

**JOANA RITA AMARO MADEIRA**

**DIROFILARIOSE CANINA: DESCRIÇÃO DE 5  
CASOS CLÍNICOS**

**Orientador:** Professor Dr. Joao Manuel Cardoso Martins

**Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa**

**Faculdade de Medicina Veterinária**

**Lisboa**

**2023**

**JOANA RITA AMARO MADEIRA**

## **DIROFILARIOSE CANINA: DESCRIÇÃO DE 5 CASOS CLÍNICOS**

Dissertação defendida em provas públicas para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária, no Curso de Mestrado em Medicina Veterinária, conferido pela Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa, no dia 27 de abril de 2023, com o Despacho de Nomeação Nº 214/2023, de 5 de abril de 2023, com a seguinte composição:

**Presidente:** Prof<sup>ª</sup>. Doutora Mariana Batista, por delegação da Prof<sup>ª</sup>. Doutora Laurentina Pedroso

**Arguente:** Prof<sup>ª</sup>. Doutora Ana Santana

**Orientador:** Prof. Doutor João Martins

**Universidade Lusófona – Centro Universitário de Lisboa**

**Faculdade de Medicina Veterinária**

**Lisboa**

**2023**

## **Agradecimentos**

Agradeço à Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, Faculdade de Medicina Veterinária pelo profissionalismo e corpo de docentes. Um especial agradecimento ao Dr. João Martins pela paciência, rapidez e profissionalismo com que sempre me ajudou.

À VetSam, pela forma como me receberam, ensinaram e me ajudaram a tornar-me uma Médica Veterinária bem formada. Obrigada ao Dr. Frederico por me transmitir todos os seus conhecimentos e pela confiança que sempre depositou em mim, à Dra. Rita por ser mais que uma colega, mas também uma grande amiga que me recebeu com carinho e apoiou desde o primeiro dia! À Ana Luísa, por me integrar e demonstrar sempre compreensão, carinho e amizade por mim. Agradeço também à Dra. Ana e ao Dr. Marco por terem sempre paciência para mim e partilharem comigo os seus conhecimentos e boa disposição. Às enfermeiras Fátima e Daniela que me receberam de braços abertos e me ensinaram tudo o que sabiam, sem elas não seria possível. À Susy e à Verónica que são as melhores auxiliares que existem e que sempre me ajudaram em tudo com boa disposição e paciência.

Aos meus pais, que sofreram comigo todo o processo de terminar um curso tão difícil e longo. Que nunca me viraram as costas e, para além disso, fizeram de mim a mulher que sou hoje. Amo-vos como sabem!

Um grande obrigado à Mariana que mais do que uma amiga se tornou uma irmã, sem ela seria difícil aguentar todos os dias do curso, ouviu sempre com paciência e carinho todos os meus desabafos. À Bárbara, por ser sempre uma boa colega e amiga.

Aos meus avós, que nunca conheci, mas que sinto que de algum sítio onde possam estar, me acompanham e dão força.

## Resumo

O presente relatório de estágio tem como principal objetivo a descrição de 5 casos clínicos de cães com dirofilariose.

Em 1626 surgiram as primeiras descrições do parasita da dirofilariose em cães, quando Francesco Birago escreveu a obra “Tratado cinegético”. No entanto, apenas em 1856 foi denominado de *Filaria* pelo parasitólogo Josep Laidy e por fim de *Dirofilaria* em 1911 por Railliet & Henry.

A dirofilariose ou “larva do coração”, trata-se de uma infeção parasitária zoonótica causada pelo nematode *Dirofilaria immitis*. É responsável por causar doença cardiopulmonar em cães e gatos, uma vez que as macrofilárias são endoparasitas obrigatórios que têm como microbiótomo a vasculatura caudal da árvore pulmonar (artérias pulmonares em infeções mais graves), átrio direito do coração e grandes vasos. A gravidade da doença é determinada pela quantidade de parasitas, resposta imune do animal, atividade física e duração da infeção.

Apresenta-se atualmente com distribuição mundial, apesar da sua grande incidência residir em regiões tropicais e subtropicais, com climas húmidos, próximos de rios e águas paradas que propiciam as condições ideais à presença do hospedeiro intermediário (mosquito da família *Culicidae*). Afeta predominantemente caninos com acesso ao exterior, sendo responsável por causar doença cardiopulmonar grave.

Com o aumento do número de pessoas que viajam com os seus animais de companhia, a dirofilariose encontra-se em rápida expansão, causando atualmente doença em áreas anteriormente livres. A melhor forma de combater a *D. immitis* é através de uma correta profilaxia.

O seu tratamento, com duração de aproximadamente 3 meses, passa primeiramente pela administração de um antimicrobiano de forma a combater a relação endossimbiótica que a *D. immitis* mantém com a bactéria *Wolbachia spp.*, assim como microfilaricidas mensais e, por fim, o adulticida. O prognóstico de animais com esta doença geralmente é bom, com exceção dos casos onde existem sinais clínicos marcados, em que se considera reservado.

**Palavras-chave:** *Dirofilaria immitis*; Dirofilariose; *Wolbachia*; Doença cardiopulmonar; Cão;

## Abstract

The main objective of this report is to describe 5 clinical cases of dogs with heartworm disease. The first report of the dirofilariosis parasite in dogs was made in 1626, when Francesco Birago wrote the work “Cinegetic Treatise”. However, only in 1856 was it called *Filaria* by the parasitologist Josep Laidy and finally, *Dirofilaria* in 1911 by Railliet & Henry.

Dirofilariasis or “heartworm”, is a zoonotic parasitic infection caused by the nematode *Dirofilaria immitis*. It is responsible for causing cardiopulmonary disease in dogs and cats, since macrofilariae are obligate endoparasites whose microhabitat is the caudal vasculature of the pulmonary tree (pulmonary arteries in more severe infections), the right atrium of the heart and big vessels. The severity of the disease is determined by the number of parasites, the animal's immune response, physical activity, and duration of infection.

It currently has a worldwide distribution, despite its high incidence residing in tropical and subtropical regions, with humid climates, close to rivers and still waters that provide ideal conditions for the presence of the intermediate host (mosquito of the *Culicidae* family). It predominantly affects dogs with access to the outside, being responsible for causing severe cardiopulmonary disease.

With the increasing number of people traveling with their pets, heartworm disease is expanding rapidly, currently causing disease in previously free areas. The best way to strike *D. immitis* is through correct prophylaxis.

Its treatment, lasting approximately 3 months, starts with the temporary administration of an antimicrobial in order to combat the endosymbiotic relationship that *D. immitis* maintains with the *Wolbachia* spp. The prognosis of animals with this disease is generally good, except for cases where there are marked clinical signs, where it is considered reserved.

**Keywords:** *Dirofilaria immitis*; Dirofilariasis; *Wolbachia*; Cardiopulmonary disease; Dog;

### **Abreviaturas, siglas e símbolos**

**µg** – Microgramas

**AHS** – American Heartworm Society

**ALT** – Alanina aminotransferase

**AST** – Aspartato aminotransferase

**BID** – *Bis in die* (duas vezes por dia)

**CAMV** – Centro de atendimento médico-veterinário

***D. immitis*** – *Dirofilaria Immitis*

**EEG** – Exame do Estado Geral

**ELISA** – *Enzyme-Linked Immunosorben Assay*

**EV** – Endovenoso

**FA** – Fosfatase alcalina

**HD** – Hospedeiro Definitivo

**HI** – Hospedeiro Intermediário

**IM** – Intramuscular

**Kg** – Quilogramas

**mg** – Miligramas

**ml** – Mililitros

**NT-proBNP** – Fragmento inativo do péptido natriurético do tipo B

**PO** – *Per os*

**ProBNP** – Péptido natriurético do tipo B

**Rpm** – Rotações por minuto

**SC** – Subcutâneo

**SID** – *Semel in die* (uma vez por dia)

## Índice geral

|                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Agradecimentos</b> .....                                                           | 3  |
| <b>Resumo</b> .....                                                                   | 4  |
| <b>Abstract</b> .....                                                                 | 5  |
| <b>Abreviaturas, siglas e símbolos</b> .....                                          | 6  |
| <b>Índice de figuras</b> .....                                                        | 9  |
| <b>Índice de tabelas</b> .....                                                        | 10 |
| <b>Índice de gráficos</b> .....                                                       | 11 |
| <b>1. Descrição do estágio curricular na Clínica Veterinária VetSam</b> .....         | 12 |
| <b>2. Introdução</b> .....                                                            | 14 |
| 2.1. Etiologia.....                                                                   | 15 |
| 2.2. Ciclo de Vida .....                                                              | 15 |
| 2.2.1. Hospedeiro intermediário .....                                                 | 16 |
| 2.2.2. Hospedeiro definitivo. ....                                                    | 17 |
| 2.3. Epidemiologia .....                                                              | 17 |
| 2.4. Fisiopatologia .....                                                             | 18 |
| 2.4.1. Endoartrite, hipertensão pulmonar e insuficiência<br>cardíaca congestiva ..... | 19 |
| 2.4.2. Síndrome de veia cava .....                                                    | 20 |
| 2.4.3. Insuficiência renal.....                                                       | 21 |
| 2.5. Sinais Clínicos .....                                                            | 21 |
| 2.5.1. Classificação da dirofilariose. ....                                           | 22 |
| 2.6. Diagnóstico. ....                                                                | 22 |
| 2.6.1. ELISA .....                                                                    | 22 |
| 2.6.2. Observação direta.....                                                         | 23 |
| 2.6.3. Teste de Knott .....                                                           | 24 |
| 2.6.4. Teste da fosfatase ácida. ....                                                 | 24 |
| 2.6.5. Alterações hematológicas. ....                                                 | 24 |
| 2.6.6. Marcadores de dano cardiopulmonar .....                                        | 25 |
| 2.6.6.1. D-Dímero. ....                                                               | 25 |
| 2.6.5.2. Péptidos natriuréticos. ....                                                 | 26 |
| 2.6.5.3. Troponinas.....                                                              | 26 |
| 2.6.7. Radiografia. ....                                                              | 26 |

|                                            |           |
|--------------------------------------------|-----------|
| 2.6.8. Ecocardiografia. ....               | 28        |
| 2.7. Prevenção....                         | 29        |
| 2.8. Tratamento. ....                      | 31        |
| 2.8.1. Tratamento médico.....              | 31        |
| 2.8.2. Tratamento cirúrgico.....           | 36        |
| 2.10. Prognóstico. ....                    | 36        |
| <b>3. Materiais e métodos.....</b>         | <b>38</b> |
| 3.1. Caso clínico 1. ....                  | 39        |
| 3.2. Caso clínico 2. ....                  | 41        |
| 3.3. Caso clínico 3. ....                  | 44        |
| 3.4. Caso clínico 4. ....                  | 46        |
| 3.5. Caso clínico 5. ....                  | 48        |
| <b>5. Discussão.....</b>                   | <b>50</b> |
| <b>6. Conclusão .....</b>                  | <b>56</b> |
| <b>7. Referências bibliográficas .....</b> | <b>57</b> |

## Índice de figuras

|                                                                                                                             |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1</b> – Ilustração do ciclo de vida da <i>Dirofilaria immitis</i> . ....                                          | 16 |
| <b>Figura 2</b> – Distribuição da <i>D. immitis</i> em Portugal .....                                                       | 18 |
| <b>Figura 3</b> – Observação de uma microfilária ao microscópio ótico em gota fresca na objetiva de 10x .....               | 24 |
| <b>Figura 4</b> – Radiografia torácica de um cão com <i>D. immitis</i> grave em projeção laterolateral e ventrodorsal ..... | 28 |
| <b>Figura 5</b> – Ecocardiografia de animal com carga parasitária de <i>D. immitis</i> elevada.....                         | 29 |
| <b>Figura 6</b> – Períodos de suscetibilidade ao tratamento .....                                                           | 36 |
| <b>Figura 7</b> – Teste de dirofilariose com resultado positivo .....                                                       | 39 |
| <b>Figura 8</b> – Radiografia caso clínico 2.....                                                                           | 42 |

## Índice de tabelas

|                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabela 1</b> – Tabela de estadiamento da dirofilariose .....                              | 22 |
| <b>Tabela 2</b> – Alterações hematológicas mais comuns causadas pela <i>D. immitis</i> ..... | 25 |
| <b>Tabela 3</b> – Descrição das lactonas macrocíclicas .....                                 | 31 |
| <b>Tabela 4</b> – Protocolo recomendado pela <i>American Heartworm Society</i> .....         | 35 |

## **Índice de gráficos**

**Gráfico 1** – Casuística de consultas observadas no decorrer do estágio curricular ..... 13

**Gráfico 2** – Casuística das cirurgias observadas no decorrer do estágio curricular ..... 13

## **1. Descrição do estágio curricular na Clínica Veterinária Vetsam**

O estágio curricular constitui uma parte integrante do curso de Medicina Veterinária e promove a melhoria da prática clínica, bem como consolidação dos conhecimentos adquiridos ao longo dos últimos 5 anos de curso. O presente estágio foi realizado no centro de atendimento médico-veterinário (CAMV) VetSam, localizado em Samora Correia no Concelho de Benavente. No decorrer dos 5 meses de estágio, desde 1 de setembro de 2022 a 1 de fevereiro de 2023, foi cumprido um horário entre as 10h e as 20h durante os dias úteis e aos sábados entre as 10h e as 13h (horário de funcionamento da clínica) sob a supervisão e acompanhamento do Dr. Frederico Inácio (co-orientador de estágio), bem como dos restantes Médicos Veterinários e Enfermeiros.

O CAMV acima referido deu início à sua atividade no ano de 1999 e tem como principal objetivo a medicina e cirurgia de animais de companhia. Apresenta um corpo clínico constituído por quatro médicos veterinários, três enfermeiras e quatro auxiliares, oferecendo serviços ao nível da medicina geral e interna, cardiologia, cirurgia geral, odontológica, ortopédica e de mínima invasão, meios complementares e de diagnóstico (radiografia, ecografia, endoscopia, eletrocardiografia e análises clínicas). A clínica é constituída por 3 consultórios, uma sala de radiografia e ecografia, uma sala de cirurgia, uma sala de indução anestésica, uma sala de esterilização de materiais, duas salas de internamento (uma para caninos e outra para felinos) e um laboratório.

Este CAMV apresenta uma casuística elevada, o que permitiu um grande contacto com a realidade da prática clínica, possibilitando uma notória evolução não só a nível prático, mas também teórico.

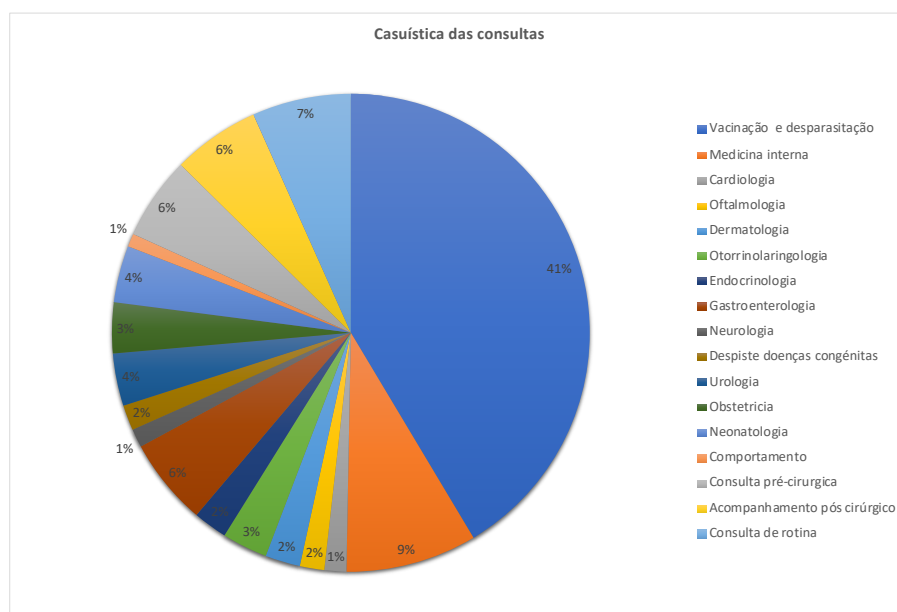
No decorrer dos 5 meses, foram acompanhadas 1690 consultas (gráfico 1) e 90 cirurgias (gráfico 2). No decorrer das consultas, para além do apoio necessário ao Médico Veterinário responsável, foi possível realizar exames físicos, contenção dos animais, administração de vacinas, colocação de microchips, registo dos mesmos nas plataformas oficiais e internas, preenchimento de boletins, preparação de medicações, realização de métodos complementares de diagnóstico tais como, hemogramas, bioquímicas, análises endócrinas, radiografias, ecografias (abdominais e de gestação), ecocardiografias, medição de pressões arteriais, realização de eletrocardiogramas, coloração de citologias, bem como a sua observação e avaliação.

