

1 UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
2 CENTRO DE SAÚDE E TECNOLOGIA RURAL
3 UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
4 PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL
5
6
7
8
9
10
11
12
13

14 Ramon Tadeu Galvão Alves Rodrigues
15
16
17
18
19
20
21
22

23 Identificação de *Dirofilaria immitis* em cães do sertão paraibano e de
24 microfilárias em lesão tumoral cutânea de um cão naturalmente infectado
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41

42 Patos/PB
43 2019

DISSERTAÇÃO
PPGCSA/UFGG

Ramon Tadeu Galvão Alves Rodrigues / Identificação de *Dirofilaria immitis*
em cães do sertão paraibano e de microfíliarias em lesão tumoral cutânea de um
cão naturalmente infectado

2019

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39

Ramon Tadeu Galvão Alves Rodrigues

Identificação de *Dirofilaria immitis* em cães do sertão paraibano e de
microfilárias em lesão tumoral cutânea de um cão naturalmente infectado

Dissertação submetida ao Programa
de Pós-Graduação em Ciência e
Saúde Animal, da Universidade
Federal de Campina Grande, como
requisito parcial para obtenção do
grau de Mestre em Ciência e Saúde
Animal.

Orientador: Prof. Dr. Almir Pereira de Souza

Patos/PB
2019

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13

R696i Rodrigues, Ramon Tadeu Galvão Alves.
Identificação de *Dirofilaria immitis* em cães do sertão paraibano e de microfilárias em lesão tumoral cutânea de um cão naturalmente infectado / Ramon Tadeu Galvão Alves Rodrigues. – Patos, 2019.
58 f. : il. color.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Saúde Animal) –
Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e
Tecnologia Rural, 2019.

"Orientação: Prof. Dr. Almir Pereira de Souza".

Referências.

1. Parasitose. 2. Zoonose. 3. Epidemiologia. 4. Citologia. 5.
Cardiologia. I. Souza, Almir Pereira de. II. Título.

CDU 576.89(043)

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECÁRIA MARIA ANTONIA DE SOUSA CRB 15/398

14
15
16


UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
UNIDADE ACADÊMICA DE MEDICINA VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E SAÚDE ANIMAL

RAMON TADEU GALVÃO ALVES RODRIGUES

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência e Saúde Animal.

APROVADO EM 28/2/2019

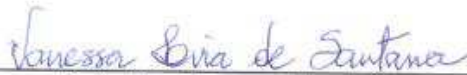
EXAMINADORES:



Prof. Dr. Almir Pereira de Souza
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG
Presidente (Orientador)



Prof. Dr. Severino Silvano dos Santos Higinio
Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG
Membro Interno



Profa. Dra. Vanessa Lira de Santana
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia – IFPB Campus de Sousa/PB
Membro Externo

1
2
3
4
5
6
7
8

AGRADECIMENTOS

1
2
3 A Deus, por não ter soltado a minha mão nos momentos que mais precisei, me
4 permitindo concluir mais este desafio;

5 À minha família pelo incondicional apoio nesta e em tantas outras jornadas nas quais
6 ingressei;

7 À UFCG e à CAPES pela oportunidade de realização deste projeto, assim como, pelo
8 engrandecimento profissional;

9 Ao meu orientador Almir Pereira de Souza, que admiro desde a graduação, por ter
10 proporcionado muito aprendizado e oportunidades para o aperfeiçoamento das minhas
11 habilidades em docência – que eram exíguas no início do mestrado –, e principalmente, pelo
12 apoio, compreensão e paciência nestes últimos meses do curso;

13 À minha equipe que auxiliou grandemente na realização deste trabalho: Higina, Lorena,
14 Edinete e Luiz Henrique;

15 À professora Rosangela Maria pelas palavras de carinho, fé e esperança, além do apoio
16 de sempre;

17 Ao professor Fernando Vaz pela ajuda não só neste trabalho, como também, pelos
18 conselhos e disponibilidade em me atender sempre que precisei;

19 Aos meus companheiros da salinha da pós-CMPA Priscila, Aline, Raquel, Agrício,
20 Thiago e, especialmente, Olívia, por ter sido meu braço direito durante a produção dos artigos.

21 E a todos que indiretamente contribuíram para a execução desta pesquisa.

22 Muito obrigado!

23

24

RESUMO

RODRIGUES, R.T.G.A. (**Identificação de *Dirofilaria immitis* em cães do sertão paraibano e de microfilárias em lesão tumoral cutânea de um cão naturalmente infectado**). [Identification of *Dirofilaria immitis* in dogs from the Paraíba's backwoods and microfilariae in cutaneous tumor lesion of a naturally infected dog]. 2019. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Saúde Animal) – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos, 2019.

