquetas (Céls/ μ L)		2x10 ⁵ -5 x10 ⁵ céls/ μ l
Proteínas (g/dL)		6 - 7,5 g/dL

Radiografia torácica

- **Aumento atrioventricular direito:** () Sim () Não
- **Tronco pulmonar:** () Normal () Aumentado
- **Artéria lobar caudal:** () Normal () Dilatada
- **Padrão pulmonar** _____

Ecodopplercardiograma**Avaliação esquerda:** _____

Tricúspide: () Normal () Espessamento folhetos - processo degenerativo () Insuficiente

Pulmonar: () Normal () Insuficiente

() Turbulência sistólica no interior do AD, insuficiência tricúspide de grau_____

() Turbulência diastólica no interior do VD, insuficiência pulmonar de grau_____

Átrio direito:_____ **Ventrículo direito:**_____

Função sistólica do VD

- FAC: _____

- TAPSE: _____

-Onda S: _____

Função Diastólica do VD

Fluxo transtricuspídeo

Velocidade máxima da onda E: _____cm/seg

Velocidade máxima da onda A: _____cm/seg

RelaçãoE/A: _____

Doppler Tecidual do VD

Velocidade máxima da onda E': _____cm/seg

Velocidade máxima da onda A': _____cm/seg

RelaçãoE'/A': _____

- AP/AO: _____

- índice de distensibilidade da artéria pulmonar: _____

- Doppler

Fluxo pulmonar: Vmáx.: _____cm/seg (**grad. Pressão:** _____mmHg)

Regurgitação tricúspide: Vmáx.: _____cm/seg (**grad. Pressão:** _____mmHg)

- **Pressão sistólica estimada no interior da artéria pulmonar de:** _____mmHg

- **Probabilidade de HAP:** _____

- **Presença de filarídeos:** () Artéria Pulmonar () Átrio direito () Ventrículo direito

Apêndice 3 - Planilhas com os dados completos dos animais incluídos no estudo

IDENTIFICAÇÃO ANIMAL	RAÇA	SEXO	COR	PELAGEM	IDADE ANOS	KG	MORADIA	KNOTT MODIFICADO	4DX- <i>D.immitis</i>	INFECÇÃO POR <i>D. immitis</i>	4DX- <i>Anaplasma spp.</i>	4DX- <i>Borrelia burgdorferi</i>	4DX- <i>Ehrlichia spp.</i>
1	SRD	Fêmea	Preta	Longa - Subpelo	1	12	Seropédica	Positivo	Não reativo	Sim	Não reativo	Não reativo	Não reativo
2	SRD	Fêmea	Caramelo	Curta	9	16.8	Campo Grande	Negativo	Não reativo	Não	Não reativo	Não reativo	Não reativo
4	Cocker Spaniel	Fêmea	Caramelo	Longa	9	11.9	Itaguaí	Negativo	Não reativo	Não	Não reativo	Não reativo	Não reativo
6	SRD	Fêmea	Caramelo	Longa	14	12.7	Pavuna	Negativo	Não reativo	Não	Reativo	Não reativo	Reativo
7	SRD	Fêmea	Preta	Curta	16	23.5	Sepetiba	Positivo	Reativo	Sim	Não reativo	Não reativo	Reativo
8	Poodle	Fêmea	Branca	Curta	16	18.8	Realengo	Negativo	Não reativo	Não	Não reativo	Não reativo	Não reativo
9	Boxer	Fêmea	Caramelo	Curta	8	30.7	Senador Camará	Negativo	Não reativo	Não	Reativo	Não reativo	Não reativo
10	SRD	Macho	Branca	Curta	13	16.4	Senador Vasconcelos	Positivo	Reativo	Sim	Não reativo	Não reativo	Não reativo
11	SRD	Fêmea	Branca	Curta	8	14.8	Itaguaí	Negativo	Reativo	Sim	Não reativo	Não reativo	Reativo
12	SRD	Macho	Preta	Curta	12	36.8	Seropédica	Positivo	Reativo	Sim	Não reativo	Não reativo	Reativo
13	Poodle	Fêmea	Branca	Longa	7	12.2	Cosmos	Negativo	Não reativo	Não	Não reativo	Não reativo	Reativo
15	Poodle	Fêmea	Branca	Longa	10	7.2	Seropédica	Negativo	Não reativo	Não	Reativo	Não reativo	Reativo
16	Labrador	Macho	Preta	Curta - Subpelo	11	36.7	Seropédica	Positivo	Reativo	Sim	Não reativo	Não reativo	Não reativo
18	SRD	Macho	Preta	Curta	4	21	Barra de Guaratiba	Positivo	Reativo	Sim	Não reativo	Não reativo	Reativo
19	Poodle	Macho	Branca	Longa	8	7.7	Campo Grande	Negativo	Não reativo	Não	Não reativo	Não reativo	Não reativo
20	SRD	Macho	Branca	Curta	18	11	Seropédica	Negativo	Não reativo	Não	Não reativo	Não reativo	Não reativo
22	SRD	Fêmea	Preta	Curta	6	5.8	Seropédica	Negativo	Não reativo	Não	Não reativo	Não reativo	Não reativo
23	SRD	Macho	Preta	Longa	14	15.8	Anchieta	Negativo	Não reativo	Não	Não reativo	Não reativo	Não reativo
27	SRD	Macho	Preta	Curta	5	25.4	Seropédica	Negativo	Não reativo	Não	Não reativo	Não reativo	Reativo
28	Cocker Spaniel	Macho	Marrom	Curta	8	7.1	Seropédica	Negativo	Não reativo	Não	Não reativo	Não reativo	Não reativo
29	SRD	Macho	Preta	Longa	10	31	Guaratiba	Negativo	Não reativo	Não	Não reativo	Não reativo	Não reativo
31	SRD	Fêmea	Caramelo	Curta	12	13.8	Seropédica	Negativo	Reativo	Sim	Não reativo	Não reativo	Não reativo
33	SRD	Fêmea	Preta	Longa	12	10.3	Seropédica	Negativo	Não reativo	Não	Não reativo	Não reativo	Não reativo
34	SRD	Fêmea	Caramelo	Curta	10	3.1	Seropédica	Negativo	Reativo	Sim	Não reativo	Não reativo	Não reativo
36	SRD	Macho	Preta	Longa	9	10	Seropédica	Negativo	Reativo	Sim	Não reativo	Não reativo	Reativo
37	SRD	Fêmea	Caramelo	Curta	6	27.2	Seropédica	Positivo	Não reativo	Sim	Não reativo	Não reativo	Não reativo

SRD – Sem raça definida.

IDENTIFICAÇÃO ANIMAL	ANAMNESE/SINTOMATOLOGIA					EXAME FÍSICO						
	Tosse	Intolerância ao exercício	Dispnéia	Cianose	Síncope	Reflexo de Tosse	Píparote	Foco Tricúspide	Foco Pulmonar	Ruídos aumentados	Ruídos contínuos	Ruídos descontínuos
1	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	RPA	Não	Não
2	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	REA	Não	Não
4	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	RIA	Não	Não
6	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Sim	Não	RPA	Não	Não
7	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Sim	Não	REA	Não	Não
8	Sim	Sim	Sim	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	RPA	Não	Não
9	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	RPA	Não	Não
10	Sim	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	Sim	Não	RPA	Não	RDF
11	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
12	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	RPA	Não	Não
13	Não	Sim	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	RPA	Não	Não
15	Sim	Sim	Não	Não	Não	Sim	Não	Sim	Não	REA	Não	RDA
16	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	RPA	Não	Não
18	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Sim	Não	2 Ruídos inspiratórios	Não
19	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	RIA	Não	Não
20	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não
22	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	RPA	Não	Não
23	Sim	Sim	Sim	Sim	Não	Sim	Não	Não	Não	RPA	Não	Não
27	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	RPA	Não	Não
28	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não
29	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Sim	Não	RPA	Não	Não
31	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	REA	Não	Não
33	Sim	Não	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	Não	Não	Não
34	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não	Não
36	Sim	Sim	Não	Não	Não	Sim	Não	Sim	Não	RPA	Não	Não
37	Não	Sim	Não	Não	Não	Sim	Não	Não	Não	RPA	Não	Não

RPA – Ruídos pulmonares aumentados (Inspiratório e expiratórios); REA – Ruído expiratório aumentados; RIA – Ruído inspiratório aumentado; RDF – Ruído descontínuo fino; RDA – Ruído descontínuo áspero