No que toca aos 90 procedimentos cirúrgicos, a autora do presente relatório, esteve responsável pela preparação dos animais (tricotomia, antissepsia, colocação de cateter endovenoso e entubação orotraqueal), ajuda na preparação da sala cirúrgica, preparação das pré-

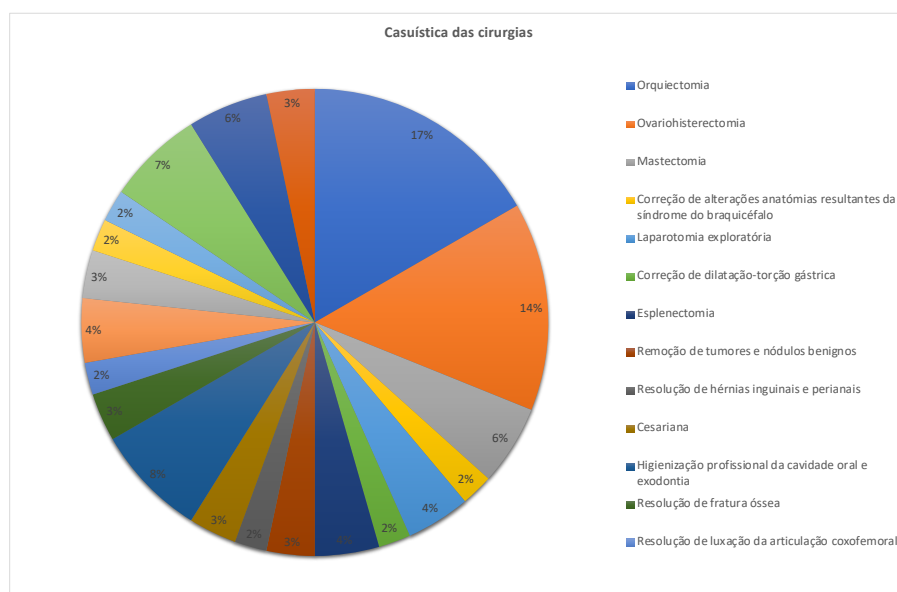
medicações, bem como a sua administração, monitorização anestésica, ajudante de cirurgião e acompanhamento do recobro.

Relativamente ao internamento, as funções passaram por monitorizar os animais internados, preparação de medicações e respetiva administração, preenchimento das fichas de internamento, assim como troca das camas.

**Gráfico 1 – Casuística de consultas observadas no decorrer do estágio curricular**



**Gráfico 2 – Casuística das cirurgias observadas no decorrer do estágio curricular**



## 2. Introdução

A dirofilariose cardiopulmonar canina ou “larva do coração”, como é habitualmente denominada, trata-se de uma infeção parasitária zoonótica causada pelo nematode *Dirofilaria immitis* (Ware, 2014).

Com o aumento do número de pessoas que viajam com os seus animais de companhia, assim como as alterações climáticas emergentes, a dirofilariose encontra-se em rápida expansão, causando atualmente doença em áreas anteriormente livres desta parasitose (Vieira *et al.*, 2014). Isto significa que, na atualidade, esta doença apresenta distribuição mundial, apesar da sua incidência permanecer mais elevada em regiões tropicais e subtropicais, com climas húmidos, na proximidade de rios e águas paradas que propiciam as condições ideais à presença do hospedeiro intermediário (mosquito da família *Culicidae*) (Ware, 2014; Noack *et al.*, 2021). Ao nível dos hospedeiros definitivos, esta afeta predominantemente caninos com acesso ao exterior, sendo responsável por causar doença cardiopulmonar grave (Anvari *et al.*, 2020; Noack *et al.*, 2021). Os sinais clínicos que se observam nos animais acometidos pela doença dependem do grau de evolução em que a mesma se encontra, sendo que no grau I pode não existir qualquer sinal clínico ou apenas tosse esporádica e o grau III e IV (síndrome de veia cava) há presença de achados como sopro cardíaco, hemólise, intolerância ao exercício, bem como alterações ao nível da auscultação pulmonar (Carretón *et al.*, 2012; Villanueva-Saz *et al.*, 2020).

O diagnóstico é conseguido essencialmente a partir da realização de um teste rápido de pesquisa de antígenos (ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) por apresentar uma elevada sensibilidade e especificidade, assim como pela rapidez de execução e apresentação de resultados (Lee *et al.*, 2011).

No que respeita ao tratamento médico da doença, as moléculas podem dividir-se consoante a sua função, onde inicialmente são administrados microfilaricidas mensais por via oral e, posteriormente, o adulticida em três injeções intramusculares profundas (Carretón *et al.*, 2012). Não menos importante, a administração de um antimicrobiano, durante um período de 30 dias, de forma a eliminar a relação endossimbiótica que a *D. immitis* mantém com a bactéria Gram negativa *Wolbachia spp.* (Alho *et al.*, 2014; Kramer *et al.*, 2018).

Quanto ao prognóstico, este está dependente do grau de evolução da doença aquando do início do tratamento, bem como dos sinais clínicos que o animal apresenta (Bowman & Atkins, 2009; Atkins, 2017).

## 2.1. Etiologia

Em 1626 surgiram os primeiros relatos do parasita em canídeos quando Francesco Bi-rago escreveu a obra “Tratado Cinegético”, no entanto, apenas em 1856 foi denominado pela primeira vez de *Filaria* pelo parasitólogo Josep Laidy e, por fim, de *Dirofilaria* em 1911 por Railliet & Henry. O género *Dirofilaria* pode dividir-se em duas espécies distintas: *Dirofilaria immitis* e *Dirofilaria repens*, sendo a primeira a mais prevalente (Leidy, 1856; Villanueva-Saz *et al.*, 2020).

A *Dirofilaria immitis* é um parasita antropozoonótico, também frequentemente denominado de “larva do coração”, como referido anteriormente. Pertence ao reino *Animália*, filo *Nematoda*, classe *Secernentea*, ordem *Spirurida*, superfamília *Filarioidea*, família *Onchoceci-dae* e género *Dirofilaria* (Alho *et al.*, 2014).

As dirofilárias adultas, como qualquer outro parasita da filo *Nematoda*, apresentam um corpo cilíndrico e longo, de cor branca acinzentada, um comprimento de aproximadamente, 15 a 30 centímetros (variando com o sexo, uma vez que os machos são mais pequenos), cauda em espiral com asas nas laterais, quatro a seis pares de papilas ovóides com uma espícula longa e pontiaguda no lado esquerdo e romba do lado direito (Taylor *et al.*, 2017). A cauda das fêmeas é reta e arredondada, ao contrário das dos machos que se apresentam com uma forma enrolada (Khanmohammadi *et al.*, 2020). Relativamente às microfilárias, estas apresentam uma extremidade anterior afilada e posterior romba, demonstrando uma atividade enzimática ao nível dos poros anais (Taylor *et al.*, 2017).

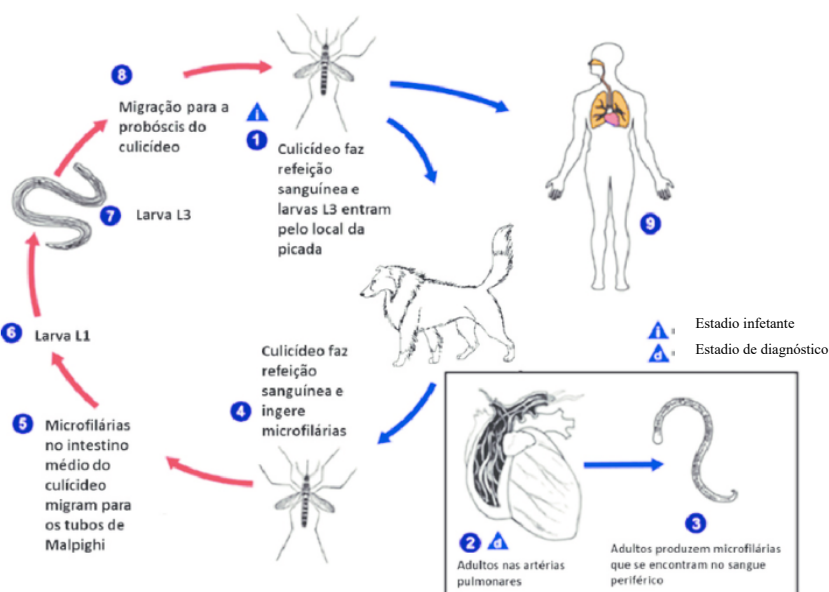
## 2.2. Ciclo de vida

A *Dirofilaria immitis* apresenta um ciclo de vida indireto e heteroxeno (figura 1) constituído por cinco estádios larvares conhecidos, em que três deles se localizam no hospedeiro intermediário invertebrado (HI) e os restantes no hospedeiro definitivo vertebrado (HD) (ESCAP, 2017).

A infeção inicia-se quando o HI, mosquito fêmea hematófago da família *Culicidae* (*Culex*, *Anopheles* ou *Aedes*), se alimenta num animal parasitado e ingere as microfilárias (L1) (CDC, 2012). Estas, inicialmente migram pelo intestino do mosquito, seguindo para os túbulos de Malpighi e, posteriormente, alojam-se no aparelho bucal do HI onde sofrem uma evolução para o estágio L2, oito a dez dias pós-infeção, transformando-se, por fim, na forma larvar infectante L3 aproximadamente 13 dias depois da ingestão das microfilárias (CDC, 2012; Alho *et al.*, 2014). O tempo necessário para que estas metamorfoses ocorram está dependente da

temperatura, em que esta deverá ser no mínimo de 14°C (CDC, 2012; Alho *et al.*, 2014; Bowman, 2014).

Os hospedeiros definitivos são infetados através da inoculação da L3 pelo HI aquando da sua alimentação. Estas, após atingirem o tecido subcutâneo, adiposo ou esquelético (1 a 12 dias após ocorrer a infeção) sofrem uma metamorfose e transformam-se em L4 (Taylor *et al.*, 2017). A forma L5 (adultos imaturos), é atingida 50 a 68 dias após o mosquito se ter alimentado (CDC, 2012). Os adultos imaturos na forma de L5 migram na circulação sistémica até ao ventrículo direito e vasculatura caudal da árvore pulmonar e/ou artérias pulmonares, local onde evoluem e se tornam adultos maduros com capacidade reprodutiva após 3 meses, podendo viver até cinco anos (Nayar & Connelly, 2013). No caso de infeções onde a carga parasitária é muito elevada, podem ainda alojar-se na veia cava e veias hepáticas (CDC, 2012). As fêmeas podem atingir um comprimento de 25 a 30 centímetros (enquanto que os machos apenas chegam aos 15 a 18 centímetros) e seis a nove meses após a infeção inicial, dão início à libertação de microfíliarias (L1) (Atkins, 2017). O ciclo de vida do parasita fica totalmente completo, em condições ótimas, entre os dias 184 a 210 pós infeção (Simón *et al.*, 2012; Fontes-Sousa *et al.*, 2019).



**Figura 1** – Ilustração do ciclo de vida da *Dirofilaria immitis* (Adaptado de CDC, 2012)

### 2.2.1. Hospedeiro intermediário

Como referido anteriormente, o ciclo de vida da *Dirofilaria immitis* é indireto, o que significa que a presença de um HI (vetor) é fundamental para a transmissão da doença ao HD.

Os responsáveis pela sua propagação são os culicídeos do género *Aedes*, *Anopheles*, *Culiseta*, *Coquillettidia* e *Culex*, sendo este último o que apresenta maior distribuição a nível mundial, nomeadamente em Portugal e Espanha (Genchi *et al.*, 2011; Taylor *et al.*, 2016). No entanto, conhecem-se mais de 70 espécies de mosquitos da família *Culicidae* capazes de causar doença (Atkins, 2017). Os vetores com capacidade de transmissão da parasitose são as fêmeas, hematófagas, que se alimentam de sangue (McCall *et al.*, 2014). A transmissão vertical também é possível, nos casos em que a progenitora tenha microfírias em circulação e, nesta situação, o cachorro nasce parasitado e o ciclo da *D. immitis* desenvolve-se da mesma forma que acontece no animal adulto (Carretón *et al.*, 2012).

### **2.2.2. Hospedeiro definitivo**

A *D. immitis* tem capacidade para causar doença num elevado número de mamíferos, nomeadamente: raposas, lobos, cavalos, furões, ocasionalmente gatos e, raramente, seres humanos (Taylor *et al.*, 2017). Contudo, são os caninos domésticos os principais reservatórios da parasitose, principalmente em áreas endémicas, como por exemplo nas regiões do território português como Setúbal, Coimbra, Figueira da Foz, Ribatejo, Alentejo, Algarve e a região autónoma da Madeira (Alho *et al.*, 2014a).

### **2.3. Epidemiologia**

Desde 1979 que a Organização Mundial de Saúde considerou a dirofilariose uma doença parasitária zoonótica, apesar dos seres humanos serem somente hospedeiros acidentais. Com o aumento da globalização, do aquecimento global (responsável por alterações ao nível da sazonalidade/período de maior incidência da doença e alteração de zonas livres para afetadas), crescimento económico e circulação de animais entre países, a doença foi considerada como reemergente (Rodrigues-Silva *et al.*, 2004; Dimri *et al.*, 2012).

Em Portugal, apesar dos esforços para prevenir a *D. immitis*, bem como os procedimentos efetuados para controlar a prevalência da doença, esta encontra-se numa situação epidemiológica de rápida evolução não só em regiões anteriormente classificadas como indemnes, mas também em zonas endémicas (Simón *et al.*, 2009; Morchón *et al.*, 2012).

Segundo Morchón *et al.*, (2012), os países europeus com maiores relatos de prevalência da parasitose em canídeos domésticos são Itália, França, Grécia e Espanha. No entanto, outros autores referem que Portugal tem uma prevalência de dirofilariose muito semelhante, quer aos países referidos, como aos restantes com clima mediterrâneo (Otranto *et al.*, 2009).

Como referido anteriormente, as zonas consideradas endémicas em Portugal são Setúbal, Coimbra, Figueira da Foz, Ribatejo, Alentejo, Algarve e a região autónoma da Madeira com a maior taxa de caninos a testarem positivo à dirofilariose (figura 2) (Alho *et al.*, 2014). Contudo, segundo Vieira *et al.*, (2014), estes dados podem estar a ser subestimados, uma vez que muitos animais são considerados positivos apenas quando apresentam microfíliarias em circulação. Em 2012, Cardoso *et al.*, realizaram um estudo onde observaram os seguintes dados de animais positivos à *D. immitis*: região Norte com 3,4%, 7,4% na zona Centro, 5,8% em Lisboa, 14% na região do Alentejo e 17,1% no algarve.

Os animais que se encontram no interior das habitações (*indoor*) têm consideravelmente menos risco de contrair a infeção em relação a animais que passam grande parte e/ou toda a sua vida no exterior, ou seja, estes últimos, assim como caninos errantes, apresentam um risco 4 a 5 vezes superior de contrair dirofilariose quando comparados com animais indoor. O risco torna-se ainda maior quando os animais se encontram numa faixa etária entre os 3 e os 15 anos (Ettinger & Feldman, 2010).

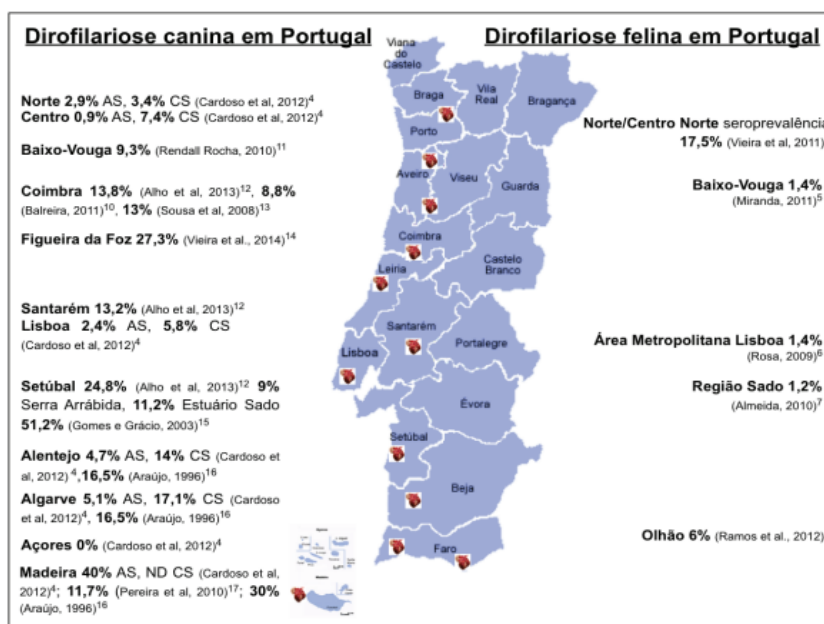


Figura 2 – Distribuição da *D. immitis* em Portugal (Alho *et al.*, 2014)

## 2.4. Fisiopatologia

A *Dirofilaria immitis* é responsável por causar doença cardiopulmonar em cães e gatos, uma vez que as filárias adultas são endoparasitas obrigatórios, sendo os seus microbiótópos a vasculatura caudal da árvore pulmonar, artérias pulmonares, átrio direito do coração e grandes

vasos. A gravidade da doença é determinada pela quantidade de parasitas, resposta imune do animal, atividade física e duração da infeção (Ware, 2014).

Para além das alterações cardiopulmonares que a dirofilariose provoca, existe ainda uma relação endossimbiótica obrigatória entre as filárias e a *Wolbachia spp.*, uma bactéria Gram negativa intracelular, pertencente à ordem *Rickettsiales*, que se encontra presente em todas as fases larvares, tanto do HI como do HD (Bandi *et al.*, 2001). Esta bactéria encontra-se nos ovários das larvas fêmea, assim como nos embriões em desenvolvimento e em células hipodérmias dos cordões laterais de ambos os géneros, sendo a transmissão à sua descendência realizada através do citoplasma dos ovos (McHaffie, 2012). Atualmente, sabe-se que os HD entram em contacto com a bactéria após a morte do parasita ou durante a muda dos estádios larvares e que esta atinge o seu pico de desenvolvimento quando a *D. immitis* se encontra nas formas larvares L3 e L4, ou seja, durante o primeiro mês de infeção (Sacchi *et al.*, 2002; Taylor *et al.*, 2005). Ao entrar em contacto com o HD, promove a libertação de citoquinas inflamatórias, neutrófilos e imunoglobulinas específicas (Sacchi *et al.*, 2002). A *Wolbachia spp.* é responsável por sintetizar moléculas do grupo heme e glutatona, essenciais para a biossíntese de hormonas esteroideas do parasita durante a embriogénese (Alho *et al.*, 2014).

#### **2.4.1. Endoartrite, hipertensão pulmonar e insuficiência cardíaca congestiva**

Quando as larvas imaturas de *D. immitis* atingem o sistema vascular, iniciam-se as alterações mecânicas que levam à inflamação das células do endotélio e acumulação de leucócitos, uma vez que ocorre contacto direto com os parasitas (Hoch & Strickland, 2008). A resposta inflamatória local, resultado da deposição de antígenos, leva à presença de edema no espaço perivascular devido ao aumento da permeabilidade dos vasos (Guerreiro, 2005). O dano causado no endotélio dos vasos pode, em última instância, levar à total oclusão dos mesmos, especialmente quando ocorre morte larvar, reduzindo o output cardíaco (McCall *et al.*, 2008; Bowman & Atkins 2009). A hipertensão pulmonar é observada em resposta à diminuição do output, causando dilatação cardíaca direita e, consequentemente, insuficiência cardíaca direita com possível insuficiência da válvula tricúspide (para que seja possível manter uma correta perfusão ocorre hipertrofia e/ou dilatação do ventrículo direito) (Simón *et al.*, 2012).

Caninos fisicamente mais ativos (como por exemplo, cães de caça) apresentam maior gravidade no díz respeito aos sinais clínicos, uma vez que durante o exercício físico existem necessidades que ficam comprometidas, nomeadamente o maior aporte de oxigénio, pela impossibilidade de expansão das artérias pulmonares, consequência do espessamento das suas

paredes, bem como redução do seu lúmen (endoartrite pulmonar proliferativa que pode progredir para embolização das arteríolas) (Kramer, 2006; Carretón *et al.*, 2012). A endoartrite proliferativa, tal como o nome sugere, leva à migração de células do músculo liso e da túnica média dos vasos para a túnica íntima e, deste modo, a parede das artérias deixa de ser lisa e torna-se tortuosa, sem elasticidade e com uma tonalidade púrpura (Guerreiro, 2005; Carretón *et al.*, 2012). Na presença das larvas, o sistema circulatório torna-se incapaz de responder à demanda de oxigénio exigida durante o exercício, o que pode levar a uma insuficiência cardíaca congestiva, bem como um aumento da resistência vascular nas artérias pulmonares, podendo esta situação culminar em síncope (Bowman & Atkins, 2009; AHS, 2018).

Para que a hipertensão pulmonar cause sinais clínicos em repouso é necessário que, pelo menos, dois terços da vascularização pulmonar esteja obliterada (Kramer, 2006; Carretón *et al.*, 2012; Ames & Atkins, 2020).

É ainda possível observar, em alguns casos, uma pneumonite eosinofílica que consiste numa síndrome causada maioritariamente pela hipersensibilidade dos cães aos antígenos libertados pelas microfilárias, o que provoca *stress* respiratório (Villanueva-Saz *et al.*, 2020). Aquando da morte das microfilárias, estas são envolvidas por uma inflamação eosinofílica visível radiologicamente (situação que afeta cerca de 10 a 15% dos animais infetados) (McCall *et al.*, 2008).

#### **2.4.2. Síndrome de veia cava**

A presença de um grande número de formas larvares pode levar à regurgitação retrograda das mesmas para o átrio e ventrículo direito, devido ao aumento da pressão arterial ou até mesmo por falta de “espaço” para acomodar as larvas no seu microbiótoto (Villanueva-Saz *et al.*, 2020). Nestas situações, as larvas podem acabar por migrar para a veia cava, causando a síndrome de veia cava (também conhecido por embolismo da veia cava) (Bowman & Atkins, 2009). A hemólise e hemoglobinúria surgem como consequência da disfunção hepática que a obstrução da veia cava provoca no fígado, tornando-se este incapaz de esterificar o colesterol que ao acumular-se na parede dos eritrócitos, os torna mais frágeis e lhes causa a hemólise secundária aquando da sua passagem em veias parcialmente obstruídas (Bové *et al.*, 2010). Quando a hemoglobinúria é detetada, esta considera-se sinal clínico patognomónico da síndrome (Bowman & Atkins, 2009).

### 2.4.3. Insuficiência renal

Nos casos de dirofilariose crónica, não é invulgar observar-se glomerulonefrite membranosa como resultado da deposição de complexos autoimunes criados com o objetivo de combater os antígenos do parasita (Grauer, 2001). A glomerulonefrite pode evoluir para nefrose grave com evidência clínica de proteinúria e, em casos mais graves, azotemia por insuficiência renal (Genchi *et al.*, 2011). Uma das proteínas perdida através da urina é a antitrombina III, cuja função é evitar a formação de coágulos, aumentando assim a probabilidade de ocorrência de trombos nestes casos (Genchi *et al.*, 2011; Shaikevich *et al.*, 2019).

## 2.5. Sinais Clínicos

A apresentação clínica dos animais pode variar consoante o estágio da doença (tabela 1), no entanto a maioria dos cães apresentam-se assintomáticos durante longos períodos de tempo ou apenas com tosse crónica produtiva que se acentua após o exercício físico (McCall *et al.*, 2008a; Bowman & Atkins, 2009). Quanto mais tardio for o diagnóstico da dirofilariose, mais marcados serão os sinais clínicos e as alterações hematológicas, uma vez que se trata de uma doença de caráter crónico e evolutivo (Villanueva-Saz *et al.*, 2020).

Os sinais clínicos mais comumente observados incluem intolerância ao exercício, tosse esporádica que se torna cada vez mais frequente, hemoptise, taquipneia, dispneia e síncope (Atkins, 2005). À medida que a infeção progride, os sinais clínicos podem incluir tromboembolismo pulmonar, hipertensão pulmonar e sistémica, insuficiência cardíaca direita, insuficiência cardíaca congestiva, insuficiência renal, síndrome de veia cava ou morte (Ames & Atkins, 2020). O diagnóstico precoce é determinante na prevenção de complicações, bem como na progressão da doença (McCall *et al.*, 2008). Nos casos mais avançados, em que existe hipertensão pulmonar, pode detetar-se à auscultação um sopro cardíaco de galope do lado direito, assim como batimentos atriais e ventriculares prematuros, ascite e distensão da veia jugular (Atkins, 2005).

### 2.5.1. Classificação da dirofilariose

**Tabela 1** – Estadiamento da dirofilariose (Adaptado de Carretón *et al.*, 2012 e Villanueva-Saz *et al.*, 2020)

| Grau de parasitismo                   | Sinais clínicos                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Grau I:</b> Leve                   | Sem sinais clínicos, ou a existirem, serão ligeiros                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| <b>Grau II:</b> Moderado              | Tosse ocasional, fadiga, intolerância ao exercício físico                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>Grau III:</b> Grave                | Dispneia, hemoptise ou epistaxis, auscultação pulmonar anormal (crepitação ou estertores), intolerância ao exercício<br><br><u>Casos mais graves:</u> perda de peso, caquexia, anorexia, tempo de repleção capilar (TRC) aumentado, distensão da veia jugular, hepatomegalia, mucosas pálidas ou ictéricas, síncope, ascite, hidropericárdio/hidrotórax |
| <b>Grau IV:</b> Síndrome de veia cava | Auscultação cardíaca alterada (sopro marcado), <i>stress</i> respiratório marcado, taquicardia, taquipneia, choque cardiogénico, pulso femoral débil, letargia, debilidade, síncope, morte                                                                                                                                                              |

### 2.6. Diagnóstico

O diagnóstico da dirofilariose obtém-se através da confirmação da presença dos parasitas no animal, no entanto existem sinais clínicos possíveis de detetar durante o exame de rotina que levam a que o Médico Veterinário suspeite da presença da *D. immitis* (Hoch & Strickland, 2008). Através da recolha de sangue para pesquisa de microfilárias, teste da presença de antígenos em circulação no sangue, soro ou plasma ou por meio de exames complementares de diagnóstico como a análises sanguíneas, radiografia torácica ou ecocardiografia é possível obter a confirmação (Villanueva-Saz *et al.*, 2020).

A *American Heartworm Society* (AHS, 2018) recomenda que anualmente todos os animais que não realizem a profilaxia, sejam sujeitos ao teste de deteção de antígenos.

#### 2.6.1. ELISA

A ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorben Assay*) é o teste serológico de eleição no que respeita ao diagnóstico de dirofilariose, quer por ter uma elevada sensibilidade e especificidade (94,4% e 100%, respetivamente), quer por ser rápido e fácil de utilizar na prática clínica

(Henry *et al.*, 2018). Permite a deteção de antígenos de *D. immitis*, libertados como reação a uma proteína secretada essencialmente por fêmeas adultas, aproximadamente 6 meses após a infeção (Courtney & Zeng, 2001; Lee *et al.*, 2011; Henry *et al.*, 2018). No entanto, segundo a empresa Uranovet (2018), os testes mais recentes conseguem detetar não só as larvas fêmeas, mas também as larvas macho, assim como as infeções com apenas um parasita, independentemente do estágio em que se possa encontrar. Para que os resultados sejam o mais fidedignos possível, devem-se seguir as instruções do laboratório fabricante, pois a fiabilidade dos testes é afetada pelo local e condições de armazenamento, bem como pela forma como o teste é manipulado aquando da sua realização (AHS, 2018).

Existe atualmente um elevado número de testes disponíveis no mercado, e em todos eles, a reação cruzada com outras filárias está excluída (*D. repens*, *A. Reconditum*, *A. Dracunculoides*) (Carretón *et al.*, 2012). No caso de ocorrerem falsos negativos, geralmente, estes devem-se a erros técnicos durante a realização do teste, cargas parasitárias muito baixas, infeções com menos de 6 meses ou infeções apenas por filárias macho (Courtney & Zeng, 2001; Little *et al.*, 2018). Se a suspeita persistir, aconselha-se a repetição do teste dentro de 6 meses (Carretón *et al.*, 2012; Little *et al.*, 2018).

### 2.6.2. Observação direta

A gota fresca é útil quando o objetivo é detetar microfilárias (figura 3). Esta pesquisa, idealmente, deve realizar-se sempre (principalmente em animais suspeitos, mas que se apresentam como antígeno-negativos) de forma a conhecer o seu estado microfilarémico e adaptar o protocolo terapêutico (Atkins, 2005; Genchi *et al.*, 2007). Podem ocorrer falsos negativos por ser uma técnica pouco sensível (Genchi *et al.*, 2007). Outro dos motivos pelos quais os resultados podem ser falsosnegativos deve-se a alguns animais poderem apresentar-se amicrofilarémicos devido à realização prévia de profilaxia, destruição imunomediada de microfilárias ou devido a infeções parasitárias apenas com larvas do mesmo género (Atkins, 2005).

A técnica consiste em colocar uma gota de sangue numa lâmina, cobrindo com uma lamela e posteriormente avaliar ao microscópio ótico na objetiva de 10x. Nos casos positivos, observam-se as microfilárias em movimentos rápidos entre os glóbulos vermelhos (Villanueva-Saz *et al.*, 2020). A diferenciação entre filárias de *D. immitis* e *D. rapens* não é possível, no entanto as primeiras caracterizam-se por movimentos ondulantes e sem progressão (Genchi *et al.*, 2007; Villanueva-Saz *et al.*, 2020).



**Figura 3** – Observação de uma microfilária ao microscópio ótico em gota fresca na objetiva de 10x (Villanueva-Saz *et al.*, 2020)

### 2.6.3. Teste de *Knott*

O teste de *Knott* modificado permite detetar a presença de microfilariémia, contudo, podem existir falsos negativos caso o animal se encontre amicrofilarémico ou a quantidade destas na amostra de sangue recolhido não for suficiente (Panarese *et al.*, 2020). A técnica exige a colheita de 1ml de sangue venoso para um tubo com anticoagulante (EDTA ou heparina), misturado posteriormente com 9ml de formalina a 2%, seguindo-se a centrifugação a 1500 rpm (rotações por minuto) durante 5 minutos. Após se descartar o sobrenadante, adiciona-se azul de metileno e coloca-se uma gota numa lâmina de microscópio, cobre-se com uma lamela e procede-se à avaliação no microscópio ótico (objetiva de 100x) (Magnis *et al.*, 2013; Panarese *et al.*, 2020).

### 2.6.4. Teste da fosfatase ácida

O método histoquímico ou teste da fosfatase ácida trata-se de um procedimento cuja coloração permite diferenciar morfológicamente as espécies de microfilárias em função da distribuição somática em que se encontra a atividade das enzimas ácidas (Genchi *et al.*, 2007). A “positividade” do teste identifica-se através da coloração roxa consoante as seguintes regiões:

- *Dirofilaria immitis*: reação positiva no poro anal e ao redor do poro excretor;
- *Dirofilaria repens*: reação positiva somente no poro anal (Krucik, *et al.*, 2016).

### 2.6.5. Alterações hematológicas

As análises clínicas não são consideradas um método de diagnóstico de eleição no que diz respeito à dirofilariose por serem pouco específicas, no entanto em animais com sinais clínicos marcados as alterações laboratoriais encontram-se diretamente relacionadas com a gravidade e duração da infeção (tabela 2) (Villanueva-Saz *et al.*, 2020; Bendas *et al.*, 2022).

**Tabela 2** – Alterações hematológicas mais comuns causadas pela *D. immitis* (Adaptado de Carretón *et al.*, 2012)

| Análise                      | Alteração                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Hemograma</b>             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Normal ou ligeira anemia normocítica, normocrómica;</li> <li>• Hemólise nos casos de animais com síndrome de veia cava</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                |
| <b>Leucograma</b>            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Desvio à esquerda;</li> <li>• Leucocitose (por fagocitose de filárias mortas);</li> <li>• Linfopenia (secundário ao stress);</li> <li>• Eosinofilia</li> </ul>                                                                                                                                                                                   |
| <b>Provas de coagulação</b>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Alterações significativas em casos de tromboembolismo grave;</li> <li>• Trombocitopenia;</li> <li>• Hiperfibrinogenemia;</li> <li>• Coagulação intravascular disseminada em síndromes de veia cava;</li> <li>• Tempo de protrombina, protromboplastina parcial ativada e tempo de coagulação ativada aumentados</li> </ul>                       |
| <b>Bioquímicas hepáticas</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fosfatase alcalina (FA), alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) aumentadas apenas em animais com grande carga parasitária ou síndrome de veia cava;</li> <li>• ALT aumentada significa degeneração hepatocelular ou necrose;</li> <li>• AST aumentada é compatível com alterações hepáticas ou miocárdicas</li> </ul> |
| <b>Bioquímicas renais</b>    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ureia e creatinina frequentemente aumentadas;</li> <li>• Albumina quando baixa é indicativo de lesão renal progressiva e irreversível ou insuficiência hepática grave</li> </ul>                                                                                                                                                                 |

#### 2.6.6. Marcadores de lesão cardiopulmonar

Os biomarcadores cardiopulmonares são moléculas possíveis de se encontrarem em circulação após lesão do endotélio. Não só se revelam bons indicadores de prognóstico, mas também são ferramentas fundamentais no que respeita à escolha dos protocolos de tratamento, uma vez que permitem conhecer as lesões causadas pela dirofilariose e a gravidade das mesmas (Yoon *et al.*, 2017).

##### 2.6.6.1. D-Dímero

O D-dímero é um produto que surge como resultado da degradação da fibrina (durante o processo de fibrinólise) após a formação de um trombo constituído por fibrinogénio plasmático, sendo possível avaliá-lo serologicamente (Nelson & Andreasen, 2003; Johnson *et al.*,

2019). O aumento dos níveis de D-dímero (valores superiores a 0,4 mg/L são considerados patológicos) são proporcionais à atividade fibrinolítica e, consequentemente, maior probabilidade de ocorrerem tromboembolismos (Johnson *et al.*, 2019). Quando ocorre morte larvar, torna-se imprescindível a avaliação deste produto, de forma a conhecer a probabilidade de formação de novos trombos (Carretón *et al.*, 2012; Johnson *et al.*, 2019).

Segundo Carretón *et al.* (2012) 47% dos cães que são diagnosticados com *D. immitis* (principalmente os que têm microfílias em circulação) apresentam valores de D-dímero altos, ficando assim em situação de maior probabilidade de desenvolverem trombos ou coagulação intravascular disseminada.