IDENTIFICAÇÃO	HEMOGRAMA												
	Eritograma					Leucograma						Plaquetas (Céls/μL)	Proteínas (g/dL)
	Hemácias (x106Céls/μL)	Hemoglobina (g/dL)	Hematócrito (%)	VCM (fL)	CHCM (g/dL)	Leucócitos (Céls /μL)	Bastões (Céls /μL)	Segmentados (Céls /μL)	Linfócitos (Céls /μL)	Monócitos (Céls /μL)	Eosinófilos (Céls /μL)		
1	7.41	15.9	50.7	32.1	71.1	8.200	0	4920	1886	492	902	112.000	6.8
2	6.78	15.7	47.9	70.6	32.8	7.300	0	5183	1314	219	584	332.000	7.2
4	5.71	13.3	40.0	70.0	33.3	11.200	0	9520	560	224	896	344.000	8.0
6	4.57	10.7	32.0	70.0	30.8	7.600	0	4180	1900	456	1064	160.000	9.6
7	5.92	12.3	37.7	63.7	32.6	10.200	0	7140	2550	408	102	576.000	8.4
8	3.71	8.7	26.0	70.0	33.3	13.700	0	11371	1370	274	685	667.000	6.6
9	6.86	16.0	48.0	70.0	33.3	9.500	0	7505	1140	380	475	384.000	8.0
10	5.96	13.3	40.7	68.3	32.7	13.700	0	10001	1370	411	1918	352.000	7.6
11	4.74	10.3	34.9	73.6	29.9	10.700	214	6634	1177	1284	1391	424.000	9.2
12	4.25	9.2	27.5	64.7	31.5	11.500	0	9430	230	1150	690	181.000	11.4
13	7.66	17.1	52.8	68.9	32.4	8300.000	0	5727	1162	249	1162	224.000	8.6
15	6.88	15.7	48.9	71.1	32.1	5.900	0	4307	708	649	236	244.000	7.2
16	5.99	12.4	38.2	63.8	32.5	10.100	202	7979	707	404	808	132.000	7.2
18	4.74	9.1	30.2	63.7	30.1	14.800	148	5920	7104	148	1480	128.000	9.0
19	7.00	16.3	49.0	70.0	33.3	18.000	180	12780	2340	1620	1080	389.000	7.6
20	6.86	16.0	48.0	70.0	33.3	11.300	0	9492	904	565	339	680.000	7.0
22	7.43	18.3	51.4	69.2	35.6	8.410	84	6308	1514	168	336	383.000	8.0
23	7.49	15.7	49.9	66.6	32.0	13.100	0	8646	2358	655	1441	332.000	8.6
27	6,26	14.4	42.3	67.6	34.0	20.400	204	10812	2652	612	6120	322.000	10.8
28	7.04	15.7	49.2	69.9	32.0	13.600	0	10880	1496	1224	0	388.000	7.8
29	5.19	11.6	33.5	64.5	34.6	11.000	0	9020	1650	110	220	379.000	8.0
31	5.90	12.5	35.8	60.7	34.9	10.800	0	9180	1188	324	108	235.000	7.0
33	6.75	14.8	41.4	61.3	35.7	14.600	146	10950	2190	146	1168	254.000	7.2
34	6.57	14.3	40.2	61.2	35.6	9.050	0	7692	634	181	543	284.000	8.0
36	5.30	12.4	36.0	67.9	34.4	19.400	194	17460	1358	194	194	349.000	9.8
37	6.86	16.0	48.0	70.0	33.3	12.200	0	9028	1708	488	976	303.000	6.8

IDENTIFICAÇÃO	RADIOGRAFIA TORÁCICA			
	Aumento atrioventricular direito	Tronco pulmonar	Artéria lobar caudal	Padrão pulmonar
1	Não	S/A	S/A	Bronquial / Intersticial
2	Não	S/A	S/A	Bronquial
4	SIM	Aumentado	S/A	Bronquial / Intersticial
6	SIM	S/A	S/A	Bronquial
7	Não	Aumentado	S/A	Bronquial
8	SIM	Aumentado	S/A	Bronquial
9	Não	S/A	S/A	Bronquiectasia - Bronquial / Intersticial
10	SIM	S/A	S/A	Bronquial
11	SIM	Aumentado	Dilatada	Bronquial / Intersticial
12	SIM	S/A	S/A	Bronquial
13	Não	S/A	S/A	Bronquial
15	Não	S/A	S/A	Bronquial
16	Não	S/A	S/A	Intersticial
18	Não	S/A	S/A	Bronquial
19	Não	Aumentado	Dilatada	Bronquial
20	Não	S/A	S/A	S/A
22	SIM	S/A	S/A	Bronquial / Intersticial
23	Não	S/A	S/A	Bronquial
27	Não	S/A	S/A	Bronquial/Intersticial
28	Não	S/A	S/A	S/A
29	SIM	Aumentado	Dilatada	Intersticial
31	Não	S/A	S/A	Bronquial
33	SIM	S/A	Dilatada	Bronquial / Intersticial
34	Não	S/A	S/A	S/A
36	SIM	Aumentado	Dilatada	Intersticial
37	Não	S/A	S/A	Bronquial / Intersticial

S/A – Sem alteração

IDENTIFICAÇÃO	ECODOPPLERCARDIOGRAMA																	
	Degeneração Valva Tricúspide	DOPPLER COLORIDO		FUNÇÃO SISTÓLICA VD			FUNÇÃO DIASTÓLICA VD		PRESSÃO PULMONAR			ARTÉRIA PULMONAR						Presença Filarídeos
									Regurgitação Tricúspide		IDAP	Vpp (m/s)	Gpp (mmHg)	AP/AO	Regurgitação pulmonar			
		Insuficiência Tricúspide	Insuficiência Pulmonar	ONDA S m/s	TAPSE	FAC	E/A	E'/A'							VRT m/s	GRT mmHg	VPdP m/s	
1	Não	Não	Discreta	0.21	10.9	49	1.31	1	x	x	48	1.19	5.7	1.3	x	x	Não	
2	Não	Não	Não	0.3	14.1	26	1.29	1	x	x	55	1.19	5.7	1	x	x	Não	
4	Não	Discreta	Discreta	0.11	5.8	42	1.41	1	x	x	37	1.16	5,4	1	x	x	Não	
6	Não	Discreta	Discreta	0.2	5.8	42	1.41	0.7	x	x	37	1.16	5.4	1	x	x	Não	
7	Sim	Moderada	Não	0.17	11.2	22	1	0.5	2.48	24.5	59	0.79	2.5	1.2	x	x	Não	
8	Não	Não	Discreta	0.14	17	31	1.1	0.7	x	x	70	1.16	5.4	1.1	x	x	Não	
9	Não	Não	Não	0.08	15	22	1	0.9	x	x	29	1.39	7.8	0.9	x	x	Não	
10	Não	Não	Discreta	0.19	15.8	30	1.07	0.7	x	x	63	0.93	3.4	1.2	x	x	Artéria Pulmonar	
11	Não	Não	Discreta	0.17	12.5	33	1.05	1.1	x	x	50	1.6	4.6	1.1	x	x	Não	
12	Não	Não	Não	0.25	16.6	12	1.64	1.2	x	x	32	1.2	5.7	1	x	x	Não	
13	Não	Não	Moderada	0.22	12.7	28	1.3	0.8	2.93	34.4	57	1.49	8.9	1	x	x	Não	
15	Não	Não	Não	0.11	11.6	50	0.97	0.5	x	x	58	0.8	2.6	0.9	x	x	Não	
16	Não	Não	Não	0.28	11.7	38	1.3	0.6	x	x	38	0.73	2.1	0.8	x	x	Não	
18	Não	Não	Discreta	0.19	11.9	33	1.11	1.5	x	x	74	0.85	2.9	1	1.99	15.8	Artéria Pulmonar	
19	Não	Não	Discreta	0.1	3.7	38	1.03	0.8	x	x	42	1.15	5.3	1.2	x	x	Não	
20	Não	Não	Discreta	0.13	9.1	38	1.22	0.7	x	x	57	0.62	1.5	1.1	x	x	Não	
22	Não	Não	Não	0.17	5.2	26	1.09	1.1	x	x	42	1.19	5.6	1.1	x	x	Não	
23	Não	Discreta	Não	0.15	9.4	22	1.3	0.9	x	x	68	1.38	7.7	1.2	x	x	Não	
27	Não	Moderada	Não	0.23	16.4	47	0.91	0.9	x	x	55	1.3	6.8	1.1	x	x	Não	
28	Não	Discreta	Não	0.13	7.2	54	1.12	1.1	x	x	50	1.05	4.4	1.1	x	x	Não	
29	Não	Não	Não	0.27	12.1	42	0.85	0.9	x	x	43	1.26	6.4	1.1	x	x	Não	
31	Sim	Discreta	Não	0.18	10.2	34	0.94	0.7	x	x	53	1.31	6.8	1	x	x	Artéria Pulmonar	
33	Não	Não	Não	0.15	9.8	48	0.77	0.9	x	x	49	1.11	4.9	0.9	x	x	Não	
34	Não	Não	Discreta	0.1	8.7	20	1.11	0.8	x	x	58	1.1	4.9	1	x	x	Artéria Pulmonar	
36	Não	Discreta	Não	0.17	10.9	43	1.25	0.6	x	x	52	0.74	2.2	1	x	x	Artéria Pulmonar	
37	Não	Não	Moderada	0.24	1.68	30	1.25	1.3	x	x	42	1.03	4.3	1.1	x	x	Não	

TAPSE: excursão sistólica do plano anular tricuspídeo FAC: variação fracional da área do ventrículo direito; E/A: Relação onda E e onda A; E'/A': Relação onda E' e onda A'; VRT: Velocidade da regurgitação de tricúspide; GRT: Gradiente de pressão da regurgitação tricúside; IDAP: Índice de distesnsibilidade da artéria pulmonar; Vpp: Velocidade do pico da pulmonar; Gpp: Gradiente de pressão da artéria pulmonar; AP/AO: Relação artéria pulmonar (AP) e aorta (AO); VPdP: Velocidade da regurgitação da artéria pulmonar; GpdP: Gradiente de pressão da regurgitação pulmonar; X: sem regurgitação tricúspide ou pulmonar.