#### **2.6.6.2. Péptidos natriuréticos**

O proBNP (péptido natriurético do tipo B) é um péptido produzido pelos miócitos, sendo libertado para a corrente sanguínea em resposta a alterações, nomeadamente hipoxia, distensão na parede dos ventrículos e sobrecargas de volume (Vanderheyden *et al.*, 2004). Quando se liberta das células do músculo cardíaco, ocorre a sua lise por via enzimática que o divide em dois fragmentos: o BNP que é o fragmento ativo e o NT-proBNP que constitui o fragmento inativo (Vanderheyden *et al.*, 2004). Este último tem um tempo de semivida maior em cães e gatos, para além de atingir concentrações séricas mais elevadas quando comparado com o primeiro, fazendo dele um elemento de diagnóstico mais eficaz no que diz respeito à avaliação de cardiomiopatias (Carretón *et al.*, 2014; McEwan *et al.*, 2022)

#### **2.6.6.3. Troponinas**

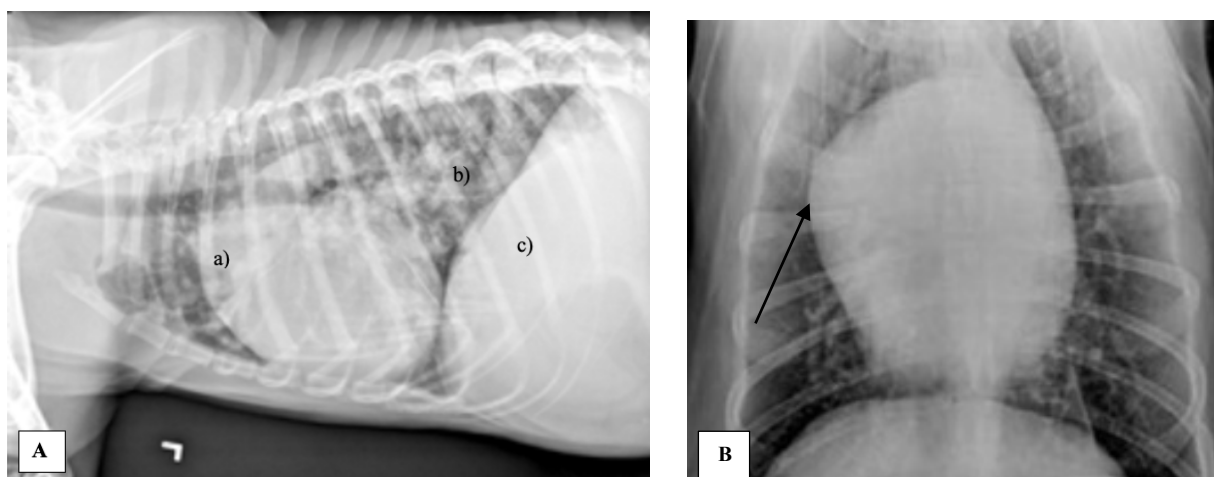
As troponinas T e I, são proteínas exclusivamente presentes no músculo do miocárdio, cuja função é promover a contratilidade das células cardíacas (Perrone *et al.*, 2021). Perante episódios de isquemia ou necrose, a troponina I aumenta serologicamente para valores patológicos, indicando lesões cardíacas (Carretón *et al.*, 2012). Ainda que os seus aumentos sejam pequenos, representam sempre lesão no miocárdio, tornando-se assim marcadores com grande valor diagnóstico que permitem a deteção precoce de lesões ao nível cardíaco (Langhorn & Willesen, 2016).

#### **2.6.7. Radiografia**

A avaliação de radiografias torácicas, sem outro meio complementar de diagnóstico, revela-se insuficiente para um diagnóstico final de dirofilariose, contudo, são úteis como

complemento permitindo avaliar a gravidade da doença cardíaca instalada, bem como as alterações presentes no parênquima pulmonar e, desta forma, obter um prognóstico (Hoch & Strickland, 2008; Bowman & Atkins, 2009). As radiografias de tórax são ainda um bom auxiliar no que respeita à avaliação das complicações causadas pelos fármacos adulticidas (Rawlings, 1986). Devem sempre realizar-se duas projeções radiográficas ortogonais (dorsoventral ou ventrodorsal e laterolateral). Na projeção dorsoventral/ventrodorsal observa-se principalmente a silhueta cardíaca e a artéria pulmonar, enquanto que na projeção laterolateral se avalia a dilatação da artéria pulmonar direita e tronco pulmonar (Bowman & Atkins, 2009).

Nas fases iniciais da doença, as alterações incidem principalmente nas artérias pulmonares caudais direitas, posteriormente, em fases mais avançadas, nas artérias dos lobos craniais e artéria pulmonar principal e, por fim, nas câmaras cardíacas (Villanueva-Saz *et al.*, 2020). Como consequência do aumento da silhueta cardíaca, ocorre deslocamento dorsal da traqueia (Carretón *et al.*, 2012). É frequente observarem-se as artérias pulmonares dilatadas devido à endoartrite e hipertensão pulmonar instalada, bem como maior tortuosidade destas (Figura 4) (Carretón *et al.*, 2012). No que diz respeito ao parênquima pulmonar, o padrão intersticial é o mais característico da parasitose (Villanueva-Saz *et al.*, 2020). As alterações devem-se à resposta inflamatória consequente da presença de parasitas adultos ou microfilárias e, em última instância, aquando da morte dos parasitas devido a fenómenos de tromboembolismo, o que se traduz em aumentos da densidade radiográfica (Carretón *et al.*, 2012; Villanueva-Saz *et al.*, 2020; Serrano-Parreño *et al.*, 2017). Não menos importante é referir que em alguns casos também pode estar presente linfadenopatia bronquial e efusão pleural (Bowman & Atkins, 2009; Serrano-Parreño *et al.*, 2017). Apesar das lesões acima descritas serem as mais frequentemente observadas, não é incomum a imagem radiográfica de “D invertido” (muito característica de dirofilariose e que pode ser observada na figura 4) que surge quando os parasitas se alojam no ventrículo ou átrio direito (Villanueva-Saz *et al.*, 2020).



**Figura 4** – Radiografia torácica de um cão com *D. immitis* grave em projeção laterolateral (A) e ventrodorsal (B). Na figura A observa-se um aumento da artéria pulmonar (a), ao nível pulmonar observa-se um padrão brônquico e intersticial nodular (b). Na região abdominal confirma-se a ascite através da perda de definição da zona (c). Na figura B, a imagem é de um típico “D-invertido” (seta) (AHS, 2018).

#### 2.6.8. Ecocardiografia

A ecografia cardíaca permite a observação das dirofilárias, das dimensões das câmaras cardíacas, assim como da velocidade, direção e características do fluxo sanguíneo, no entanto, a sua eficácia e sensibilidade está dependente do Médico Veterinário que a realiza (capacidades técnicas e conhecimentos científicos/anatómicos), bem como da carga parasitária do animal (Shearer, 2011). Os nematodes adultos de *D. immitis* são hiperecogénicos, contudo, não é considerado um método diagnóstico de eleição desta parasitose, uma vez que nos casos em que os animais se apresentem com baixas cargas parasitárias ou as larvas estejam alojadas nos ramos periféricos das artérias pulmonares, a sua visualização fica comprometida (Venco *et al.*, 2008; Bowman & Atkins 2009; AHS 2018). Relativamente a animais que se apresentem com uma carga parasitária elevada, a probabilidade das larvas se encontrarem alojadas na artéria pulmonar principal, ramos interlobares direito e esquerdo ou na parte direita do coração é maior e, portanto, mais facilmente identificadas ao exame ecocardiográfico (figura 5) (AHS, 2018).

Caso se utilize o doppler, este permite avaliar indiretamente o grau de hipertensão pulmonar e pressão sistólica, através da observação da regurgitação ao nível das válvulas tricúspide e válvula pulmonar (Nelson & Couto, 2014).

Em animais com síndrome de veia cava instalada, esta pode ser confirmada através deste meio complementar de diagnóstico, sendo ainda possível determinar as dimensões do

coração, bem como o rácio entre dimensão do ventrículo esquerdo e ventrículo direito (rácio de 3:4 em animais saudáveis) (Gomes, 2009; Vezozosi *et al.*, 2018).



**Figura 5** – Ecocardiografia de animal com carga parasitária de *D. immitis* elevada. Ecografia no espaço paraesternal direito onde se observam os parasitas ao longo da artéria pulmonar (PA), assim como dilatação desta. O ventrículo direito (RV) encontra-se hipertrofiado e com presença de dirofírias observáveis devido à sua hiperecogenicidade, enquanto que o átrio direito está dilatado (AD) (AHS, 2018).

## 2.7. Prevenção

A melhor forma de mitigar a *D. immitis* é através da profilaxia, utilizando regularmente anti-helmínticos, mais concretamente lactonas macrocíclicas, que têm como principal objetivo eliminar larvas que se encontrem nos estádios L3 e L4. A desparasitação com lactonas macrocíclicas não protege somente os animais aos quais se administra o anti-helmíntico, mas também diminui a incidência da parasitose em cães sem profilaxia (“imunidade de rebanho”) (McCall *et al.*, 2014). Idealmente, a prevenção deve ter início um mês antes da época prevista para o pico da transmissão e terminar um mês após esta (McCall *et al.*, 2014; AHS, 2018).

As lactonas macrocíclicas mais utilizadas e disponíveis em Portugal são as seguintes: Ivermectina e Pirantel (Heartgard®), Milbemicina oxima e Praziquantel (Milbemax®), Moxidectina e Imidaclopride (Advocate®), Moxidectina (Guardian® e Afilaria®), Selamectina (Stronghold®). As doses e mecanismos de ação podem ser consultados na tabela 3 (Carretón *et al.*, 2012; Atkins, 2017; Apifarma, 2018; DGAV, 2019). Para que a proteção contra a dirofilariose seja efetiva, as administrações deverão ser mensais, com exceção da moxidectina injetável que apresenta um período de eficácia de um ano e é administrada por via subcutânea (Carretón *et al.*, 2012). Ao falhar um mês de profilaxia, a eficácia contra as formas larvares L4

decai, ainda que, teoricamente, as lactonas macrocíclicas possam ser administradas (quer as por via oral, quer as tópicas) em períodos de 30 a 60 dias, no entanto aconselha-se a sua administração mensal consecutiva (Atkins, 2017; Apifarma, 2018; DGAV, 2019).

Outra forma de prevenir a dirofilariose é aplicando fármacos repelentes que evitem e/ou impeçam a picada dos HI, como por exemplo, colocando uma coleira impregnada com Imidacloprida e Flumetrina (Seresto ®) ou impregnada com Deltametrina (Scalibor ®) (Bowman, 2012; Apifarma 2018).

O motivo pelo qual as lactonas macrocíclicas são comercializadas juntamente com outros princípios ativos prende-se no facto de obter um maior espectro de ação e, desta forma, permitir o controlo de outras parasitoses como, por exemplo, parasitas gastrointestinais e parasitas externos (Genchi *et al.*, 2007a).

Segundo Villanueva-Saz *et al.* (2020) a prevenção deve ter início a partir das oito semanas de idade, caso contrário deverá realizar-se um teste para descartar/confirmar a presença da doença 6 meses após a primeira profilaxia.

No que diz respeito à toxicidade das lactonas macrocíclicas em animais com deficits de glicoproteína P (consequência de uma mutação no gene MDR1/ABCB1), caso de algumas raças de Collie, está atualmente comprovado que são seguras em todas as raças desde que administradas nas doses profiláticas recomendadas (Mealey, 2008; Villanueva-Saz *et al.*, 2020).

**Tabela 3** – Descrição das lactonas macrocíclicas (Adaptado de Carretón *et al.*, 2012; Atkins, 2017; Apifarma, 2018; DGAV, 2019)

| Lactonas macrocíclicas | Dose preventiva                                                                  | Ação                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ivermectina            | 6 µg/kg                                                                          | <ul style="list-style-type: none"> <li>Elimina larvas no estágio L3 e L4, e também alguns parasitas adultos no estágio L5, quando administrada mensalmente.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                   |
| Milbemicina            | 500 µg/kg                                                                        | <ul style="list-style-type: none"> <li>Eficaz na eliminação de microfilárias L3 e L4, no entanto, não é tão eficaz na eliminação de parasitas adultos como a ivermectina.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                     |
| Selamectina            | 6 mg/kg                                                                          | <ul style="list-style-type: none"> <li>A mesma dose mostra-se eficaz contra infestações de parasitas externos, nomeadamente <i>Otodectes spp.</i> e <i>Sarcoptes spp.</i>, pulgas, piolhos mastigadores e nematodes intestinais.</li> </ul>                                                                                                                                                              |
| Moxidectina            | 0,05 ml/kg (nos casos de administração subcutânea anual)<br>ou<br>3 µg/kg (oral) | <ul style="list-style-type: none"> <li>A moxidectina quando injetável (Guardian®) tem capacidade de proteção durante um ano, uma vez que as microsferas do composto são de libertação lenta;</li> <li>A moxidectina em comprimidos mastigáveis oferece proteção específica contra a dirofilariose, contudo, ao contrário da injetável, esta tem que ser administrada mensalmente (Afilaria®).</li> </ul> |

## 2.8. Tratamento

### 2.8.1. Tratamento médico

O tratamento de animais com dirofilariose tem como principais objetivos a sua recuperação clínica, eliminação de todos os estádios larvares e reduzir ao máximo as complicações inerentes ao tratamento. Atualmente, a avaliação do risco de complicações baseia-se na probabilidade de ocorrerem tromboembolismos (Carretón *et al.*, 2013).

Em animais que apresentem sinais clínicos da doença em graus avançados, deve existir uma vigilância mais cuidada durante e após o tratamento, uma vez que o risco de efeitos secundários é maior (Carretón *et al.*, 2016). Em alguns casos recomenda-se a utilização de corticosteroides, diuréticos, vasodilatadores, inotropos positivos ou fluidoterapia antes de dar início ao tratamento adulticida (AHS, 2018).

As moléculas direcionadas para a eliminação da *Dirofilaria immitis* podem dividir-se em função da sua principal atividade: tratamento microfilaricida e adulticida (Villanueva-Saz

*et al.*, 2020). Durante o processo de morte larvar, será necessário a administração de outros tratamentos complementares para combater a simbiose existente com a bactéria *Wolbachia spp.*, bem como terapia de suporte (Kramer *et al.*, 2018).

A terapêutica de eliminação das larvas migratórias L3 e L4 em circulação deve realizar-se em concomitância ao da *Wolbachia spp.* e primeiramente ao das adultas, pois se se iniciasse diretamente o tratamento adulticida, estes seriam rapidamente substituídos pelas microfilárias (Carretón *et al.*, 2012). O tratamento microfilaricida passa pela administração de lactonas macrocíclicas durante 2 a 3 meses consecutivos previamente ao adulticida, causando a morte de larvas até 2 meses de idade e oferecendo tempo às que tenham idade superior de atingirem a idade adulta e serem, posteriormente, eliminadas pelo tratamento adulticida (Kramer *et al.*, 2018). A lactona macrocíclica de eleição é a ivermectina, em doses preventivas, por promover um espectro de ação mais amplo e se apresentar mais eficaz no que respeita aos vários estádios larvares, já a milbemicina, apesar de também apresentar boa eficácia, provoca uma morte larvar mais rápida, produzindo assim, nos casos em que existe uma quantidade massiva de microfilárias, um risco mais elevado de ocorrerem efeitos secundários indesejados, tais como choque anafilático e pneumonite alérgica (Carretón *et al.*, 2012). Os efeitos secundários mais comuns do tratamento microfilaricida são a palidez das mucosas, inapetência, letargia, sialorreia e taquicardia, podendo estes surgir entre 3 a 12 horas após a toma (Ware, 2014). Os efeitos do microfilaricida podem ser evitados ou minimizados através da administração de prednisolona (1mg/kg por via oral (PO)), dexametasona (0,25 mg/kg por via endovenosa (EV)), ambos corticosteroides, ou ainda com a administração de antihistaminico (definhidramina na dose de 1mg/kg por dia EV ou intramuscular (IM)), 1 hora antes da toma da lactona macrocíclica, podendo-se repetir 6 horas depois (Alonso & Gómez, 2012; Ware, 2014; Villanueva-Saz *et al.*, 2020).

A melarsomina dicloridrato (Immiticide ®) é atualmente a única terapêutica adulticida disponível no mercado, devendo a sua administração ser por via IM profunda na região lombar (idealmente entre as vértebras lombares 3 e 5) numa dose de 2,5 mg/kg perfazendo um total de três administrações. A primeira administração deverá ser realizada no dia 60 após o início do tratamento, a segunda um mês após a primeira (dia 90) e a terceira administração após 24 horas (dia 91) (AHS, 2018). A primeira administração tem a capacidade de eliminar aproximadamente 50% das filárias suscetíveis e, uma vez que as restantes administrações acontecem após um mês, permite que os pulmões recuperem o suficiente para suportar a restante eliminação larvar (Villanueva-Saz *et al.*, 2020). No caso de os sinais clínicos persistirem, pode atrasar-

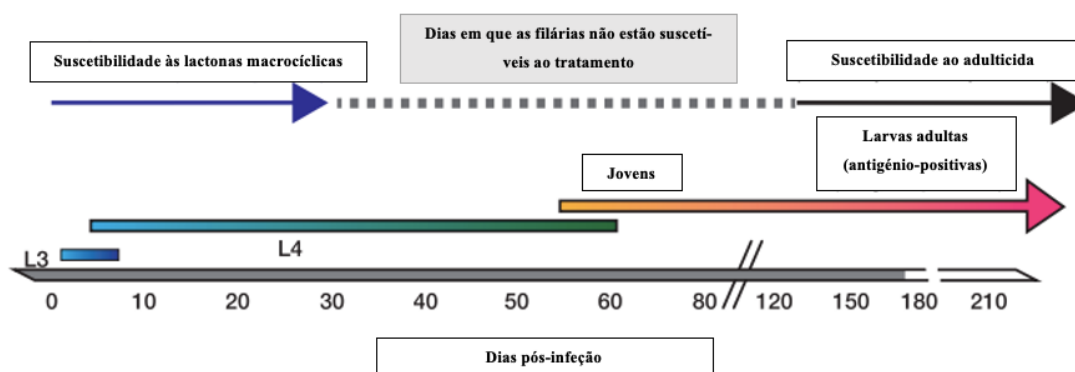
se a administração desta (Villanueva-Saz *et al.*, 2020). Um dos principais riscos da administração de melarsomina são os tromboembolismos e, portanto, é fundamental que exista total restrição de exercício físico de forma a minimizar o grande fluxo sanguíneo nos vasos. Esta restrição deve manter-se nas 4 a 8 semanas seguintes à injeção do adulticida, no entanto, idealmente deverá começar no dia do diagnóstico (Serrano-Parreño *et al.*, 2017).