ANEXOS

Anexo 1 - Certificado da Comissão de Ética no Uso de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Aspectos clínicos e fatores predisponentes da infecção natural por *Dirofilaria immitis* em cães atendidos no Serviço de Cardiologia e Doenças Respiratórias do Setor de Pequenos Animais do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro", protocolada sob o CEUA nº 1870260819 (0000488), sob a responsabilidade de **Marta Fernanda Albuquerque da Silva** e equipe; **Nathália Marques de Oliveira Lemos**; **BRUNO RICARDO SOARES ALBERIGI DA SILVA**; **Alexandre Jose Rodrigues Bendas**; **Cristiano Chaves da Veiga Pessoa**; **Juliana Silva do Carmo**; **Karen Denise da Silva Macambira Barbosa** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **aprovada** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) na reunião de 23/09/2019.

We certify that the proposal "Clinical aspects and predisposing factors of natural *Dirofilaria immitis* infection in dogs treated at the Cardiology and Respiratory Diseases Service of the Small Animal Sector of the Veterinary Hospital of the Federal Rural University of Rio de Janeiro", utilizing 2000 Dogs (males and females), protocol number CEUA 1870260819 (0000488), under the responsibility of **Marta Fernanda Albuquerque da Silva** and team; **Nathália Marques de Oliveira Lemos**; **BRUNO RICARDO SOARES ALBERIGI DA SILVA**; **Alexandre Jose Rodrigues Bendas**; **Cristiano Chaves da Veiga Pessoa**; **Juliana Silva do Carmo**; **Karen Denise da Silva Macambira Barbosa** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **approved** by the Ethic Committee on Animal Use of the Veterinary Institute of Rural Federal University of Rio de Janeiro (CEUA/UFRRJ) in the meeting of 09/23/2019.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **10/2019** a **12/2020**

Área: **Medicina E Cirurgia Veterinária**

Origem: **Animais de proprietários**

Especie: **Cães**

Sexo: **Machos e Fêmeas**

Idade: **1 a 20 anos**

N: **2000**

Linagem: **Diversas raças**

Peso: **1 a 80 kg**

Local do experimento: Os exames clínicos, coleta de amostra sanguínea, eletrocardiograma, ecodopplercardiograma e radiografias torácicas serão realizados no Setor de Pequenos Animais do Hospital Veterinário da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (HVPA-UFRRJ), localizada na Rodovia BR 465, Km 7 s/n, Seropédica, Rio de Janeiro.

Seropédica, 02 de abril de 2021

Prof. Dr. Fabio Barbour Scott
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Carlos Alexandre Rey Matias
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Instituto de Veterinária da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Anexo 2 – Certificado da apresentação de trabalho científico em forma de slides, na VI semana acadêmica do Programa de Pós graduação em Medicina Veterinária da UFRRJ, realizado por plataforma Zoom, com dados obtidos na fase de inclusão do estudo.



Anexo 3 – Artigo “Unusual pulmonary thromboembolism in a *Dirofilaria immitis* infected dog”
publicado no periódico Brazilian Journal of Veterinary Medicine, volume 42, 2020.

CASE REPORT

Unusual pulmonary thromboembolism in a *Dirofilaria immitis* infected dog

Tromboembolismo pulmonar incomum em um cão infectado por *Dirofilaria immitis*

Bruno Albarigi^{1*}, Nathália Marques de Oliveira Lemos², Bernardo Hogueira de Farias³, Ean Córdova Pais de Almeida⁴, Flávia Mendes de Almeida⁵ & Norma Labarthe⁶

¹Veterinarian, Dsc. Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRJ, Seropédica, RJ, Brazil

²Veterinarian, Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRJ, Seropédica, RJ, Brazil

³Veterinarian, Independent researcher, São Pedro da Aldeia, Rio de Janeiro, Brazil

⁴Veterinarian, Dsc. Departamento de Ciências Básicas, Universidade Federal Fluminense - UFF, Nova Friburgo, RJ, Brazil

⁵Veterinarian, Dsc. Departamento de Patologia e Clínica Veterinária, Universidade Federal Fluminense - UFF, RJ, Brazil

⁶Veterinarian, Dsc. Programa de Pós-graduação Biológica, Ética e Saúde Coletiva, Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

Abstract

The nematode *Dirofilaria immitis* and its endosymbiont *Wolbachia* are the agents of canine heartworm (CHW) disease. The worm's main habitats are the pulmonary arteries, which elicit inflammation and disorders of the coagulation process. Clinical signs vary according to multiple factors, including worm burden, individual reaction, and duration of infection. This report describes an unusual case of pulmonary thromboembolism secondary to CHW infection. A 7-year-old female dachshund presented with a history of cough, dyspnea, and two syncope episodes. On physical examination, the oral mucosa was slightly discolored, the femoral pulse was weak, respiratory distress was present, and the abdomen distended. Echocardiography showed severe right atrioventricular and pulmonary artery enlargement and a large structure with high echogenicity in the artery. After the dog died naturally, the lungs and heart were examined. Only one worm was found in the right ventricle, and a large thrombus was found in the main pulmonary artery. Histologically, fibrin thrombi and fragments of parasites were present inside the pulmonary artery branches. These findings highlight the importance of a thorough clinical evaluation of CHW patients and confirm that only a few worms can threaten an animal's life. Therefore, veterinarians must enforce chemoprophylaxis once treatment is life threatening.

Keywords: heartworm, echocardiogram, thrombus, dog.

Resumo

O nematódeo *Dirofilaria immitis* e seu endossimbionte *Wolbachia* são os agentes etiológicos da dirofilariose canina (RW). Os principais habitats do verme são as artérias pulmonares, onde provoca inflamação e distúrbios de coagulação. Os sinais clínicos variam de acordo com vários fatores que incluem carga parasitária, reação individual do hospedeiro e tempo de infecção. O presente relato descreve um caso incomum de tromboembolismo pulmonar secundário à infecção por *D. immitis*. Uma fêmea dachshund de 7 anos apresentou tosse, dispnéia e dois episódios de síncope na última semana. No exame físico, a mucosa oral estava levemente hipocrômica, o pulso femoral fraco, presença de dispnéia e distensão abdominal. O ecocardiograma mostrou grave aumento atrioventricular direito e da artéria pulmonar além de uma grande estrutura de ecogenicidade aumentada na artéria pulmonar principal. Após a morte natural do cão, pulmões e coração foram submetidos a avaliação macroscópica e microscópica. Apenas um verme foi encontrado no ventrículo direito e um trombo grande foi encontrado na artéria pulmonar principal. Histologicamente, trombos de fibrina e fragmentos de parasitas estavam presentes dentro dos ramos da artéria pulmonar. Esses achados ressaltam a importância de uma avaliação clínica completa dos pacientes com *D. immitis* e confirmam que apenas alguns vermes podem ameaçar a vida de um animal. Portanto, os médicos veterinários devem prescrever a profilaxia, uma vez que a doença e o tratamento da mesma podem ser fatais.

Palavras-chave: verme-do-coração, ecocardiograma, trombo, cão.

Introduction

Dirofilaria immitis is a nematode that inhabits the pulmonary vessels and right chambers of the heart that commonly affects dogs through transmission by their vector mosquitoes (Rawlings, 1986).



How to cite: Albarigi 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, e20200320. <https://doi.org/10.29354/BJM/2020-0320>

Financial support: NIMOL - Received scholarship from FAPERJ (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro). BA, BNF, ECPA, FMA, NL - None.

Conflict of interests: No conflict of interests declared concerning the publication of this article.

Received: October 26, 2020.

Accepted: November 03, 2020.

The study was carried out at Laboratório de Quimioterapia Experimental em Parasitologia Veterinária, Departamento de Parasitologia Animal, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRJ, Seropédica, RJ, Brazil.

***Correspondence:**

Bruno Albarigi
Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRJ, Rodovia BR 465, Km 7, Campus Universitário, Bairro Zona Rural, CEP 23897-000 - Seropédica (RJ), Brazil
E-mail: bruno.albarigi@gmail.com

Copyright Albarigi et al. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License, which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

This parasite and its endosymbiont *Wolbachia* are the agents of canine heartworm (HW) disease, which can present asymptomatic to a severe form of the disease depending on the parasitic burden, duration of infection, and individual immunological reactions in the face of the infection (Bowman & Atkins, 2009; Dillon et al., 1995). Disease tends to be more severe in long-term infections with heavy worm burden, and clinical signs may include cough, dyspnea, intolerance to exercise, syncope, ascites, and even death (Rawlings, 1986; McCall et al., 2008; Labarthe et al., 2009; Mircean et al., 2017).

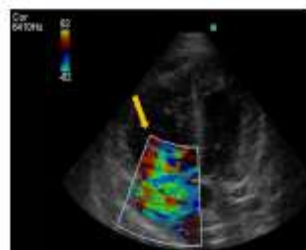
The occurrence of pulmonary thromboembolism (PTE), due to the presence of adult worms, can obliterate the passage of blood from the heart to the lungs and is well known and described, although rare (McHaffie, 2012). The presence of PTE is a life-threatening event due to the possibility of completely obstructing the blood flow to the lungs, although the obstruction can be partial, leading to Cor pulmonale (MacNee, 1994; Haddad et al., 2008; McCall et al., 2008).

Although the presence of the parasite and its endosymbiont, *Wolbachia*, elicits PTE through physical mechanisms and direct inflammation (Rawlings, 1986; Calvert & McCall, 1998), indirect factors may also contribute to its development. These factors include platelet function activation, fibrinolytic activators, and factor Xa, which are common during heartworm infection (González-Miguel et al. 2015; Takashima et al., 2017; Diosdado et al., 2020). The aim of this report was to describe an unusual case of pulmonary thromboembolism secondary to *D. immitis* infection.

Case description

A 7-year-old dachshund spayed bitch weighing 9 kg presented with cough and dyspnea for the past seven days. She presented with two syncope episodes during this week. The owner reported that the animal was under alternative treatment for HW disease based on doxycycline and moxidectin. On physical examination, the oral mucosa was slightly discolored, the femoral pulse was weak, respiratory distress was present, and the abdomen distended. Cardiac auscultation revealed the presence of systolic heart murmur grade III/VI at the tricuspid valve area, and diastolic murmur at the pulmonary valve area grade III/VI. Pulmonary auscultation crackle sounds were mainly heard in the right lung. Based on the critical clinical conditions, the patient was submitted to oxygen therapy and additional examinations to determine the main cause of the signs.

Abdominal ultrasound, echodopplecardiography, and electrocardiogram (ECG) were performed immediately. Ultrasound showed hepatomegaly, dilation of the liver's blood vessels, and a mild volume of abdominal fluid. Echocardiography in B-mode showed severe right atrioventricular dilatation, slight hypertrophy of the right ventricular wall and interventricular septum, reduction in the left ventricular lumen, and enlargement of the pulmonary artery. During the examination of the main pulmonary artery, a large structure with high echogenicity was observed. The evaluation with color flow Doppler demonstrated the presence of severe tricuspid regurgitation (Figure 1) and moderate pulmonary regurgitation (Figure 2). The evaluation using continuous-wave Doppler showed that tricuspid regurgitation had a maximum peak velocity of 4.48 m/s.



→ Shows the presence of severe tricuspid regurgitation.

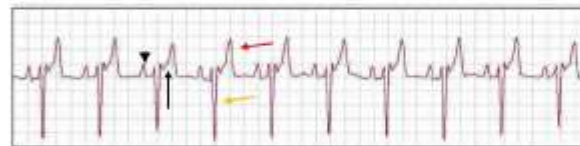
Figure 1. Echocardiographic image in the apical four-chamber parasternal view, showing presence of severe tricuspid regurgitation.



→ shows moderate pulmonary regurgitation.

Figure 2. Echocardiographic Color Doppler image of the right ventricular outflow tract showing moderate pulmonary regurgitation.

The EKG (DII lead; N; 50 mm/s) showed the presence of a *p-pulmonale* wave (0.5mV), the presence of an elevated ST segment (0.4 mV), an increase in the T wave amplitude (25% greater than the R wave) the presence of a deep S wave (-2.2 mV), right cardiac axis deviation (between -90° and -120°), and an average heart rate of 150 bpm (Figure 3).



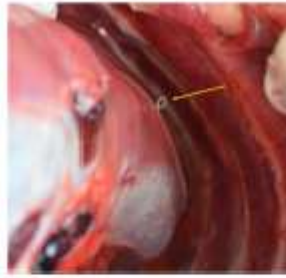
▼ *p-pulmonale* wave
 † Elevated ST segment
 → Increased in the T wave amplitude
 - Deep S wave.

Figure 3. Electrocardiogram (DII lead; N; 50mm/s) showing presence of *p-pulmonale* wave, elevated ST segment, an increase in the T wave amplitude and presence of deep S wave.

Before chest radiography and therapeutic approach could be performed, the patient died due to cardiorespiratory arrest.

After the owner's consent for *postmortem* examination of the thorax, the thoracic cavity was opened and examined. Only two female worms were found. One worm was found free in the cavity (Figure 4) and the other was found entangled at the *trabeculae carneae* (Figure 5) of the right ventricle. The right chambers of the heart were enlarged, and red-blue areas were observed in the right lobes (superior, middle, and inferior) of the lung (Figure 6). A thrombus of approximately 5cm in length was found in the main pulmonary artery (Figure 7). Lung samples were individually fixed in 10% formaldehyde and sent for histopathological evaluation.

Histologically the lung parenchyma showed areas of atelectasis contiguous to compensatory emphysema and diffuse thickening of alveolar walls with the presence of macrophages also observed inside the alveolar cavity. Thickening of the artery wall and intima with villous projections was observed in the main pulmonary artery and its branches inside the parenchyma (Figures 8, 9). Necrotic areas surrounded by inflammatory cells and fibroblasts were also observed. Fibrin thrombi, some already organized and recanalized, were present inside pulmonary artery branches in the parenchyma. Fragments of parasites inside the artery branches (Figure 10) and a large fibrin thrombus was seen in the main pulmonary artery (Figure 11).



→ Worm free in the cavity.

Figure 4. Postmortem examination of the dog which died due to heartworm infection showing a free worm in the thoracic cavity.



→ Entangled worm at the trabeculae carneae.

Figure 5. Post mortem examination of the dog which died due to heartworm infection showing an entangled worm at the trabeculae carneae of the right ventricle.



→ Enlargement of cardiac right chambers.

→ Red-blue areas were in the right lobes of the lung.

Figure 6. Postmortem examination of the dog which died due to heartworm infection of heart and lungs showing enlargement of cardiac right chambers and red-blue areas in the right lobes of the lung.



Figure 7. Thrombus of approximately 5 cm long found in the main pulmonary artery of the dog which died due to heartworm infection.



H&E Staining

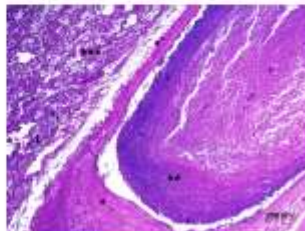
*Thrombus

**Thickening of artery wall

***Necrosis area

→ Villous projection

Figure 8. Lung of the dog which died due to heartworm infection showing thickening of an artery wall, a thrombus attached and villous projection. Extensive necrosis area adjacent to the artery.



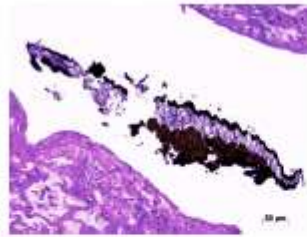
H&E Staining

*Thickened artery wall

**Thrombus

***Area of alveolar necrosis

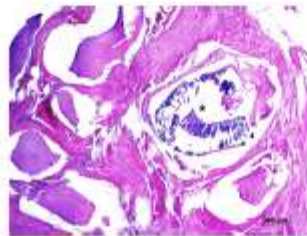
Figure 9. Lung of the dog which died due to heartworm infection showing thrombus inside a thickened wall artery. Extensive alveolar necrosis in the parenchyma adjacent to the artery.



100. Staining

*Worm fragment.

Figure 10. Lung of the dog which died due to heartworm infection showing a necrotized thrombus showing a worm fragment.



100. Staining

*Fragment of parasite.

Figure 11. Lung of the dog which died due to heartworm infection showing a fragment of parasite in the lumen of an artery branch.

Discussion

Although the patient presented with clinical signs compatible with HW infection and with the previous treatment the dog was receiving, further investigation was needed to exclude other causes of heart or lung diseases (American Heartworm Society, 2020) and to evaluate the extension of the lesions.

Physical examination showed signs of decreased cardiac output (discolored oral mucosa, weak femoral pulse, and distended abdomen), suggesting that the pathological process was compromising heart function. However, it was necessary to perform the requested exams to ensure the extent of the lesions and to lead treatment (Gompf, 2008; American Heartworm Society, 2020). Lung sounds detected, despite classically indicating cardiogenic pulmonary edema, when evaluated with the other physical examination findings (abdominal distention, murmur in the pulmonary and tricuspid areas) were not consistent. These findings suggested the inflammatory onset in the lungs due to HW disease (Atwell, 1988; Ames & Atkins, 2020), since the patient was known to be HW-infected.