Segundo Bazzocchi *et al.* (2008) e Villanueva-Saz *et al.* (2020), os efeitos adversos relacionados com o adulticida no momento da administração incluem dor e edema no local da injeção, bem como aumento da sensibilidade no local, hipersalivação, tremores musculares, ataxia e vômitos. Podendo ainda ocorrer diarreias, depressão, anorexia, febre, abscessos, seroma ou fibrose no local da injeção nos dias seguintes à sua administração. Os mesmos autores referem que, para além do repouso total, é possível mitigar estes efeitos através de oxigenoterapia, administração de corticosteroides (prednisona ou prednisolona), com respetivo desmame gradual do medicamento e tendo em consideração os valores de D-dímero, uma vez que a administração de corticosteroides em associação a valores altos deste, pode ter um efeito pró-coagulante indesejado.

Se os animais se apresentarem com stress respiratório e mal-estar geral, pode adicionar-se fármacos opioides como o butorfanol (0,4 mg/kg por via IM a cada 2 a 4 horas) ou morfina (0,3 mg/kg por via subcutânea (SC) a cada 4 a 6 horas) (Bazzocchi *et al.*, 2008; Nelson & Couto, 2014; Villanueva-Saz *et al.*, 2020).

Na figura 6 encontra-se representada a suscetibilidade das filárias à terapêutica médica acima referida, enquanto que na tabela 4 é possível observar um protocolo de tratamento elaborado pela *American Heartworm Society* (AHS, 2018).

Relativamente ao tratamento da bactéria Gram negativa *Wolbachia spp.*, este consiste na administração PO de uma tetraciclina, dando-se preferência à doxiciclina por atuar em todos os estádios larvares da *D. immitis*, numa dose de 10 mg/kg de 12 em 12 horas (BID) durante 4 semanas, sendo que esta apresenta uma eficácia de eliminação de 95% desta bactéria, inibindo também a reprodução das filárias (Carretón *et al.*, 2012; AHS, 2018). Se o animal demonstrar intolerância ao antimicrobiano, pode reduzir-se a dose para metade (5 mg/kg) (Carretón *et al.*, 2012). Se existirem outras infeções, correlacionadas ou não com a dirofilariose, é importante garantir que a doxiciclina não é administrada com penicilinas, aminoglicosídeos ou cefalosporinas, uma vez que para além de reduzir o efeito destes antimicrobianos, sobrecarrega a função hepática e renal (Rossi *et al.*, 2010; Kramer *et al.*, 2018; AHS 2018).



**Figura 6** – Períodos de suscetibilidade ao tratamento. A cronologia demonstra quando é que os diferentes estádios larvares são suscetíveis aos tratamentos administrados. O tracejado representa o período em que a *D. immitis* não se encontra sensível a nenhum dos tratamentos aplicados (tempo entre o microfilaricida e crescimento das larvas juvenis até serem adultas e sensíveis ao adulticida) (AHS, 2014).

**Tabela 4** –Protocolo de tratamento recomendado pela *American Heartworm Society* (2018)

| <b>Dia</b>        | <b>Tratamento</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Dia 0</b>      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Diagnóstico positivo para dirofilariose (teste de antígenos positivo e presença de microfírias. Caso de não sejam observadas microfírias circulantes repetir o teste de antígenos);</li> <li>• Dar início à restrição de exercício;</li> <li>• Aplicar coleira impregnada com inseticida ou repelente com eficácia contra os vetores transmissores;</li> <li>• Se o animal apresentar sinais clínicos: <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Estabilização do mesmo</li> <li>○ Prescrição de prednisolona: 0,5 mg/kg, BID, PO, <u>durante uma semana</u>; 0,5 mg/kg de 24 em 24 horas (SID) <u>durante uma semana</u> e, por fim, 0,5 mg/kg a cada 48h na <u>terceira e quarta semana</u>.</li> </ul> </li> </ul> |
| <b>Dia 1</b>      | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Administração de dose preventiva de uma lactona macrocíclica;</li> <li>• Se tiver sido confirmada a presença de microfírias administrar prednisolona (caso ainda não tenha iniciado), reduzindo a probabilidade de anafilaxia;</li> <li>• Observação do animal durante pelo menos 8 horas de forma a confirmar que não há reações adversas.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>Dia 1 – 28</b> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Doxíciclina (10mg/Kg, BID, PO, durante 4 semanas.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>Dia 30</b>     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Administração de dose preventiva de uma lactona macrocíclica;</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| <b>Dia 60</b>     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Administração de dose preventiva de uma lactona macrocíclica;</li> <li>• Primeira injeção de melarsomina (2,5 mg/kg por via IM)</li> <li>• Prescrição de prednisolona: 0,5 mg/kg, BID, PO, <u>durante uma semana</u>; 0,5 mg/kg, SID, <u>durante uma semana</u> e, por fim, 0,5 mg/kg a cada 48h na <u>terceira e quarta semana</u>.</li> <li>• Restrição máxima de exercício, confinar o animal.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>Dia 90</b>     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Administração de dose preventiva de lactona macrocíclica;</li> <li>• Segunda injeção de melarsomina.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>Dia 91</b>     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Terceira injeção de melarsomina;</li> <li>• Seguir com a restrição total de exercício durante, pelo menos, mais 6 a 8 semanas;</li> <li>• Prescrição de prednisolona: 0,5 mg/kg, BID, PO, <u>durante uma semana</u>; 0,5 mg/kg, SID, <u>durante uma semana</u> e, por fim, 0,5 mg/kg a cada 48h na <u>terceira e quarta semana</u>.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Dia 120</b>    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Teste de deteção de microfírias; <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Se positivo fazer tratamento microfilaricida e repetir teste dentro de 4 semanas;</li> </ul> </li> <li>• A administração da dose preventiva de lactona macrocíclica deve manter-se todo o ano.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| <b>Dia 365</b>    | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Teste de pesquisa de antígenos 9 meses após a última administração de melarsomina;</li> <li>• Caso o teste seja positivo, repetir o tratamento com a doxíciclina, seguindo-se a administração de duas doses de melarsomina com 24 horas de diferença.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |

Caso o animal se apresente positivo no teste de antígeno 6 meses após o término do tratamento, aguardar mais 2-3 meses e repetir o teste, uma vez que ainda podem existir antígenos em circulação apesar do animal já não se encontrar infetado (Carretón *et al.*, 2012).

Animais que apresentem sinais clínicos de insuficiência cardíaca direita e/ou glomerulonefrite, podem ser submetidos a tratamento com furosemida e IECAS (inibidores da enzima conversora de angiotensina), devendo melhorar significativamente 2 a 3 meses após terminar o tratamento adulticida (Carretón *et al.*, 2012; Noack *et al.*, 2021).

### **2.8.2. Tratamento cirúrgico**

A cirurgia, em casos de dirofilariose, consiste na remoção das larvas com técnicas de mínima invasão, onde se utilizam pinças/forceps de jacaré flexíveis e um fluoroscópio (ou ecocardiografia transesofágica), sendo considerado um método mais seguro quando comparado com a administração de melarsomina, uma vez que há menos risco de tromboembolismo (Moroni *et al.*, 1998; Atkins, 2017). O principal objetivo da técnica é a redução/eliminação da carga parasitária na artéria pulmonar e ramos lobares (Ware, 2014). No caso de o objetivo consistir em retirar os nematodes do átrio direito do coração, introduz-se um fórceps através da veia jugular direita com o animal em decúbito lateral esquerdo. Os instrumentos de eleição são os fórceps ou escovas que retiram os parasitas (Ware, 2014). Mais recentemente, foi desenvolvida uma nova técnica adaptada da medicina humana, utilizando um laço não traumático (Alho *et al.*, 2016).

Segundo Bowman & Atkins (2009) a técnica cirúrgica de remoção dos parasitas mostrou-se com uma eficácia de 90%, no entanto após a cirurgia, o animal continua a necessitar de melarsomina, administrada em 2 doses, garantindo assim a total eliminação da parasitose. Nos casos em que ocorre síndrome de veia cava, a cirurgia é o método de tratamento de primeira escolha, pois reduz o risco de tromboembolismo associado à administração do adulticida. Nestas situações, uma vez que se trata de uma urgência médico-veterinária, os animais hipovolémicos devem ser estabilizados com fluidoterapia adequada, melhorando também a função hemodinâmica e renal (Marinov & Zlateva-Panayotova, 2019).

### **2.9. Prognóstico**

Quando a infeção não se encontra acompanhada de sinais clínicos, o prognóstico geralmente é bom, enquanto que nos casos em que a doença se encontra em estado avançado e com sinais clínicos evidentes o prognóstico considera-se reservado, apesar de que na maioria

dos casos, os animais respondem positivamente à terapêutica (Bowman & Atkins, 2009). O prognóstico agrava-se quando a infeção está associada a coagulação intravascular disseminada, síndrome de veia cava, embolização, doença arterial pulmonar grave ou insuficiência cardíaca, onde o prognóstico se considera muito reservado. Os casos de síndrome de veia cava, tratam-se de urgências médico-veterinárias com o paciente em estado crítico. As alterações radiográficas começam a melhorar após 3 a 4 semanas de se dar início ao tratamento adulticida, já a hipertensão pulmonar vai reduzindo ao longo dos meses (Bowman & Atkins, 2009; Atkins, 2017).

### **3. Materiais e métodos**

A escolha dos casos clínicos durante os 5 meses de estágio (1 de setembro de 2022 – 1 de fevereiro de 2023) no CAMV VetSam para o presente relatório de estágio, prendeu-se na grande incidência de dirofilariose que se observa na região de Samora Correia, situação cuja tendência se tem verificado ao longo dos anos.

A clínica oferece o tratamento para a respetiva parasitose segundo as *guidelines* da *American Heartworm Society*, promovendo ainda o esclarecimento quanto a esta aos tutores, bem como a importância da realização de profilaxia.

A informação relativa aos casos clínicos descritos, foi recolhida durante o acompanhamento das consultas no CAMV e análise dos registos clínicos de cada animal.

### 3.1. Caso clínico 1

**Anamnese e história clínica:** Canino, macho inteiro de raça indeterminada com 3 anos de idade. O cão foi encontrado em agosto de 2019, ainda cachorro. Iniciou na mesma altura a sua profilaxia vacinal CORE<sup>1</sup>, tendo os tutores optado por não realizar a prevenção da dirofilariose. Até à data, não tinha qualquer problema de saúde associado. Os tutores apresentaram-se a consulta com vista a realizar o teste de dirofilariose (ELISA), uma vez que tiveram outro cão que acabou por não resistir à doença.

**Exame físico:** O animal apresentava 25 Kg e no exame à distância encontrava-se em boa condição corporal. Ao exame físico a frequência cardíaca e respiratória encontrava-se dentro dos parâmetros fisiológicos, à auscultação cardiopulmonar não se detetou qualquer alteração, o tempo de repleção capilar (TRC) encontrava-se < 2 segundos, mucosas rosadas e ausência de desconforto à palpação abdominal.

**Exames complementares de diagnóstico:** Realização do teste de ELISA para pesquisa de antígenos de *D. immitis*, onde se obteve um resultado positivo (figura 7). Foi ainda enviado para laboratório externo sangue venoso num tubo de citrato de sódio de forma a analisar o valor de D-dímero que se encontrava alto (1,51 mg/L<sup>2</sup>). Uma vez que este valor se encontrava acima do fisiológico, aumentando a probabilidade de ocorrência de tromboembolismo, a mesma análise foi repetida um mês e meio após a primeira (0,7 mg/L) apresentando-se, a esta altura, próximo do valor considerado normal.



**Figura 7** – Teste de dirofilariose com resultado positivo (original da autora)

**Diagnóstico:** Dirofilariose.

---

<sup>1</sup> Profilaxia vacinal CORE: DHPPi + L4 (vacinação que protege contra a esgana, hepatite, adenovírus, parvovírus, parainfluenzas e leptospirose) e que se aconselha a todos os animais, apesar de não haver obrigatoriedade legal (Day *et al.*, 2016)

<sup>2</sup> O valor de referência normal para D-dímero, segundo o laboratório DNAtch é < 0,4 mg/L

**Tratamento:** O animal deu início à doxíciclina (10 mg/kg por via oral, BID durante 30 dias consecutivos) de forma a combater a endossimbiose com a bactéria *Wolbachia spp.* e foi prescrita prednisolona por via oral (0,5 mg/kg BID durante 8 dias; 0,5 mg/kg SID durante 8 dias e, por fim, 0,5 mg/kg de 48 em 48 horas durante 2 semanas). Aconselhou-se que a primeira toma do microfilaricida acontecesse 7 dias após iniciar o antimicrobiano e que fosse mantido repouso ao longo de todo o tratamento. Aquando da toma do segundo microfilaricida, foi recomendada a administração de prednisolona por via oral (0,5 mg/kg SID) no dia a anteceder a toma, no próprio dia e no dia seguinte. Após aproximadamente 2 meses e meio, iniciou-se a administração da melarsomina dicloridrato (2,5 mg/kg) por via IM profunda na região lombar esquerda, seguindo-se a segunda aplicação um mês após a primeira e a última 24 horas após esta (alternando sempre o lado em que se administrou o injetável). Em cada tratamento adulticida, administrou-se dexametasona (0,5 mg/kg) por via SC.

**Evolução clínica:** Ao longo de todo o tratamento realizado, o animal não apresentou qualquer sinal clínico característico da doença, com exceção da alteração analítica do valor de D-dímero, no entanto quando a análise foi repetida, este valor já se encontrava próximo do fisiológico, garantindo que a probabilidade de ocorrência de trombos estaria minimizada. A resposta ao tratamento revelou-se positiva na medida em que não se observaram reações adversas ao plano terapêutico.

**Prognóstico:** Uma vez que o animal se mostrou assintomático desde o dia em que o diagnóstico foi realizado até ao final do tratamento e não apresentou qualquer sinal clínico adverso à terapêutica realizada, o prognóstico considera-se bom.

### 3.2. Caso clínico 2

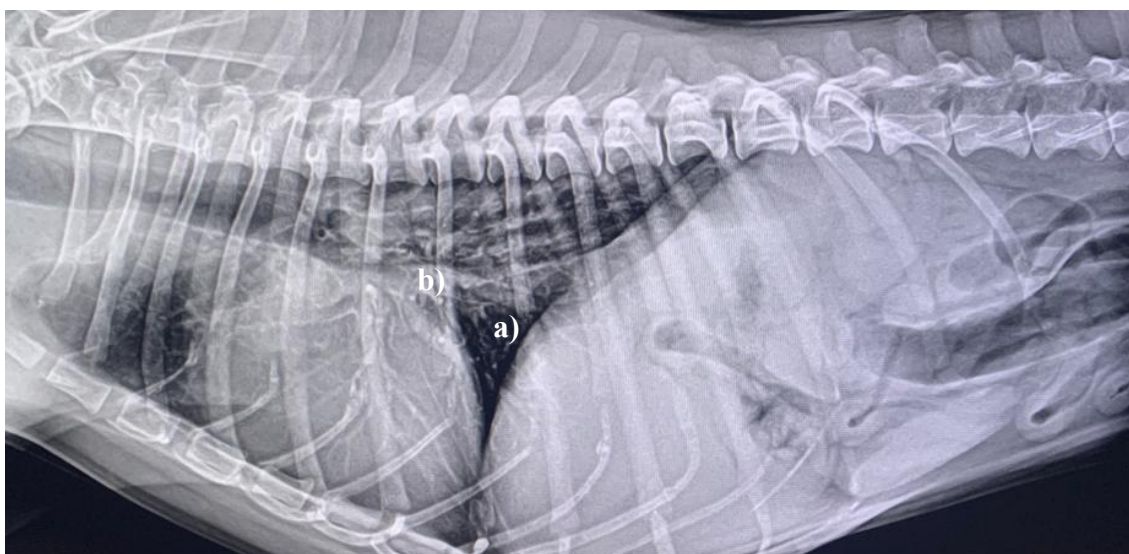
**Anamnese e história clínica:** Canino, macho inteiro, de raça pinscher com 10 anos de idade. A atual tutora ficou recentemente com o animal que pertencia à sua mãe, não tendo muitas informações sobre o mesmo para além de que nunca terá ido a nenhuma consulta médico-veterinária e que não tem qualquer vacinação profilática nem desparasitação. A tutora referiu que o cão tinha tosse intermitente há cerca de 3 dias, bem como urina mais escura. Segundo a tutora, o animal mantinha-se normalmente ativo, a alimentar-se, a beber água e com fezes normais.

**Exame físico:** O animal apresentava 5,5 Kg. A condição corporal estava abaixo do considerado normal. À auscultação cardiopulmonar foi detetado um sopro cardíaco audível de ambos os lados do tórax. Relativamente à palpação abdominal, o animal não apresentou qualquer desconforto, as mucosas encontravam-se rosa/pálido e o TRC < 2 segundos. A temperatura estava dentro dos parâmetros fisiológicos (38,9°C), não se tendo observado outras alterações clínicas.

**Lista de problemas:** Tosse intermitente, coloração da urina alterada, sopro cardíaco.

**Diagnósticos diferenciais:** Dirofilariose, tosse do canil (traqueobronquite canina infecciosa), colapso traqueal, insuficiência cardíaca, cistite, cristais urinários, insuficiência renal.

**Exames complementares de diagnóstico:** Teste rápido para deteção de antígenos de *D. immitis* (ELISA) com resultado positivo. Procedeu-se à recolha de sangue venoso e respetivo envio para laboratório externo num tubo de citrato de sódio, onde foi solicitado o valor de D-dímero que se encontrava alto (1,98 mg/L), o que significa que o risco de tromboembolismo era elevado. Com base neste valor consideravelmente alto, a análise foi repetida por mais duas vezes com intervalos de, aproximadamente, um mês acabando por estabilizar (1,95 mg/L e 0,28 mg/L, respetivamente). No laboratório interno foi realizado um hemograma, em que se observou linfopenia e monocitose (nos valores percentuais, nos absolutos encontrava-se dentro dos parâmetros normais), redução do número de glóbulos vermelhos com hematócrito baixo e baixo valor de hemoglobina, assim como uma anemia normocítica e normocromica. No que respeita às análises bioquímicas (ALT, FA, albumina, ureia e creatinina) apenas a ALT se encontrava aumentada. Foi ainda realizada uma radiografia (figura 8).



**Figura 8** –Radiografia caso clínico 2. Radiografia torácica em posição laterolateral onde se observa um padrão broncointericial (a) e um aumento da radiopacidade (b) devido à compressão bronquial causada pelo aumento do átrio esquerdo (Original da autora).

**Diagnóstico:** Dirofilariose acompanhada de sopro cardíaco e anemia normocítica e normocromica.

**Tratamento:** Com base no diagnóstico recomendou-se que o animal mantivesse repouso absoluto, iniciasse a doxiciclina (10 mg/kg por via oral, BID durante 30 dias consecutivos) com o objetivo de combater a endossimbiose com a bactéria *Wolbachia spp* e prescreveu-se ainda prednisolona PO (0,5 mg/kg BID durante 8 dias; 0,5 mg/kg SID durante 8 dias e, por fim, 0,5 mg/kg de 48 em 48 horas durante 2 semanas). Aconselhou-se ao tutor que a primeira toma do microfilaricida fosse 15 dias após iniciar o antimicrobiano, e que no dia a anteceder a toma, no próprio dia e no dia seguinte administrasse ao animal a prednisolona por via oral (0,5 mg/kg BID) retomando, após estes 3 dias, o esquema anteriormente combinado. Ao dia 60 do tratamento, foi administrada a primeira dose de melarsomina dicloridrato (2,5 mg/kg) por via IM profunda na região lombar direita, acompanhada de dexametasona por via SC (0,5 mg/kg) assim como nas duas seguintes administrações do adulticida (na mesma dosagem referida na primeira administração) aos dias 90 e 91 (alternando o lado de administração).

**Evolução clínica:** Ao longo do tratamento o animal foi revelando agravamento da tosse e demonstrando sinais de fadiga nos momentos em que realizava os desmames do corticosteroide, o que levou à prescrição de prednisolona numa dose mínima eficaz (0,25 mg/kg SID)

consecutiva. Ao contrário do primeiro injetável de melarsomina, o animal revelou dor na administração dos últimos dois. Um mês após terminar o protocolo de tratamento para a dirofilariose, o animal foi reavaliado e diagnosticou-se hipertensão através da medição da pressão arterial, tendo sido prescrito benazepril (0,5 mg/kg SID de manhã PO), bem como prednisolona por via oral (1 mg/kg SID durante 5 dias; 0,5 mg/kg SID durante 5 dias; 0,25 mg/kg SID durante 5 dias e, por fim, 0,25 mg/kg de 48 em 48 horas durante 1 semana).

**Prognóstico:** Em consideração aos sinais clínicos apresentados pelo animal, bem como o seu agravamento e a resposta apresentada ao tratamento, o prognóstico considera-se reservado.

### 3.3. Caso clínico 3

**Anamnese e história clínica:** Canino, macho esterilizado com 5 anos que foi adotado semanas antes da sua primeira consulta no CAMV. Já se encontrava diagnosticado com dirofilariose através da realização de um teste ELISA para pesquisa de antígenos de *D. immitis*, no entanto os atuais tutores não tinham conhecimento do tempo exato de doxiciclina que o animal já tinha feito, uma vez que no canil também não conseguiram informar corretamente. Desde a sua adoção que não apresentou sinais clínicos compatíveis com a infeção por *D. immitis*, tendo somente revelado diarreia que os tutores conseguiram controlar através de dieta com arroz e frango cozido. Atualmente é um animal *indoor* com acesso ao exterior. Os tutores apresentaram-se a consulta no CAMV VetSam, com o intuito de dar continuidade ao tratamento da dirofilariose, visto este já se encontrar diagnosticado com a doença.

**Exame físico:** O animal pesava 34 Kg e ao exame à distância encontrava-se bem, com uma boa condição corporal e sem alterações dignas de registo. À auscultação cardiopulmonar não foram detetadas quaisquer alterações, assim como na palpação abdominal. A temperatura estava dentro dos parâmetros fisiológicos (39,1°C) e as mucosas apresentavam uma cor rosada com TRC < 2 segundos.

**Lista de problemas:** Dirofilariose.

**Exames complementares de diagnóstico:** Foi recolhido sangue venoso para hemograma e análises bioquímicas (ALT, FA, albumina, globulinas, proteínas totais, glucose, ureia e creatinina), realizadas no laboratório interno, onde todos os parâmetros se encontravam dentro dos valores de referência. Com o objetivo de avaliar o valor de D-dímero e conhecer o risco de tromboembolismo existente, enviou-se sangue venoso em tubo de citrato de sódio para laboratório externo, encontrando-se este acima do valor considerado fisiológico (1,07 mg/L) e, por este motivo, a mesma análise foi repetida após um mês onde o mesmo valor tinha reduzido para 0,79 mg/L.

**Diagnóstico:** Dirofilariose.

**Tratamento:** Uma vez que o animal já tinha realizado a primeira etapa do protocolo de tratamento da dirofilariose (eliminação da bactéria *Wolbachia spp.*, através da administração de doxiciclina) procedeu-se à administração do primeiro microfilaricida, acompanhado de prednisolona em toma única (0,5 mg/kg PO) e recomendação de repouso ao longo do tratamento. Devido à indisponibilidade dos tutores, a primeira injeção de adulticida (2,5 mg/kg) ocorreu apenas ao dia 90 de tratamento por via IM profunda da região lombar esquerda juntamente com a administração de dexametasona (0,5 mg/kg) por via SC, tendo o animal ficado sob monitorização do CAMV nesse dia, a pedido dos tutores. O motivo prendeu-se no animal ser agitado e, nesse dia, não lhes ser possível garantir o total repouso deste. Os restantes injetáveis de melarsomina ocorreram, respetivamente, ao dia 120 e 121 com alternância do local de administração e, à medida da primeira vez, acompanhados de dexametasona (0,5 mg/kg) por via SC.

**Evolução clínica:** No decorrer de todo o tratamento o cão demonstrou-se sempre assintomático e respondeu de forma positiva à medicação administrada, revelando apenas dor e desconforto na administração do último tratamento adulticida, onde se prescreveu prednisolona por via oral (0,5 mg/kg) em toma única no dia seguinte ao injetável.

**Prognóstico:** Com base na ausência de sinais clínicos demonstrados pelo animal, bem como a sua evolução clínica e resposta à terapêutica realizada o prognóstico considera-se bom.

### 3.4. Caso clínico 4

**Anamnese e história clínica:** Canino, fêmea esterilizada, de raça indeterminada, com 11 anos. O animal era um paciente habitual no CAMV, no entanto, apesar de anualmente realizar o plano vacinal CORE, os tutores optaram por não fazer a prevenção da dirofilariose por esta residir apenas no interior da habitação. Ao longo dos anos, teve vários episódios de alterações gastrointestinais, procurando sempre ajuda médico-veterinária na mesma clínica. A esterilização foi realizada em 2020 de forma a resolver definitivamente os episódios recorrentes de pseudociese. O animal apresentava tosse intermitente há alguns dias, no entanto mantinha-se normalmente ativa e a alimentar-se bem.

**Exame físico:** O animal apresentava 5,6 Kg. Condição corporal ligeiramente abaixo do normal, auscultação cardiopulmonar sem alterações a considerar, palpação abdominal normal, temperatura dentro dos parâmetros fisiológicos (38,9°C). As mucosas encontravam-se com uma coloração rosada e o TRC < 2 segundos.

**Lista de problemas:** Tosse.

**Diagnósticos diferenciais:** Dirofilariose, colapso traqueal, insuficiência cardíaca.

**Exames complementares de diagnóstico:** No teste de pesquisa de antígenos de *D. immitis* (ELISA) obteve-se um resultado positivo. Seguiu-se com a recolha de sangue venoso para realização de análises clínicas no laboratório interno onde se observou um hemograma sem alterações, com exceção de ligeira linfopenia e bioquímicas (ALT, FA, proteínas totais, ureia, creatinina e glucose) com marcado aumento ao nível da ALT e FA. O valor de D-dímero, realizado em laboratório externo, apresentava-se igualmente aumentado (1,54 mg/L). Tendo em consideração os valores elevados encontrados ao nível das bioquímicas referidas e valor de D-dímero, as mesmas foram repetidas após um mês, observando-se um agravamento das transaminases hepáticas, acabando por se avaliar também a AST que à medida das outras, se encontrava consideravelmente aumentada. Quanto ao valor de D-dímero, este normalizou para valores fisiológicos (0,28 mg/L). Dois meses após as últimas análises clínicas, e devido ao agravamento encontrado, estas foram repetidas e observam-se melhorias significativas, com exceção da FA que continuava com um aumento considerável, mas ainda assim, com uma evolução positiva. Na

radiografia torácica observou-se cardiomegália (através do aumento do índice cardio-vertebral<sup>3</sup>), elevação da traqueia, bem como colapso da mesma cranialmente e edema pulmonar.

**Diagnóstico:** Dirofilariose acompanhada de cardiomegália e hepatite; Colapso traqueal

**Tratamento:** Foi recomendado o repouso do animal e iniciou-se a doxiciclina (10 mg/kg, por via oral, BID durante 30 dias) de forma a eliminar a bactéria *Wolbachia spp.*, bem como a prednisolona por via oral (0,5 mg/kg BID durante 8 dias; 0,5 mg/kg SID durante 8 dias e, por fim, 0,5 mg/kg de 48 em 48 horas durante 2 semanas). Quanto ao microfilaricida, aconselhou-se que a sua primeira toma ocorresse uma semana após dar início ao antimicrobiano. Como consequência das alterações observadas ao nível das bioquímicas, prescreveu-se um suplemento hepático até estabilização de todos os valores. O primeiro injetável de melarsomina (2,5 mg/kg) foi administrado por via IM profunda na região lombar direita ao dia 120 de tratamento acompanhado de dexametasona (0,5 mg/kg) por via SC.

**Evolução clínica:** Durante o período em que o animal foi submetido ao tratamento para a *D. immitis*, houve agravamento da tosse acompanhada de fadiga sempre que era reduzida a dose do corticosteroide, o que levou à administração de prednisolona por via oral numa dose mínima eficaz (0,25 mg/kg SID) em continuado, de forma a permitir que o animal mantivesse a sua qualidade de vida. Ocorreram ainda episódios de alterações gastrointestinais, controlados através de dieta com arroz e frango cozido, bem como administração de probióticos por via oral. Relativamente às alterações hepáticas, a FA manteve-se consideravelmente aumentada. Não foi possível a autora do presente relatório acompanhar o caso clínico até à administração do último adulticida, uma vez que o caso se prolongou para além dos 5 meses de estágio devido às alterações clínicas apresentadas pelo animal.

**Prognóstico:** O prognóstico, neste caso, considera-se de reservado a mau devido às alterações clínicas encontradas nos exames complementares de diagnóstico, bem como o agravamento da tosse e fadiga.

---

<sup>3</sup> O valor normal de índice cardio-vertebral é de:  $9.53 \pm 0.46$  (Baisan & Vulpe, 2022)

### 3.5. Caso clínico 5

**Anamnese e história clínica:** Canino, fêmea inteira, de raça Dobermann com 4 anos de idade. A cadela é acompanhada pelo CAMV desde cachorro, tendo o plano vacinal CORE cumprido anualmente, no entanto, os tutores optaram por não realizar a prevenção da dirofilariose, uma vez que o animal sempre viveu *indoor* e apenas tem acesso ao exterior para fazer as suas necessidades. Foi sempre saudável, não havendo registo de consultas para além dos reforços vacinais. Apresentou-se à consulta para realização do teste de dirofilariose (ELISA).

**Exame físico:** A cadela apresentava 33,8 Kg. Ao exame à distância, o animal encontrava-se com uma boa condição corporal. Na auscultação cardiopulmonar, assim como na palpação abdominal não foram detetadas alterações dignas de registo. A temperatura encontrava-se dentro dos parâmetros fisiológicos (39,2°C), as mucosas apresentavam uma coloração rosada e o TRC < 2 segundos.

**Exames complementares de diagnóstico:** Teste de pesquisa de antígenos para *D. immitis* (ELISA) com resultado positivo. Procedeu-se à recolha de sangue venoso para um tubo de citrato de sódio e respetivo envio para laboratório externo com o objetivo de se avaliar o valor de D-dímero, que se encontrava dentro dos valores fisiológicos (0,17 mg/L).

**Diagnóstico:** Dirofilariose.

**Tratamento:** De forma a eliminar a relação endossimbiótica entre a dirofilariose e a bactéria *Wolbachia spp.*, prescreveu-se doxiciclina (10 mg/kg, PO, BID durante 30 dias) e sugeriu-se que a primeira toma do microfilaricida acontecesse uma semana após iniciar o antimicrobiano. Ao dia 60 de tratamento administrou-se a primeira dose de melarsomina (2,5 mg/kg) por via IM profunda na região lombar esquerda, seguindo-se a segunda e terceira administrações aos dias 90 e 91, respetivamente (com alternância da região do local de injeção), todas elas acompanhadas de dexametasona (0,5 mg/kg) por via SC. Foi ainda recomendado que a cadela mantivesse repouso.

**Evolução clínica:** O animal manteve-se assintomático ao longo de todo o tratamento, respondendo positivamente ao mesmo.

**Prognóstico:** O prognóstico é considerado bom na medida em que o animal se apresentou sempre assintomático e não apresentou qualquer sinal clínico adverso à terapêutica realizada.

#### 4. Discussão

A dirofilariose, causada pelo parasita do género *Dirofilaria*, é transmitida por um vetor (mosquitos culicídeos) que revela capacidade para infetar um total de mais de 30 hospedeiros (Alho *et al.*, 2014). A incidência da doença não só em animais, mas também em humanos tem-se apresentado com uma tendência crescente na última década, tornando-se cada vez mais um grave problema de saúde pública (Simón *et al.*, 2012). A nível mundial, a parasitose afeta principalmente populações residentes em zonas tropicais e de clima temperado, sendo que atualmente não se encontra presente no norte da Europa, no entanto as regiões hiperendémias apresentam um crescimento em direção às regiões do Norte e Leste Europeu (Alho *et al.*, 2014). Em Portugal, os animais silvestres constituem um grande reservatório da doença, sendo também importantes fontes de transmissão e perpetuação da infeção nos animais de companhia (Saraiva *et al.*, 2012).

Os casos clínicos descritos no presente relatório correspondem a animais que não realizavam a profilaxia para a dirofilariose, o que vai de encontro à literatura médico-veterinária que ressalva a importância da prevenção como principal forma de mitigar a doença (McCall *et al.*, 2014). Segundo a *American Heartworm Society* (2018), idealmente, a profilaxia deve ter início um mês antes da época prevista para o pico da transmissão e terminar um mês após esta. Para que seja efetiva, deve administrar-se uma lactona macrocíclica mensalmente, ou em alternativa, moxidectina injetável que promove uma proteção anual (Carretón *et al.*, 2012; Atkins, 2017; DGAV, 2019). A partir dos 6 meses de idade, tempo necessário para a formação de larvas adultas, qualquer canino que não tenha realizado microfilaricidas mensais, estará suscetível de ter um teste de pesquisa de antígenos positivo (ELISA) (Henry *et al.*, 2018).

Segundo Ames & Atkins (2020) algumas das alterações clínicas mais frequentemente observadas em animais acometidos pela doença incluem tosse esporádica, assim como fadiga e/ou a intolerância ao exercício. O que vai de encontro ao relatado nos casos clínicos do presente relatório, uma vez que todos os animais que apresentavam sintomatologia, demonstraram algum destes sinais clínicos, ou ambos, com exceção dos assintomáticos.

O protocolo de tratamento para a *D. immitis*, segundo a AHS (2018), referência pela qual o CAMV do presente trabalho se baseia, inicia-se com a administração de doxiciclina (10 mg/kg por PO, BID durante 30 dias), tendo os 5 animais cumprido este processo. O antimicrobiano acima referido, pertence ao grupo das tetraciclinas e tem como mecanismo de ação inibir a síntese de proteínas, através da união de subunidades 50S dos ribossomas (Junco *et al.*, 2018). O seu principal objetivo prende-se na eliminação da bactéria Gram negativa *Wolbachia spp.*

com quem a dirofilariose tem uma relação de endossimbiose, apresentando capacidade para atuar em todos os seus estádios larvares (Carretón *et al.*, 2012).