Echocardiographic evaluation suggested pulmonary hypertension as a consequence of the thrombus. This was confirmed by the absence of morphological abnormalities at the tricuspid

103

References

- American Heartworm Society - AHS. (2020). *Current canine guidelines for the prevention, diagnosis and management of heartworm (Dirofilaria immitis) infection in dogs*. USA: AHS. Retrieved in 2020, August 23, from https://d3f8h8d8qgm2.cloudfront.net/images/pdf/2020_AHS_Canine_Guidelines.pdf?1587934824
- Ames, M. E., & Atkins, C. E. (2020). Treatment of dogs with severe heartworm disease. *Veterinary Parasitology*, 289, 109111. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109111>. PMID:32521302
- Atwell, R. B. (1988). Clinical signs and diagnosis of canine dirofilariasis. In: P. F. L. Bootham & R. B. Atwell (Eds.), *Dirofilaria immitis* (pp. 61-81). Boca Raton: CRC Press.
- Bowman, D. D., & Atkins, C. E. (2009). Heartworm biology, treatment, and control. *Veterinary Clinical small Animal Practice*, 39(6), 1027-1038. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2009.06.003>
- Calvert, C. A., & McCall, J. W. (1998). Canine heartworm disease. In P. R. Fox (Ed.), *Canine and feline cardiology* (pp. 559-549). USA: Saunders.
- Carrolin, E., Morchón, R., González-Miguel, J., Simón, F., Juste, M. C., & Montoya-Alonso, J. A. (2020). Variation of D-dimer values as assessment of pulmonary thromboembolism during adulticide treatment of heartworm disease in dogs. *Veterinary Parasitology*, 195(1-2), 104-111. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.05.005>. PMID:33384681
- Dillon, A. R., Brawner, W. R., & Hanshew, L. (1995). Influence of number of parasites and exercise on the severity of heartworm disease in dogs. In *Proceedings of the American Heartworm Society Symposium*. Batavia: American Heartworm Society.
- Disodado, A., Simón, F., Morchón, R., & González-Miguel, J. (2020). *Dirofilaria immitis* possesses molecules with anticoagulant properties in its excretory/secretory antigens. *Parasitology*, 147(5), 559-565. <https://doi.org/10.1017/S0008675X20000704>. PMID:32902384
- Falcón-Cerdán, Y., Montoya-Alonso, J. A., Cano-Vadillo, A., Mates-Rivera, J. I., & Carrolin, E. (2019). Persistence of pulmonary endarteritis in canine heartworm infection 10 months after the eradication of adult parasites of *Dirofilaria immitis*. *Veterinary Parasitology*, 272, 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.07.008>
- Gompt, R. The history and physical examination (2008). In F. W. K. Smith Junior, L. P. Tilley, M. A. Oyama, & M. M. Slepper (Eds.), *Manual of canine and feline cardiology* (4th ed., pp. 2-23). USA: Saunders. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-2268-2.10001-4>
- González-Miguel, J., Morchón, R., Siles-Lucas, M., & Simón, F. (2019). Fibrinolysis and proliferative endarteritis: two related processes in chronic infections? The model of the blood-borne pathogen *Dirofilaria immitis*. *PLoS One*, 14(4), e024445. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.024445>. PMID:3144445
- Haddad, F., Doyle, R., Murphy, D. J., & Hunt, S. A. (2008). Right ventricular function in cardiovascular disease, part I: pathophysiology, clinical importance, and management of right ventricular failure. *Circulation*, 117(13), 1717-1731. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.753884>. PMID:18378625
- Kramer, L., & Genchi, C. (2014). Where are we with Wolbachia and doxycycline: an in-depth review of the current state of our knowledge. *Veterinary Parasitology*, 208(1-2), 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.03.028>. PMID:24813786
- Latvarre, N., Balva, J., & Campos, J. (2009). *Dirofilariasis*. In C. B. Marcondes (Eds.), *Doenças transmitidas por artrópodos* (pp. 283-299). Ribeirão Preto: Atheneu.
- MacNee, W. (1994). Pathophysiology of our pulmonary in chronic obstructive pulmonary disease. Part two. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 150(4), 1158-1168. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.150.4.702453>. PMID:7929453
- McCall, J. W., Genchi, C., Kramer, L. H., Ciaramita, L., & Venco, L. (2008). Heartworm disease in animals and humans. *Advances in Parasitology*, 66(1), 193-285. [https://doi.org/10.1016/S0065-2601\(08\)00104-2](https://doi.org/10.1016/S0065-2601(08)00104-2). PMID:18486694
- McHaffie, J. (2022). *Dirofilaria immitis* and *Wolbachia* pipiens: a thorough investigation of the symbiosis responsible for canine heartworm disease. *Parasitology Research*, 120(2), 499-502. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-2644-5>. PMID:33922235
- Mirzan, M., Ionica, A. M., Mirzan, V., Gyorko, A., Codrea, A. R., Tabaran, F. A., Tauloveci, M., & Dumitrache, M. O. (2017). Clinical and pathological effects of *Dirofilaria repens* and *Dirofilaria immitis* in a dog with a natural co-infection. *Parasitology International*, 66(3), 336-334. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2017.02.003>. PMID:28220444
- Rawlings, C. A. (1986). *Heartworm disease in dogs and cats*. USA: Saunders.
- Rottero, C., Vasser, L. C., Kollman, H. B., Masseau, J., Rozanski, E., Clercq, C., Williams, K., Abbott, J., Borgardt, M., & Scarsen, B. A. (2020). ACVIM consensus statement guidelines for the diagnosis, classification, treatment, and monitoring of pulmonary hypertension in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 54(2), 549-573. <https://doi.org/10.1111/jvim.15775>. PMID:32065428
- Santilli, R., Molise, N. S., Portant, R., & Perogo, M. (2020). Formação e interpretação das ondas eletrocardiográficas. In R. Santilli, N. S. Molise, R. Portant & M. Perogo (Eds.), *Eletrocardiografia de cães e gatos diagnóstico de arritmias* (2. ed., pp. 35-70). São Paulo: MedVet.
- Shapiro, L. Cell injury and cell death (2009). In L. Shapiro & S. Lohani. *Pathology & parasitology for veterinary technicians* (2nd ed., pp. 8-23). Boston: Cengage Learning.

- Sutton, R. H. & Alwell, R. B. (1985). Lesions of pulmonary pleura associated with canine heartworm disease. *Veterinary Pathology*, 22(6), 637-639. <http://dx.doi.org/10.1177/030666488502200603>. PMID:4082390.
- Takahama, Y., Onoda, I., Chioi, S.-P. & Etoch, K. (2017). *In vitro* canine platelet aggregation caused by *Dirofilaria immitis* extract. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 79(2), 387-392. <http://dx.doi.org/10.1292/jvms.16-0433>. PMID:28049923.
- Turner, J.D., Langley, R. S., Johnston, K.L., Gentil, E., Ford, L., Wu, B., Graham, M., Sharpley, F., Statko, B., Praelman, E., & Taylor, M. I. (2009). *Methicillin*/lipopeptide stimulates innate and adaptive immunity through Toll-like receptors 2 and 6 to induce disease manifestations of filariasis. *The Journal of Biological Chemistry*, 284(33), 22364-22378. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M901528200>. PMID:19438389.
- Wagenvoort, C. A. (1995). Pathology of pulmonary thromboembolism. *Chest*, 107(1, Suppl), 105-175. <http://dx.doi.org/10.1378/chest.1071175>. PMID:8613322.
- West, J. (2014). *Doenças vasculares*. In J. B. West (Eds.), *Fisiopatologia pulmonar: princípios básicos* (8. ed., pp.122-147). Porto Alegre: Artmed.
- Yoon, W. K., Kim, Y. W., Sult, S. L., Choi, B., Lee, S. G., & Hyun, C. (2017). Evaluation of cardiopulmonary and inflammatory markers in dogs with heartworm infection during treatment with the 2014 American Heartworm Society recommended treatment protocol. *Parasites & Vectors*, 10(Suppl 2), S15. <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-017-2477-7>. PMID:29143684.

Anexo 4 – Artigo “Canine heartworm: natural infection along remote coastal area of Rio de Janeiro” publicado no periódico Brazilian Journal of Veterinary Medicine, volume 43, 2021.

CASE REPORT

Canine heartworm: natural infection along remote coastal area of Rio de Janeiro

Dirofilariose canina: infecção natural ao longo de área costeira remota do Rio de Janeiro

Mário dos Santos Filho^{1*}, Bruno Albarigi¹, Dabara Macedo Pedrosa Balles¹, Nathália Marques de Oliveira Lemos², Alexandre José Rodrigues Mendes³ & Jonimar Pereira Paiva⁴

¹Veterinarian, MSc, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (PPGCV), Departamento de Medicina e Cirurgia Veterinária (DMCV), Instituto de Veterinária (IV), Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), Seropédica, RJ, Brazil

²Veterinarian, DSc, DMCV, IV, UFRRJ, Seropédica, RJ, Brazil

³Veterinarian, Autonomous, Atlanta, GA, USA

⁴Veterinarian, PPGCV, DMCV, IV, UFRRJ, Seropédica, RJ, Brazil

Abstract

Dirofilaria immitis is a mosquito-borne nematode that often infects dogs worldwide and causes what is commonly referred to as heartworm disease. The infection is recognised as being more prevalent in tropical and subtropical coastal regions; however, due to recent climate changes, it has been detected in regions previously considered free of infection. The asymptomatic animals presented in this case report had their infections detected opportunistically. One was presented for a routine checkup and the other for pre-operative evaluation. In the checkup case, heartworm disease was suspected after auscultation. In the presurgical case, microfilariae were found when cytology was performed. Both dogs had *D. immitis* infection confirmed by antigen detection using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) test. The microfilariae were confirmed to be *D. immitis*. This report highlights the unsuspected finding of the infection in a region where canine heartworm disease has not been a concern. It throws light on the importance of constant surveillance of animal vector-borne diseases in areas of ecotone. Surveillance must be reinforced when natural resources are disturbed, especially in the face of global climate change.

Keywords: *Dirofilaria immitis*, heartworm, zoonosis, One Health.

Resumo

Dirofilaria immitis é um nematóide transmitido por mosquitos que frequentemente infecta cães em todo o mundo. A infecção é reconhecida como sendo mais prevalente nas regiões costeiras tropicais e subtropicais, porém, devido às recentes mudanças climáticas, infecções foram detectadas em regiões antes consideradas livres de infecção. Os animais assintomáticos aqui apresentados tiveram sua infecção detectada por acaso. Um foi apresentado para exame de rotina e o outro para avaliação pré-operatória. Durante o check-up, suspeitou-se de dirofilariose devido ao resultado da ausculta e o outro apresentou microfilariae em citologia realizada. Ambos os cães tiveram infecção por *D. immitis* confirmada pelo teste ELISA (“enzyme-linked immunosorbent assay”) para detectar antígenos e as microfilariae foram confirmadas como *D. immitis*. Este relato destaca o achado inesperado de dois cães infectados com *D. immitis* em uma região onde a “doença do verme do coração” canino não era uma preocupação. Ele lança luz sobre a importância da vigilância constante de doenças transmitidas por vetores animais em áreas de ecótono. A vigilância deve ser reforçada quando os recursos naturais são perturbados, especialmente em face das mudanças climáticas globais.

Palavras-chave: *Dirofilaria immitis*, verme do coração canino, zoonose, Saúde Única.

Introduction

Dirofilaria immitis is a mosquito-borne nematode and an agent of canine heartworm disease. Dogs are the most adapted hosts; therefore, most dogs are asymptomatic when infected. When they do develop disease, it is marked by chronic and insidious cardiopulmonary abnormalities (American Heartworm Society, 2020). Other mammals can be infected (Magi et al., 2008; McCall 2005; Penezic et al., 2014; Trotti et al., 1997), including humans (Grapsas et al., 2018; Milanez-de-Campos et al., 1997). This transmission may occur from different vector mosquito species (Labarthe et al., 1998a; Lourenço-de-Oliveira & Deane, 1995).



How to cite: Santos-Filho M, Albarigi B, Balles D, M. P. Lemos, N. M. O. Bandas, A. J. R., & Paiva J. P. (2021). Canine heartworm: natural infection along remote coastal area of Rio de Janeiro. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, 43, e000020. <https://doi.org/10.29354/BJM/000020>

Received: August 20, 2020.
Accepted: February 26, 2021.

*Correspondence
Mário dos Santos Filho
Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro - UFRRJ
Rodovia BR 465, Km 7, Campus Universitário, Zona Rural
CEP 23897-000 - Seropédica (RJ), Brazil
E-mail: mariosantoszf@gmail.com

In memoriam

Copyright Santos-Filho et al. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium provided the original work is properly cited.

In Brazil, *D. immitis* is one of the most prevalent arthropod-borne disease in dogs, with an approximate prevalence of 23.1% (Labarthe et al., 2014). Rio de Janeiro is a coastal state and has a favorable climate for vector mosquitoes to develop (Betzdas et al., 2019). The prevalence of infected dogs varies according to the region due to climate and population characteristics. Examples of this variation in prevalence can be seen in the following cities: Armação dos Búzios (62.2%), Niterói (58.6%), Cabo Frio (27.5%) and Mangaratiba (16.3%) (Labarthe et al., 2014).

Different mosquito species have been reported as heartworm disease vectors in Rio de Janeiro. *Ochletotatus taeniorhynchus* and *Ochletotatus scapularis* were identified as possible vectors in the coastal lowlands of Rio de Janeiro (Loureiro-de-Oliveira & Deane, 1995) and have been subsequently confirmed as primary heartworm vectors (Labarthe et al., 1998b). In the same area, *Culex quinquefasciatus* was considered as secondary vector (Labarthe et al., 1998b). *Aedes aegypti* from Rio de Janeiro presents vectorial competence for heartworm disease (Serrão et al., 2001). However, its epidemiological role in the transmission of the disease in Rio de Janeiro remains to be clarified.

Infected animals can be asymptomatic or demonstrate symptoms related to the presence of the parasites (Bowman & Atkins, 2009). These symptoms can be mild, such as coughing and reduced physical activity. When left untreated, symptoms may progress to dyspnea, syncope, congestive heart failure and even death (Atwell et al., 1988).

Heartworm infection is confirmed by the detection and identification of microfilariae or by the detection of the *D. immitis* antigen in blood samples (American Heartworm Society, 2020). The presence of *D. immitis* in infected dogs signals the presence of mosquito vectors. These mosquito species may vector heartworm or other pathogens to different host species, including humans. Therefore, a heartworm-infected dog may be a useful sentinel to warn of human mosquito-borne health hazards (Gancrini et al., 2003; Gratz, 2004; Mitchell, 1995). The concept of One Health in Veterinary Science represents more than just the impact of zoonoses on human health; it should be deeply considered and studied in a broader perspective. The presence of infected animals with pathogens vectored by eclectic mosquitoes that may vector human pathogens highlights this concept (Backer & Miller, 2016; Radatz et al., 2006; Schmidt, 2009).

In order to identify the presence of an infection where it is infrequent and neglected and to show the importance of canine heartworm surveillance, two autochthonous cases of canine heartworm disease occurred in Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil, are described.

Case reports

Patient 1

A 2-year-old mixed breed intact male dog presented for clinical care at the small animal veterinary hospital of the Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro in November 2016. The patient was presented for a routine check-up. The pet's owner reported that the animal had lived outdoors in Seropédica (22°44'29.7"S 43°42'03.5"W) (Figure 1), since he was born and had never traveled elsewhere. The dog was in good health. Upon pulmonary auscultation, harsh expiratory sounds were detected. Thoracic radiographs and blood work (complete blood cell counts, clinical biochemistry, microfilariae and heartworm antigen tests) were performed. The dog tested positive for microfilariae and heartworm antigens. No other changes were observed in blood work. X-rays showed slight bronchial and interstitial patterns suggesting bronchopathy. After diagnosis of the heartworm infection, echocardiography was performed, and it revealed the presence of parallel lines in the main pulmonary artery, further confirming infection with *D. immitis*.

Patient 2

A 7-year-old German Shepherd intact male dog presented at the small animal veterinary hospital of the Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro in October 2017 for preoperative evaluation of a lump in the paw. At this visit, microfilariae were detected as a result of cytology. The owner reported that the animal lived outdoors in Seropédica (22°44'10.7"S 43°41'44.4"W) (Figure 1), had contact with free-roaming dogs, and had never been taken elsewhere. During thoracic auscultation, a grade I/VI murmur in the mitral area and harsh respiratory sounds were detected. According to the pet's owner, the patient experienced sporadic episodes of coughing, but never showed signs

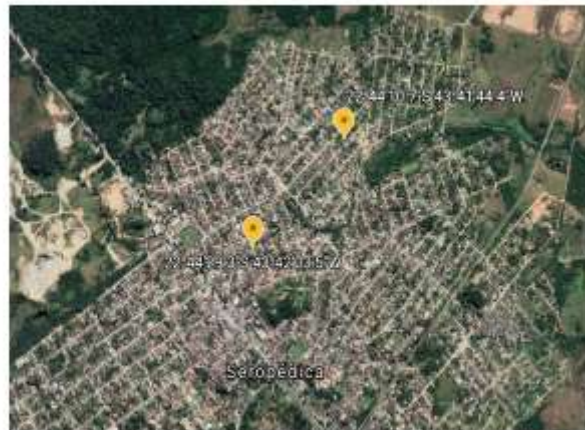


Figure 1. Map showing the home location of autochthonous cases reported in Seropédica, RJ, Brazil.

of dyspnea. The dog tested positive for *D. immitis* antigen, but no microfilariae were detected. A diffuse bronchial pattern was detected on radiography, and Doppler echocardiography showed the presence of parallel lines in the main pulmonary artery, which further confirmed infection with *D. immitis*.