Com exceção dos casos clínicos 3 e 5, prescreveu-se prednisolona PO (0,5 mg/kg BID durante 8 dias; 0,5 mg/kg SID durante 8 dias e, por fim, 0,5 mg/kg de 48 em 48 horas durante 2 semanas) aquando do início do tratamento, juntamente com a doxiciclina. Relativamente aos casos clínicos 1 e 2, foi ainda prescrita a administração da mesma molécula no dia a anteceder a primeira toma do microfilaricida, no dia da toma e no dia posterior a este, em dosagens de 0,5 mg/kg SID, consideradas anti-inflamatórias. Embora a AHS (2018) recomende este fármaco apenas nos casos em que os animais se apresentem sintomáticos, a administração de prednisolona em doses anti-inflamatórias pode ser utilizada profilaticamente, reduzindo a probabilidade de reações imunomediadas causadas pela morte das microfilárias (Atkins, 2017). Somente no último caso clínico descrito, o Médico Veterinário responsável tomou a decisão clínica de não prescrever o corticosteroide oral, uma vez que se tratava de um animal adulto, assintomático e sem outras complicações associadas, com um valor de D-dímero a níveis fisiológicos e, portanto, baixo risco de tromboembolismo e reações adversas à terapêutica (Johnson *et al.*, 2019).

A toma mensal do microfilaricida foi cumprida por todos os animais, sendo que as lactonas macrocíclicas escolhidas foram a ivermectina, milbemicina e moxidectina, todas elas em doses preventivas (6 µg/kg, 500 µg/kg e 3 µg/kg, respetivamente) (Carretón *et al.*, 2012; Atkins, 2017; Apifarma, 2018). No entanto, segundo Villanueva-Saz *et al.* (2020) a ivermectina é o microfilaricida de eleição por apresentar um maior espectro de ação e se revelar mais eficaz em todos os estádios larvares, apesar do objetivo nesta fase do tratamento serem somente as microfilárias. Os microfilaricidas podem causar efeitos secundários passíveis de surgir num período entre 3 a 12 horas após a sua administração, entre os quais palidez das mucosas, inapetência, letargia, sialorreia e taquicardia (Ware, 2014). Contudo, nenhum dos animais revelou sinais clínicos adversos à administração desta molécula.

Neste CAMV, a primeira dose de microfilaricida nunca é administrada no mesmo momento em que se dá início à doxiciclina, como forma de reduzir a probabilidade de efeitos secundários, aconselhando geralmente a sua toma uma a duas semanas após o início do antimicrobiano, não indo de encontro ao protocolo da AHS (2018), que descreve poder-se administrar ao dia 1 (após o diagnóstico).

Relativamente aos exames complementares, o teste de pesquisa de antígenos de *Dirofilaria immitis* (ELISA) foi o exame de diagnóstico de eleição para confirmar a presença da infeção, o que vai de encontro ao descrito na literatura médico-veterinária. A escolha prende-

se na facilidade de execução e rapidez dos resultados, bem como na elevada sensibilidade e especificidade (94,4% e 100%, respetivamente) (Courtney & Zeng, 2001; Lee *et al.*, 2011; Henry *et al.*, 2018). No caso clínico 3, previamente à adoção do animal e segundo os tutores, este já tinha realizado o diagnóstico de dirofilariose através da pesquisa de antígenos no abrigo em que se encontrava, não se tendo repetido o teste no CAMV VetSam a pedido dos tutores de forma a conter os gastos, dando-se apenas seguimento ao tratamento já iniciado.

Alguns autores como Atkins (2005) e Genchi *et al.* (2007) referem que a observação da gota fresca ao microscópio ótico deveria, idealmente, realizar-se sempre de forma a conhecer o estado microfilarémico dos animais principalmente nos casos em que se apresentem com um teste de antígenos negativo, o que não se verificou nos casos clínicos observados, uma vez que todos os animais se apresentaram positivos ao teste de ELISA e, por motivos de contenção de custos por parte dos tutores, acabou por não se realizar a observação da gota fresca em nenhum dos casos.

No que respeita às radiografias torácicas, estas foram realizadas apenas em dois casos clínicos. No caso clínico 2 o animal apresentava padrão broncointerstitial, um achado radiográfico compatível com a infeção parasitária por *D. immitis* segundo Villanueva-Saz *et al.* (2020), que refere que o padrão intersticial é o mais frequentemente observado nas infeções por dirofilariose. O aumento do átrio esquerdo com consequente compressão bronquial é compatível com o sopro auscultado ao exame físico, bem como com a parasitose, tendo em conta que este foi auscultado em ambos os hemitorax. Contudo, este sopro não foi avaliado segundo as normas da *New York Heart Association* que permitem classificar a gravidade do mesmo numa escala entre o grau I e o grau IV, em que o grau I corresponde a um animal assintomático e o grau IV doença cardíaca com sinais clínicos evidentes em repouso (Guerra, 2019). Por se tratar de um cão geriátrico de raça pequena/*toy*, idealmente, deveria ter sido realizada uma ecocardiografia com o objetivo de confirmar ou descartar a doença degenerativa da válvula mitral, uma vez que se trata de uma doença com elevada prevalência em animais de pequeno porte e que, a ser confirmada, justificaria o agravamento dos sinais clínicos de dirofilariose (Orton *et al.*, 2012; Wesselowski *et al.*, 2015). O motivo pelo qual esta não se realizou prendeu-se na contenção de custos do tutor do animal. Ainda relativamente ao mesmo caso clínico, a tutora referiu durante a primeira consulta que a urina do animal se apresentava mais escura, no entanto, pelo motivo acima descrito (contenção de custos) não se realizou outro exame complementar de diagnóstico, como por exemplo radiografia abdominal, ecografia abdominal, tira de urina ou sedimento urinário. A cor escura da urina pode ser compatível com hemoglobinúria, o que o segundo

Bowman & Atkins (2009) pode significar a presença da síndrome de veia cava. Quando ocorre migração larvar para este vaso, a hemoglobinúria surge na sequência da disfunção hepática causada pela obstrução que a veia cava provoca no fígado (Bové *et al.*, 2010).

No caso clínico 4 a radiografia ao tórax revelou um colapso traqueal, sendo este um achado comum em cães de raça pequena e que não está correlacionado com a dirofilariose (Tappin, 2016). Foi ainda realizada a medição do índice cardio-vertebral, que se encontrava aumentado (12.1). Segundo Baisan & Vulpe (2022), os valores normais deste índice são de  $9.53 \pm 0.46$ , o que significa que o animal apresentava cardiomegália. O edema pulmonar observado pode relacionar-se com a *D. immitis* devido às alterações cardíacas que esta provoca, nomeadamente dilatação cardíaca direita e, consequentemente, hipertensão pulmonar (Guerreiro, 2005). No entanto, atendendo aos sinais clínicos apresentados pelo animal, seria recomendável a realização de uma ecocardiografia de forma a avaliar se a cardiomegália instalada tinha como única etiologia a dirofilariose, ou se pelo contrário, existiam doenças concomitantes uma vez que se tratava de um animal geriátrico. Por motivos de contenção de custos por parte dos tutores do animal, a ecográfica cardíaca não se realizou.

No que diz respeito às análises clínicas, tal como as radiografias, estas foram realizadas somente nos casos clínicos 2 e 4. A anemia normocítica e normocromica observada no caso nº 2, é frequente em animais com dirofilariose, enquanto que a linfopenia se pode relacionar com o *stress* (Carretón *et al.*, 2012). Em relação às alterações hepáticas encontradas no caso nº 4, estas são compatíveis com uma grande carga parasitária (Carretón *et al.*, 2012). Devido aos aumentos persistentes das transaminases hepáticas (principalmente da FA), este animal tinha indicação para realizar uma ecografia abdominal, bem como uma investigação de doenças endócrinas, como por exemplo hipotireoidismo e hiperadrenocorticismo. Segundo Dixon *et al.* (1999), 30% dos cães acometidos com hipotireoidismo apresentam aumentos da FA e, em casos de hiperadrenocorticismo, a alteração bioquímica mais frequente é precisamente a FA, com aumentos que se podem encontrar 4 a 50 vezes superiores aos valores de referência, o que é compatível com os valores observados no caso clínico (Herretage, 2000). No entanto a pedido dos tutores, a ecografia e a exploração endócrina não foram realizadas de forma a evitar gastos acrescidos.

Quanto à análise dos valores de D-dímero, esta foi realizada em todos os animais previamente à administração do adjuvante. Nos casos em que estes valores se encontravam elevados ( $> 0,4$  mg/L), a análise foi repetida até que estes se encontrassem estabilizados de forma a reduzir ao máximo a probabilidade de tromboembolismo no momento da administração da

melarsomina. Segundo alguns autores como Carretón *et al.* (2012) e Johnson *et al.* (2019), este valor surge como um produto da degradação da fibrina, sendo o seu aumento proporcional à probabilidade de desenvolvimento de trombos, tornando-se imprescindível a sua análise.

Aproximadamente dois meses após o diagnóstico e início do tratamento, foi administrada a todos os animais (com exceção do caso clínico 3 e 4) o primeiro injetável da melarsomina (2,5 mg/kg) seguindo-se a segunda e a terceira injeção aos dias 90 e 91, respetivamente. As administrações foram realizadas por IM h profunda na região lombar, optando-se por alternar a zona de administração, uma vez que se trata de um injetável doloroso que pode causar edema no local da injeção, assim como aumento da sensibilidade nessa região. Situação que se observou nos casos clínicos 2 e 3 (Serrano-Parreño *et al.*, 2017). A escolha da dexametasona por via SC em doses anti-inflamatórias (0,5 mg/kg) após a administração do adulticida, teve como objetivo a redução da reação inflamatória quer no local, quer sistémica (Bazzocchi *et al.*, 2008; AHS, 2018; Villanueva-Saz *et al.*, 2020).

No que respeita aos efeitos secundários sistémicos associados ao término do tratamento da dirofilariose, o único animal que demonstrou complicações neste sentido foi o caso clínico 2. Um mês após a última administração do adulticida o animal apresentou-se com hipertensão, tendo-se prescrito benazepril (0,5 mg/kg, PO, SID durante o período da manhã). Segundo autores como Carretón *et al.* (2012) e Noack *et al.* (2021), esta terapêutica está recomendada nos casos em que existem sinais de insuficiência cardíaca direita, o que vai de encontro ao caso clínico descrito, uma vez que a hipertensão, bem como o sopro cardíaco auscultado ao exame físico constituem sinais clínicos de insuficiência cardíaca.

Relativamente aos casos clínicos 2 e 4, que se apresentaram sintomáticos desde a primeira consulta, observou-se um agravamento dos sinais clínicos durante o tratamento e, portanto, não obtiveram a evolução esperada à terapêutica administrada. Esta evolução poderá estar relacionada com resistências ao tratamento, previstas pelas *guidelines* da AHS (2018) que recomendam realizar a pesquisa de microfilárias ao dia 120 após o início do tratamento e, nos casos em que esta se encontre positiva, repetir o tratamento microfilaricida realizando novamente a pesquisa de microfilárias após 4 semanas. Nove meses após o último injetável de melarsomina, deverá realizar-se um teste de pesquisa de antígenos. Uma vez que a autora do presente relatório já tinha terminado o estágio curricular no CAMV VetSam a esta altura, não foi possível confirmar se esta parte do protocolo da AHS (2018) foi cumprido, e se de facto, a filárias de *D. immitis* foram totalmente eliminadas.

Outro dos fatores que poderá ter levado estes dois animais a não responder como seria expectável ao tratamento para a dirofilariose, prende-se na possibilidade de existirem doenças concomitantes em que não foram realizados exames complementares de diagnóstico para a sua confirmação e respetivo tratamento devido a limitações económicas por parte dos tutores.

## 5. Conclusão

A dirofilariose cardiopulmonar canina afeta animais de todas as idades, estando a sua gravidade relacionada com vários fatores, nomeadamente a quantidade de parasitas, resposta imune do animal, bem como a atividade física que este realize. É atualmente uma doença bem estudada e que se considera estar em expansão não só em regiões endémicas, mas também em regiões anteriormente considerada como indemnes.

No decorrer do estágio no CAMV VetSam foi possível acompanhar vários casos de dirofilariose devido à grande afluência da doença na região, o que vai de encontro à pesquisa bibliográfica realizada ao longo do presente relatório de estágio, que demonstra uma grande incidência da doença na região do Ribatejo (Distrito de Santarém). Observou-se ainda alguma relutância por parte de muitos tutores quanto à administração da prevenção da *D. immitis*, resultando numa casuística elevada da parasitose, contudo, a adesão à profilaxia é cada vez maior.

Dos 5 casos de dirofilariose descritos no presente relatório de estágio, todos apresentaram uma evolução positiva com exceção de 2 animais que desde o início se demonstraram com sinais clínicos, tendo havido um agravamento dos mesmos no decorrer do tratamento. Contudo e, apesar de aparentemente, 3 dos 5 animais revelarem uma boa evolução, a autora do presente relatório não acompanhou os casos até à execução da pesquisa de antigénios após o término do tratamento. Desta forma, não é possível confirmar se a doença foi totalmente eliminada ou, se pelo contrário, apenas foi reduzida a sua carga parasitária.

## 6. Referências bibliográficas

AHS – American Heartworm Society (2018). *Current canine guidelines for the prevention, diagnosis, and management of heartworm (Dirofilaria immitis) infection in dogs*. Disponível em: <https://www.heartwormsociety.org/veterinary-resources/american-heartworm-society-guidelines>. Consultado a 02 de Fevereiro de 2023

AHS – American Heartworm Society (2014). *Orientações atuais para a prevenção, diagnóstico e controlo da dirofilariose (Dirofilaria immitis) em cães*. Disponível em: <https://www.heartwormsociety.org/veterinary-resources/american-heartworm-society-guidelines>. Consultado a 05 de Fevereiro de 2023

Alho, A., Meireles, J., Belo, S. & Carvalho, L. (2014). Dirofilariose canina e felina, uma parasitose em evolução – Etiologia, Biologia e Epidemiologia. *In Research Gate*, 20-25

Alho, A., Landum, M., Ferreira, C., Meireles, J., Gonçalves, L., Madeira de Carvalho, L. & Belo, S. (2014a). Prevalence and seasonal variations of canine dirofilariosis in Portugal. *Vet Parasitol*, 206, 99–105

Alho, A., Belo, S., Meireles, J. & Carvalho, L. (2015). Dirofilariose canina e felina, uma parasitose em evolução – Etiologia, biologia e epidemiologia. *Clínica animal*, 20-25

Alho, A., Fiarresga, A., Landum, M., Lima, C., Gamboa, O., Meireles, J., Sales Luís, J. & Madeira de Carvalho, L. (2016). A Homemade Snare: An Alternative Method for Mechanical Removal of *Dirofilaria immitis* in Dogs. *Vet Med Int*. 5780408

Ames, M. & Atkins, C. (2020). Treatment of Dogs with Severe Heartworm Disease. *Vet Parasitol*, 283:109131

Anvari, D., Narouei, E., Daryani, A., Servi, S., Moosazadeh, M., Hezarjaribi, H., Narouei, M. & Gholami, S. (2020). The global status of *Dirofilaria immitis* in dogs: a systematic review and meta-analysis based on published articles. *Res Vet Sci*, 131:104-116

Apifarma (2018). Simposium veterinário: medicamentos e produtos de saúde animal. disponível em: <http://www.apifarma.pt/simposiumvet/Paginas/default.aspx>. Consultado a 05 de Fevereiro de 2023

Atkins, C. (2005). Canine heartworm disease. In Ettinger, S. & Feldman, E. (Eds). *Textbook of Veterinary Internal Medicine* 6, 1118:1136. St. Louis: Elsevier

Atkins, C. (2017). Canine Heartworm Disease. In Ettinger, S. & Feldman, E. (Eds.), *Textbook of Veterinary Internal Medicine* 8, 3166:3228. Saunders

Baisan, R. & Vulpe, V. (2022). Vertebral heart size and vertebral left atrial size reference ranges in healthy Maltese dogs. *Vet Radiol Ultrasound*, 63(1):18-22

Bandi, C., Trees, A. & Brattig, N. (2001) Wolbachia in filarial nematodes: evolutionary aspects and implications for the pathogenesis and treatment of filarial diseases. *Vet Parasitol*, 12;98 (1-3):215-38

Bazzocchi, C., Mortarino, M. & Grandi, G. (2008). Combined ivermectin and doxycycline treatment has microfilaricidal and adulticidal activity against *Dirofilaria immitis* in experimentally infected dogs. *Int J Parasitol*; 38(12):1401–10

Bendas, A., Alberigi, B., Galardo, S., Labarthe, N. & Almeida, F. (2022). Clinical and blood count findings in dogs naturally infected with *Dirofilaria immitis*. *Braz J Vet Med.*, 44: e001922.