Discussion

The municipality of Seropédica is part of the Metropolitan region of Rio de Janeiro, RJ. Canine heartworm infection is known to occur in most districts of the city of Rio de Janeiro (Labarthe et al., 1997), although there are information gaps in other areas of the municipality. Seropédica is one of those areas where no survey has been conducted.

Seropédica shares a tropical climate with Rio de Janeiro city (Lohmann et al., 1993), is only 20 km away from the Atlantic Ocean, and is adjacent to Mario Xavier National Forest. Despite having similar environmental characteristics as the Rio de Janeiro lowlands, where canine infections are frequent (prevalence ranges from 2.7% to 58.6%) (Labarthe et al., 1997, 2014), and having a Veterinary School, canine heartworm infection has received little attention (Genchi & Kramer, 2020).

Many environmental changes, including urban improvements that have impacted the national forest, have taken place in the past 30 years (Farias et al., 2020). It is reasonable to expect that these impacts would have diminished the natural vector population density and, as a consequence, reduced heartworm prevalence (Clements, A. N., 1996). Paradoxically, the number of opportunistic heartworm cases reported here suggests that the canine infection rate has increased (Traversa, D. et al., 2010). Therefore, other factors may be important and must be identified.

Canine population mobility is part of the modern way of life. Therefore, it would not be surprising to learn that the students of the local university travel back and forth between Seropédica and endemic areas with their dogs unprotected (Alfaro et al., 2011). This behavior is known to spread heartworm disease to naive neighborhoods (American Heartworm Society [AHS], 2020). Another factor to be considered is environmental disturbances in nearby forests. Since the most efficient heartworm vector mosquito species in Rio de Janeiro

lowlands are known to be the sylvatic *Ochlerotatus taeniorhynchus* and *Ochlerotatus scapularis* (Labrunhe et al., 1998a; Macêdo et al., 1998), environmental changes that have occurred in the forest may have displaced those vectors, forcing them to colonize new areas.

In addition, global warming favors mosquitoes, allowing them to produce higher numbers of new generations over a given time, thereby increasing local population density (Campbell-Lendrum et al., 2015). As environmental temperatures rise, the heartworm extrinsic cycle is accelerated, resulting in more efficacious and faster transmission (Carvalho et al., 2002; Christensen & Hollander, 1978; Knight & Lok, 1998; Ferreira, A. F. et al., 1999).

Other mosquito synanthropic species that may play a vector role in this geographic area are *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. Although their heartworm vector capacity throughout Brazil is unknown, both species are endemic in Seropédica (Sanavria et al., 2007), and they have been shown to naturally vector heartworm in different areas of the world (Ahid & Lourenço-de-Oliveira, 1999; Cancrini et al., 2003; Gormisley & Wesson, 1995; Ledesma & Harrington, 2011; Nayar & Knight, 1999; Serrão et al., 2001).

Once these variables are considered, the presence of microfilaremic dogs, high density of competent synanthropic vector mosquito populations, and unprotected dogs exposed to the mosquitoes, it can be suggested that heartworm is becoming native to the area.

In an area where canine heartworm disease is rare, clinical signs may be misinterpreted when they are unspecific. In Seropédica, where both dogs described above have lived all their lives, one was 2-year-old that had the infection detected because he was presented with harsh lung sounds. This finding is rare at such a young age (Kozarski, 2020), although frequent in canine heartworm infections (Alberigi et al., 2020; Bowman & Atkins, 2009). The older heartworm-infected dog presented would have gone undetected if microfilariae had not been present in the cytology, and his clinical signs could have been misinterpreted as senile bronchitis (Kozarski, 2020).

Considering that the socioeconomic condition of the residents of Seropédica is poor, resources there are focused mainly on human needs (Silva et al., 2020). Therefore, pet infection prophylaxis is often not maintained, leaving animals to become potential reservoirs of parasites that may be a threat to human health.

These factors highlight the need for continuous surveillance of canine infections, keeping in mind that biomes are mistreated constantly, and that pets may be good hazard sentinels. Nature changes as a reaction to insults, repeatedly eliciting new life cycle characteristics that may impact human and non-human animal well-being. Therefore, veterinarians need to be updated and diligently work to prevent and detect infections such as heartworm disease.

Conclusion

These two case reports demonstrate that infection with *D. immitis* can occur even in places where it is not usually found, provided that there are favorable climatic conditions for the presence of vectors and hosts. In these environments, veterinarians must prioritize diagnosis and prevention of infections.

Acknowledgements

Norma Labarthe for the critical analysis of the manuscript.

Ethics statement

This study was authorized by the animals owners through formal consent for disclosure of data and images for academic purposes.

Financial support

MSF - The present work was carried out with the support of the Coordination of Improvement of Higher Education Personnel - Brazil (CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) - Financing Code 001/NMOL - received scholarship from FAPERJ (Fundação de Apoio a Ciência, Tecnologia e Inovação do Rio de Janeiro), BA, DMFB, AJRB, IPP - none.

Conflict of interests

MSF, BA, DMPB, NMOL, AJRB - no conflict. JPP - deceased.

Authors' contributions

MSF and NMOL assisted the reported patients and contributed to the writing of the manuscript. DMPB - Contributed to the writing of the manuscript and to the translation into English. BA - contributed to the idealization and writing of the manuscript. AJRB - contributed to the idealization and writing of the manuscript. JPP - contributed to the idealization of the manuscript.

Availability of complementary results

All information obtained as a result of the study is included in the manuscript.

The animals reported were treated at the Veterinary Hospital of the Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

References

- Abad, S. M. M., & Lourenço-de-Oliveira, B. (2009). Mosquitos vetores potenciais de dirofilariose canina na Região Nordeste do Brasil. *Revista de Saúde Pública*, 33(6), 560-565. <http://dx.doi.org/10.1590/S0034-8969.2009006000007>. PMID:19689372.
- Alberigi, B., Fernandes, J. I., Paiva, J. P., Mendes-de-Almeida, F., Brachfuss, F., Merlo, A., & Lubarinho, N. (2007). Efficacy of semi-annual therapy of an extended-release injectable moxidectin suspension and oral doxycycline in *Dirofilaria immitis* naturally infected dogs. *Parasites & Vectors*, 1(1), 503. <http://dx.doi.org/10.1186/1307-0024-04380-3>. PMID:18023664.
- Alimi, E., Galar, L., Stoll, B., Chappuis, F., & Loutan, L. (2011). Urbanisation and infectious diseases in a globalised world. *The Lancet Infectious Diseases*, 11(1), 131-141. [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(10\)70201-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70201-1). PMID:21272703.
- American Heartworm Society. (2020). *Current Canine Guidelines for the Prevention, Diagnosis and Management of Heartworm (Dirofilaria immitis) Infection in Dogs*. https://el38t8ackhngm2.cloudfront.net/images/pdf/2020_AHS_Canine_Guidelines.pdf?1580934824.
- Atwell, R. B., Sutton, R. H., & Moodie, E. W. (1988). Pulmonary changes associated with dirofilariosis (*Dirofilaria immitis*) and concurrent antigenic exposure in dogs. *Journal of Comparative Pathology*, 98(3), 349-361. [http://dx.doi.org/10.1016/0021-0929\(88\)90043-6](http://dx.doi.org/10.1016/0021-0929(88)90043-6). PMID:3302240.
- Baker, L. C., & Miller, M. (2016). Sentinel animals in a one health approach to harmful cyanobacterial and algal blooms. *Veterinary Sciences*, 3(2), 8. <http://dx.doi.org/10.3390/Vet3020008>. PMID:27152385.
- Santos, A. I. R., Branco, A. S., da Silva, B. R. S. A., Paiva, J. P., de Miranda, M. G. N., Mendes-de-Almeida, F., & Lubarinho, N. V. (2019). Mosquito abundance in a *Dirofilaria immitis* hotspot in the eastern state of Rio de Janeiro, Brazil. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 18, 1003120. <https://doi.org/10.1016/j.vpr.2019.1003120>. PMID:31706177.
- Bowman, D. D., & Atkins, C. E. (2009). Heartworm biology, treatment, and control. *Veterinary Clinical Small Animal Practice*, 39(6), 1127-1158. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vsm.2009.06.003>. PMID:19913367.
- Campbell-Lendrum, D., Manga, L., Ragojoko, M., & Sommerfeld, J. (2015). Climate change and vector-borne diseases: What are the implications for public health research and policy? *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 370(1655), e20150552. <http://dx.doi.org/10.1098/rstb.2015.0552>. PMID:25688013.
- Cancrini, G., Di Ragghorn, A. F., Ricci, I., Tessari, C., Gabrielli, S., & Petroselli, M. (2003). *Aedes albopictus* is a natural vector of *Dirofilaria immitis* in Italy. *Veterinary Parasitology*, 118(1-4), 195-202. [http://dx.doi.org/10.1016/S0167-2803\(03\)00101-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-2803(03)00101-0). PMID:14720167.
- Carvalho, S. C., Martins-Junior, A. J., Lima, J. B., & Valle, D. (2002). Temperature influence on embryonic development of *Anopheles albopictus* and *Anopheles aquasalis*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(8), 1117-1120. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02752002000800009>. PMID:12563476.
- Christensen, B. M., & Hollander, A. L. (1978). Effect of temperature on vector-parasite relationships of *Aedes triseriatus* and *Dirofilaria immitis*. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 45, 125-129.
- Cornelison, N., & Wilson, D. M. (1996). *Dirofilaria* (Phlebotomus-Onchocercidae) Infection in *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) Collected in Louisiana. *Journal of Medical Entomology*, 33(5), 734-737. <http://dx.doi.org/10.1093/jmedent/33.5.734>.
- Farias, H. S., Vargas, K. B., Martino, T. B., Sousa, G. M., & Luzzina, A. J. (2020). Vulnerabilidade socioambiental no Oeste Metropolitano do Rio de Janeiro: estratégias de prevenção a riscos. *Revista Brasileira de Geografia Econômica*, 9(29), e2020. <http://dx.doi.org/10.4000/espacoeconomia.14181>.
- Ferreira, A. F., Barbosa, F. C., & Mastrantonio, E. C. (1999). Ocorrência da dirofilariose canina na cidade de Uberlândia, MG, Brasil. *Veterinária Notícia*, 5(1), 57-61.

- Genchi, C., & Kramer, L. H. (2002). The prevalence of *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in the Old World. *Veterinary Parasitology*, 280, 4108995. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.06.005>. PMID:3255538.
- Grapsakis, K., Kayser, G., Paschke, R., & Wiesemann, S. (2018). Pulmonary coin lesion mimicking lung cancer reveals an unsuspected finding: *Dirofilaria immitis*. *Journal of Thoracic Disease*, 10(6), 3879-3882. <http://dx.doi.org/10.2196/jtd.2018.05.017>. PMID:30069389.
- Grais, R. G. (2004). Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. *Medical and Veterinary Entomology*, 18(3), 215-227. <http://dx.doi.org/10.1017/S0950268804005714>. PMID:15347388.
- Knight, D. H., & Lok, J. B. (1998). Seasonality of heartworm infection and implications for chemoprophylaxis. *Clinical Technology Small Animal*, 13(2), 77-82. [http://dx.doi.org/10.1016/S1096-7266\(98\)00101-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1096-7266(98)00101-8). PMID:9753795.
- Labarthe, N. V., Almoez, N., Guarnio, J., & Duque-Araújo, A. M. (2007). Description of the occurrence of canine dirofilariasis in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 92(1), 47-51. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762007000100010>. PMID:17302414.
- Labarthe, N. V., Patz, J. P., Roth, L., Mendes-de-Almeida, F., Mello, A., Pinto, C. J. C., & Alves, L. C. (2014). Updated canine infection rates for *Dirofilaria immitis* in areas of Brazil previously identified as having a high incidence of heartworm infected dogs. *Parasites & Vectors*, 7(1), 493. <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-014-0493-7>. PMID:25376238.
- Labarthe, N. V., Serrão, M. L., Melo, Y. F., Oliveira, S. J., & Lourenço-de-Oliveira, R. (1998a). Potential vectors of *Dirofilaria immitis* (Ledy, 1856) in Ilhabela, Ocoai Region of Niterói Municipality, State of Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93(4), 425-432. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761998000400001>. PMID:9711329.
- Labarthe, N. V., Serrão, M. L., Melo, Y. F., Oliveira, S. J., & Lourenço-de-Oliveira, R. (1998b). Mosquito frequency and feeding habits in an enzootic canine dirofilariasis area in Niterói, state of Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93(2), 145-154. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761998000200002>. PMID:9698883.
- Ladenski, N., & Harrington, L. (2001). Mosquito vectors of dog heartworm in the united states: vector status and factors influencing transmission efficiency. *Topics in Companion Animal Medicine*, 16(4), 179-185. <http://dx.doi.org/10.1053/j.tcam.2001.09.005>. PMID:22152605.
- Lehmann, U., Sausen, R., Berntson, L., Cibaach, U., Perwitz, J., & Rockner, E. (1993). The Köppen climate classification as a diagnostic tool for general circulation models. *Climate Research*, 3, 177-193. <http://dx.doi.org/10.1158/106003177>.
- Lourenço-de-Oliveira, R., & Duane, L. M. (1995). Presumed *Dirofilaria immitis* infections in Wild Caught *Aedes taeniorhynchus* and *Aedes scapularis* in Rio de Janeiro, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 90(3), 387-388. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761995000300002>. PMID:8544737.
- Maciel, F. C., Labarthe, N., & Lourenço-de-Oliveira, R. (1998). Susceptibility of *Aedes scapularis* (Diptera: Culicidae) to *Dirofilaria immitis* (Ledy, 1856), an Emerging Zoonosis. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 93(4), 435-437. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02761998000400003>. PMID:9711331.
- Magi, M., Calderini, P., Gabrielli, S., Dell'Omodarme, M., Macchioni, F., Pratt, M. C., & Cacciari, G. (2008). Vulpes vulpes: A possible wild reservoir for zoonotic Italian. *Vector Borne and Zoonotic Diseases (Lancet)*, 17(7), 823-249-252. <http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2007.0107>. PMID:18260788.
- McCall, J. W. (2005). The safety net story about macrocyclic lactone heartworm preventives: a review, an update, and recommendations. *Veterinary Parasitology*, 132(2-3), 197-206. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.04.005>. PMID:16198822.
- Milanez-de-Campos, J. R., Barbas, C. S., Filomeno, L. T., Fernandez, A., Minamoto, H., Filho, J. V., & Iatene, F. B. (1997). Human pulmonary dirofilariasis: Analysis of 24 cases from São Paulo, Brazil. *Chest*, 112(3), 729-733. <http://dx.doi.org/10.1176/chest.112.3.729>. PMID:9315807.
- Mitchell, C. I. (1993). Geographic spread of *Aedes albopictus* and potential for involvement in arbovirus cycles in the mediterranean basin. *Journal of Vector Ecology*, 20, 44-58.
- Nayar, J. E., & Knight, J. W. (1999). *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) an experimental and natural host of *Dirofilaria immitis* (Filarioidea: Onchocercidae) in Florida, U.S.A. *Journal of Medical Entomology*, 36(4), 441-448. <http://dx.doi.org/10.1093/jmedent/36.4.441>. PMID:10467770.
- Penezic, A., Solakovic, S., Pavlovic, I., & Grovic, D. (2014). First findings and prevalence of adult heartworms (*Dirofilaria immitis*) in wild carnivores from Serbia. *Parasitology Research*, 113(3), 1281-1285. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-014-0801-0>. PMID:24950368.
- Radot, V., Crick, C., & Stark, R. D. C. (2006). Sentinel surveillance systems with special focus on vector-borne diseases. *Animal Health Research Review*, 7(1-2), 76-79. <http://dx.doi.org/10.1017/S144675290600020>. PMID:17380055.
- Rocanski, E. A. (2020). Canine Chronic Bronchitis: a update. *Veterinary Clinics Small Animal Practice*, 44(10), 107-116. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetcl.2020.09.005>.
- Saravita, A., Silva, C., Bordo, E. H., Nogueira, L., Thoné, S., Angelo, I., Vile, G. F., Saravita, T., Pichas, E. D., & Galotto, D. G. (2017). Intelligent monitoring of *Aedes aegypti* in a rural area of Rio de Janeiro State, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 59(3), e51. <http://dx.doi.org/10.1590/S1678-94452017000001>. PMID:28793003.
- Schmidt, P. L. (2009). Companion animals as sentinels for public health. *The Veterinary Clinician of North America. Small Animal Practice*, 39(2), 241-250. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetcl.2008.10.011>. PMID:1918391.

- Serão, M. L., Lacerda, N. V., & Lourenço-de-Oliveira, R. (2006). Vectorial Competence of *Aedes aegypti* (Linnaeus 1762) Rio de Janeiro State, to *Dirofilaria immitis* (Leidy 1894). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96(5), 593-598. <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02752006000500001>. PMID:11500754.
- Silva, P. C. R., Oliveira-Junior, R. R., & Borges, M. S. (2020). Scenarios of territorial inequalities in the Brazil: A study on Baixada Fluminense (RJ). *Brazilian Journal of Development*, 6(9), 72767-72779. <http://dx.doi.org/10.34077/bjdv6i9-548>.
- Traversa, D., Adin, G., Millio, P., Capelli, G., Pampurini, F., Tunesi, C., Santori, D., Pasolini, B., & Boari, A. (2010). Autochthonous foci of canine and feline infections by *Dirofilaria immitis* and *Dirofilaria repens* in central Italy. *Veterinary Parasitology*, 169(1-2), 128-132. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.07.034>. PMID:20007479.
- Trott, G. C., Pampiglione, S., & Rivasi, F. (1997). The species of the genus *Dirofilaria* Raffinot & Henry, 1911. *Parasitologia*, 89(4), 369-374. PMID:5802054.