Bové, C., Gordon, S., Saunders, A., Miller M., Roland R., Achen S., Drourr L. & Boggess M. (2010). Outcome of minimally invasive surgical treatment of heartworm caval syndrome in dogs: 42 cases (1999-2007). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 236:187–192

Bowman, D. (2012). Heartworms, macrocyclic lactones, and the specter of resistance to prevention in the United States. *Parasites & Vectors* 5, 138

Bowman, D. (2014) *Georgis Parasitology for Veterinarians*. 10th Ed. Missouri: Elsevier Saunders

Bowman, D. & Atkins, C. (2009). Heartworm biology, treatment, and control. *Vet Clin small Anim.* 39, 1127-1158

Calvert, C., Rawlings, C. & McCall, J. (1999). Canine heartworm disease. In: Fox PR, Sisson D, Moise SN, editors. Textbook of canine and feline cardiology. Philadelphia: WB Saunders; 702–26

Cardoso, L., Mendão, C., & Madeira de Carvalho, L. (2012). Prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi sensulato*, *Anaplasma spp.* and *Leishmania infantum* in apparently healthy and CVBD-suspect dogs in Portugal - a national serological study. *Parasit Vectors*, 5(1), 62

Carretón, E., Morchón, R. & Montoya, J. (2012). Dirofilariosis cardiopulmonar canina In Alonso, J. & Gómez, E. (Ed. 1), Dirofilariosis – Pautas de Manejo Clínico (cap. 1). Barcelona: Multimédica Ediciones Veterinarias

Carretón, E., Morchón, R., González-Miguel, J., Simon, F., Juste, M. & Montoya-Alonso, J. (2013). Variation of D-dimer values as assessment of pulmonary thromboembolism during adulticide treatment of heartworm disease in dogs. *Vet Parasitol.* 195:106-111

Carretón, E., Morchón, R., Simón, F., Juste, M. C., Méndez, J. C., & Montoya-alonso, J. A. (2014). Cardiopulmonary and inflammatory biomarkers in the assessment of the severity of canine dirofilariosis. *Vet Parasitol*, 206, 43–47

Carretón, E., Falcónn, Y., Serrano, B., Falcón, S. & Montoya-Alonso, J. (2016). Pautas para el tratamiento y prevención de la dirofilariosis. In: Montoya-Alonso, J. (Ed.), *Conclusiones internacional workshop of dirofilárias* (75-83). Tenerife: Colégio oficial de veterinários de Tenerife

CDC - Centers for Disease Control and Prevention (2012). *Biologia – Ciclo de vida de D. immitis*. Disponível em: [https://www.cdc.gov/parasites/dirofilarias/biology\\_d\\_immitis.html](https://www.cdc.gov/parasites/dirofilarias/biology_d_immitis.html). Consultado a 05 de Fevereiro de 2023

Courtney, C. & Zeng, Q. (2001). Comparison of heartworm antigen test kit performance in dogs having low heartworm burdens. *Vet Parasitol*, 96(4):317-22

Day, M., Horzinek, M., Schultz, R. & Squires, R. (2016). Guidelines for the vaccination of dogs and cats. Compiled by the vaccination guidelines group (vgg) of the world small animal veterinary association (WSAVA). *J Small Anim Pract*, 57

DGAV (2019). Resumo das características do medicamento. disponível em: [https://medvet.dgav.pt/medvet\\_dgav/static/RCM/Guardian\\_Sr\\_Inj\\_RCM\\_rot\\_e\\_FI\\_122019.pdf](https://medvet.dgav.pt/medvet_dgav/static/RCM/Guardian_Sr_Inj_RCM_rot_e_FI_122019.pdf). Consultado a 05 de Fevereiro de 2023

Dixon, R., Reid, S., Mooney, C. (1999). Epidemiological, clinical, haematological and biochemical characteristics of canine hypothyroidism. *Vet Rec.*, 145, 481- 487

DNAtch (2023). Disponível em: <https://dnatech.pt/>. Consultado a 20 de Fevereiro de 2023

ESCCAP (2017). Worm Control in Dogs and Cats. disponível em: <https://www.esccap.org/>. Consultado a 10 de Fevereiro de 2023

Ettinger, S. & Feldman, E. (2010). Textbook of Veterinary Internal Medicine. 2 (7), 1353-1373. Saunders Elsevier.

Fontes-Sousa, A., Silvestre-Ferreira, A., Carretón, E., Esteves-Guimarães, J., Maia-Rocha, C., Oliveira, P. *et al.* (2019). Exposure of humans to the zoonotic nematode *Dirofilaria immitis* in Northern Portugal. *Epidemiol Infect*; 147-282

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

Genchi, C., Kramer, L. & Rivasi, F. (2011). *Dirofilarial* infections in Europe. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 11 (10): 1307-17

Genchi, C., Venco, L. & Genchi, M. (2007). Guideline for the laboratory diagnosis of canine and feline *Dirofilaria* infections. In *Veterinary Parasitology and Parasitic Diseases*, 8, 137-144

Gomes, B. (2009). Doenças parasitárias do cão transmitidas por insectos culicídeos e psicodídeos no Funchal e em Barcelona, Universidade de Lisboa – Faculdade de Medicina Veterinária. Disponível em: [https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/1464/1/Doenças parasitárias do cão transmitidas por insectos culicídeos e psicodídeos no Funchal e em Barcelona.pdf](https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/1464/1/Doen%C3%A7as%20parasit%C3%A1rias%20do%20c%C3%A3o%20transmitidas%20por%20insectos%20culic%C3%ADdeos%20e%20psicod%C3%ADdeos%20no%20Funchal%20e%20em%20Barcelona.pdf)

Grauer, G. (2001). Pathogenesis of heartworm-induced glomerulonephritis. In *Proceedings of the American Heartworm Symposium: Recent Advances in Heartworm Disease*, 7-12.

Guerra, B. (2019). Doença mixomatosa da válvula mitral (DMVM) em cães: estudo retrospectivo de 23 casos, Universidade de Lisboa – Faculdade de Medicina Veterinária. Disponível em: [https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/19841/1/Doença mixomatosa da válvula mitral %28DMVM%29 em cães estudo retrospectivo de 23 casos.pdf](https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/19841/1/Doen%C3%A7a%20mixomatosa%20da%20v%C3%A1lvula%20mitral%20DMVM%29%20em%20c%C3%A3es%20estudo%20retrospectivo%20de%2023%20casos.pdf)

Guerreiro, J. (2005). Heartworm Pathophysiology in Dogs and Cats. Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania - Philadelphia, PA, USA. *World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings*. Mexico, 11-14 maio

Henry L., Brunson K., Walden H., Wenzlow N., Beachboard S. & Long M. (2018). Comparison of six commercial antigen kits for detection of *Dirofilaria immitis* infections in canines with necropsy-confirmed heartworm status. *Vet. Parasitol.* 254:178–182

Herrtage, M. (2000). Diseases of the Endocrine Sistem. In J. K. Dunn, *Textbook of Small Animal Medicine* (pp. 526-573). Philadelphia: W.B. Saunders.

Hoch, H. & Strickland, K. (2008). Canine and Feline *Dirofilaria* infections: Life Cycle, Pathophysiology, and Diagnosis. *Parasitology Compendium*, 133-141

Johnson, E., Schell, J. & Rodgers, G. (2019). The D-dimer assay. *Am J Hematol.* 94(7):833-839

Junco, M., Martín, M., Garrido, E., Loaiza, R. & Gómaz, E. (2018). Doxycycline treatment for *Dirofilaria immitis* in dogs: impact on *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus* antimicrobial resistance. *Vet Res Commun*, 42(3):227-232

Khanmohammadi, M., Akhlaghi, L., Razmjou, E., Falak, R., Emameh, R., Mokhtarian, K., Arshadi, M., Tasbihi, M. & Meamar, A. (2020). Morphological Description, Phylogenetic and Molecular Analysis of *Dirofilaria immitis* Isolated from Dogs in the Northwest of Iran. *Iran J Parasitol*, 15(1): 57–66

Kramer, L. (2006). Treating canine heartworm infection. North America Veterinary Conference. In Clinician's Brief. 4, 19–20

Kramer, L., Crosara, S., Gnudi, G., Genchi, M., Mangia, C., Viglietti, A. & Quintavalla, C. (2018). Wolbachia, doxycycline and macrocyclic lactones: New prospects in the treatment of canine heartworm disease. *Vet Parasitol.* 54:95-97

Krucik, D., Van Bonn, W & Johnson, S. (2016). Association between positive canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) antigen results and presence of *Acanthocheilonema odendhali* microfilaria in California sea lions. *J Zoo Wildl Med.* 47(1):25-8

Langhorn, R. & Willesen, J. (2016). Cardiac troponins in dogs and cats. *J Vet Intern Med*, 30(1), 36–50

Lee, A, Bowman, D & Lucio-Forster, A. (2011). Evaluation of a new in-clinic method for the detection of canine heartworm antigen. *Vet Parasitol*, 177:387-391.

Leidy, J. (1856). On filarial canis cordis. Proceeding of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia, 8, 2

Little S., Saleh M., Wohltjen M. & Nagamori Y. (2018). Prime detection of *Dirofilaria immitis*: understanding the influence of blocked antigen on heartworm test performance. *Parasit Vectors.*, 11-186

Magnis, J., Lorentz, S., Guardone, L., Grimm, F., Magi, M., Naucke, T.J. & Deplazes, P. (2013). 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. *Parasit Vectors.*, 6:48

Marinov, G. & Zlateva-Panayotova, N. (2019). Surgical methods for extraction of adult forms of *dirofilaria immitis* from the heart in dogs. Tradition and modernity in veterinary medicine, 4, 2(7): 40–45

McCall, J., Genchi, C. & Kramer, L. (2008). Heartworm disease in animals and humans. In Rollinson D, Hay SI (Eds): *Advances in Parasitology*. New York: Academic Press, 193-285

McCall, J., Genchi, C., Kramer, L., Guerrero, J., Dzimirski, M., Supakorndej, P, *et al.* (2008a). Heartworm and Wolbachia: therapeutic implications. *Vet Parasitol*, 158:204-214

McCall, J., Nelson, C. & Carithers, D. (2014). Diagnosis, Prevention and Management of Heartworm (*Dirofilaria immitis*) infection in dogs. Guidelines for canine Heartworm Disease. AHS, 1-14

McEwan, J., Garven, K., Alvarez, J., Oliveira, P., Motskula, P. & Willis, R., (2022). Usefulness of cardiac biomarker screening to detect dilated cardiomyopathy in Dobermanns. *J Small Anim Pract.* 63(4):275-285

McHaffie, J. (2012) *Dirofilaria immitis* and *Wolbachia pipientis*: a thorough investigation of the symbiosis responsible for canine heartworm disease. *Parasitol Res.*, 110, 499–502

Mealey, K. (2008). Canine ABCB1 and macrocyclic lactones: Heartworm prevention and pharmacogenetics. *Vet Parasitol*, 158, 215-22

Morchon, R., Carreton, E., Gonzalez-Miguel, J. & Mellado-Hernandez, I. (2012). Heartworm disease (*Dirofilaria immitis*) and their vectors in Europe – new distribution trends. *Frontiers in Physiology*, 3, 196

Morini, S., Venco, L. & Fagioli, P. (1998). Surgical removal of heartworms versus melar- somine treatment of naturally infected dogs with risk of thromboembolism. *In: Recent advances in heartworm disease: Symposium '98. Tampa (FL); 235–40*

Nayar, J., & Connelly, C. (2013). Mosquito-Borne Dog Heartworm Disease. IFAS Extension – University of Florida

Nelson, O. & Andreasen, C. (2003). The utility of plasma D-dimer to identify thromboembolic disease in dogs. *J Vet Intern Med.*, 17(6), 830,4

Nelson, R. & Couto, C. (2010). Medicina Interna de Pequenos Animais (Tradução da 4a edição). Rio de Janeiro: Elsevier nematodes. *Advances in Parasitology*, 60, 248-286.

Nelson, R. , & Couto, C. (2014). *Small Animal Internal Medicine* (5th ed.). Elsevier

Noack, S., Harrington, J., Carithers, D., Kaminsky, R. & Selzer, P. (2021). Heartworm disease – Overview, intervention, and industry perspective. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist.* 16: 65–89

Orton, E., Lacerda, C., & MacLea, H. (2012). Signaling pathways in mitral valve degeneration. *J Vet Cardiol*, 14(1), 7–17

Otranto, D., Capelli, G. & Genchi, C. (2009). Changing distribution patterns of canine vector borne diseases in Italy: leishmaniosis vs. dirofilariosis. *Parasites & Vectors* volume 2, Article number: S2 *in Proceedings of the 4th Symposium on Canine Vector-Borne Diseases*

Perrone, M., Storti, S., Salvadori, S., Pecori, A., Bernardini, S., Romeo, F. et al. (2021). Cardiac troponins: are there any differences between T and I. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*, 22(11):797-805.

Rawlings, C. (1986). *Heartworm Disease in Dogs and Cats*. Philadelphia: Saunders  
Repens in Dog and Cat and Human Infections, 138–14. *Rev Soc Bras Med Trop*; 37:56-9

Rodrigues-Silva, R., Guerra, R., Almeida, F., Machado-Silva, J. & Paiva, D. (2004).  
Dirofilaria pulmonar humana no Estado do Rio de Janeiro. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 37:56-59

Rossi, M., Paiva, J., Bendas, A., Mendes-de-Almeida, F., Knackfuss, F., Miranda, M.,  
Guerrero, J., Fernandes, O. & Labarthe, N. (2010). Effects of doxycycline on the endosymbiont  
*Wolbachia* in *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) – Naturally infected dogs. *Vet Parasitol*,  
174:119-123

Saraiva, A., Sousa, S., Silva, J., Andrade, S., Botelho, N., Canavarro, I., Costa, M., Fer-  
reira, F., Meier, K., Silva, J., Tiago, J. & Kanoun-Boulé, M. (2012). A case of *Dirofilaria im-*  
*mitis* in a Eurasian otter (*Lutra lutra*). *In* Léon Joint Mee- ting, 5-8 September, Léon, Spain

Sacchi, L., Corona, S., Casiraghi, M. & Bandi, C. (2002). Does fertilization in the filarial  
nematode *Dirofilaria immitis* occur through endocytosis of spermatozoa? *Parasitology*,  
124(1):87-95.

Serrano-Parreño, B., Carretón, E., Caro-Vadillo, A., Falcón-Cordón, Y., Facól-Cor-  
dón, S. & Montoya-Alonso, J. (2017). Evaluation of pulmonar hypertension and clinical status  
in dogs with heartworms by right pulmonar artery distensibility index and other echocardio-  
graphic parameters. *Parasit Vectors*, 10:106

Shaikevich, E., Bogacheva, A. & Ganushkina, L. (2019). *Dirofilaria* and *Wolbachia* in  
mosquitoes (Diptera: Culicidae) in central European Russian and on the Black Sea coast. *Para-*  
*site*, 26:2

Shearer, P. (2011). Literature Review – Heartworm Disease. BARK White Papers.  
Disponível em <https://www.banfield.com/> Consultado a 12 de Fevereiro de 2023

Simón, F., Morchon, R., Gonzalez-Miguel, J., Marcos-Atxutegi, C. & Siles-Lucas, M.  
(2009). What is new about animal and human dirofilariasis? *Trends Parasitol*, 25(9):404-9

Simón, F., Siles-Lucas, M., Morchón, R., González-Miguel, J., Mellado, I., Carretón, E., & Montoya Alonso, J. (2012). Human and animal dirofilariasis: The emergence of a zoonotic mosaic. *Clin Microbiol Rev.*, 25(3), 507–544

Tappin, S. (2016). Canine tracheal collapse. *J Small Anim Pract*, 57(1):9-17.

Taylor, M., Bandi, C. & Hoerauf, A. (2005). Wolbachia bacterial endosymbionts of filarial. *Adv Parasitol*, 60: 245-84

Taylor, M., Coop, R. & Wall, R. (2016). Veterinary parasitology (4a edição), UK: Wiley Blackwell

Taylor, M., Coop, R. & Wall, R. (2017). Parasitologia Veterinária (4a edição). Grupo Editorial Nacional: Editora Guanabara Koogan LTDA, 307-309

Urano Vet SL. (2018). Urano Vet Barcelona. disponível em: <https://uranovet.com/uranotest/dirofiliarosis/>. Consultado a 02 de Fevereiro de 2023

Vanderheyden, M., Bartunek, J. & Goethals, M. (2004). Brain and other natriuretic peptides: molecular aspects. *Eur J Heart Fail.*, 6(3), 261–8

Venco, L., Genchi, C., Vigevani-Colson, P. & Kramer, L. (2008). Relative utility of echocardiography, radiography, serologic testing and microfilariae counts to predict adult worm burden in dogs naturally infected with heartworms. *In Recent Advances in Heartworm Disease Symposium '01*. AHS, 111-124.

Vezzosi, T., Domenech, O., Costa, G., Marchesotti, F., Venco, L., Zini, E., Del Palacio, M. & Tognetti, R. (2018). Echocardiographic evaluation of the right ventricular dimension and systolic function in dogs with pulmonary hypertension. *J Vet Intern Med.* 32:1541-1548

Vieira, A., Vieira, M., Oliveira, J., Simões, A., Diez-Baños, P. & Gestal, J. (2014). Prevalence of canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in dogs of central Portugal. *Parasite*, 21:5

Villanueva-Saz, S., Arribas, M., Santander, V., Frías, M., Ros, J. & Casasnovas, A. (2020). Dirofilariosis canina: Aspectos clínicos, diagnósticos y terapêuticos. 1, 7:11. *Fatro Ibérica*

Ware, W. (2014). Heartworm Disease. In R. W. Nelson & C. G. Couto (Eds.), *Small animal internal medicine*. 5, 173-184. Missouri: Elsevier

Wesselowski, S., Borgarelli, M., Menciotti, G. & Abbott, J. (2015). Echocardiographic anatomy of the mitral valve in healthy dogs and dogs with myxomatous mitral valve disease. *J Vet Cardiol*, 17(2):97-106

WHO - World Wealth Organization. Disponível em: <http://www.who.int/en/>. Consultado a 15 de Fevereiro de 2023