A dirofilariose canina compreende uma parasitose ignorada em muitas regiões, apesar de ter apresentado modificações na sua epidemiologia nos últimos anos. Para melhor entender essas mudanças objetivou-se, com a realização desta pesquisa, identificar a presença da doença parasitária e determinar os principais aspectos epidemiológicos associados à infecção por *D. immitis* na cidade de Patos-PB, além da descrição da identificação incidental de microfilárias em uma lesão neoplásica de um cão assintomático para a infecção parasitária. Para tanto foram coletadas amostras de 120 cães nativos que foram analisadas pelos métodos de Knott modificado para pesquisa de microfilárias e imunocromatográfico para detecção de antígenos parasitários. Diante dos resultados obtidos foi possível aferir uma frequência de 4,17% de cães positivos em pelo menos um teste diagnóstico utilizado, sendo esses localizados nos bairros Jardim Magnólia, Noé Trajano, Alto da Tubiba e Novo Horizonte. Além disso, verificou-se que a maioria dos animais positivos era macho, acima de seis anos de idade, sem raça definida, de porte médio, que viviam em ambientes com pouca ou nenhuma realização de limpeza, criados de forma domiciliada ou semi-domiciliada e que não receberam vermífugos, ivermectina ou doxiciclina durante toda a vida. No relato de caso, um cão, macho, de seis anos de idade, nativo da região evidenciada, foi atendido com uma lesão tumoral ulcerada drenando secreção sanguinolenta profusamente, a qual durante exame citológico foi identificada como um tumor venéreo transmissível canino. Na mesma ferramenta diagnóstica foram detectadas formas amastigotas de *Leishmania* sp. e microfilárias de *D. immitis* em meio as células neoplásicas, sendo o animal assintomático para ambas as parasitoses, e, portanto, assumindo papel de reservatório no ciclo de transmissão das enfermidades. Desta forma, conclui-se que a cidade de Patos, localizada no sertão paraibano, possui animais infectados com parasitoses de grande importância para a saúde pública, evidenciando que tanto outros animais como os seres humanos da região estão expostos às infecções, sendo necessárias medidas de controle e profilaxia para se restringir o ciclo biológico dos vetores e, assim, a expansão das áreas de ocorrência das doenças.

PALAVRAS-CHAVE: parasitose; zoonose; epidemiologia; citologia; cardiologia.

1
2 **ABSTRACT**

3 **RODRIGUES, R.T.G.A. (Identification of *Dirofilaria immitis* in dogs from the Paraíba's**
4 **backwoods and microfilariae in cutaneous tumor lesion of a naturally infected dog).**
5 [Identificação de *Dirofilaria immitis* em cães do sertão paraibano e de microfilárias em lesão
6 tumoral cutânea de um cão naturalmente infectado]. 2019. 58 f. Dissertação (Mestrado em
7 Ciência e Saúde Animal) – Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de
8 Campina Grande, Patos, 2019.

9
10 Canine heartworm comprises a neglected parasitic disease in many regions but has
11 undergone changes in its epidemiology in recent years. To better understand these changes, the
12 objective of this research was to identify the presence of this parasitic disease and to determine
13 the main epidemiological aspects associated with *D. immitis* infection in the city of Patos-PB,
14 as well as the description of the incidental identification of microfilariae in a neoplastic lesion
15 of an asymptomatic dog for parasitic infection. For this purpose, 120 native dogs were sampled
16 and analyzed by modified Knott methods for microfilariae and ELISA for the detection of
17 parasitic antigens. Based on the results obtained, it was possible to measure a frequency of
18 4.17% of positive dogs in at least one diagnostic test used, located in the neighborhoods of
19 Jardim Magnólia, Noé Trajano, Alto da Tubiba and Novo Horizonte. In addition, it was found
20 that the majority of the positive animals were male, above six years of age, medium-sized,
21 mongrel, living in environments with little or no cleaning performance, domiciled or semi-
22 domiciled and who have not received worming, ivermectin or doxycycline during its entire life.
23 In the case report, a six-year-old male dog, native to the region, was attended with an ulcerated
24 tumor lesion draining profuse bloody secretion, which during cytological examination was
25 identified as a transmissible canine venereal tumor. In the same diagnostic tool, amastigote
26 forms of *Leishmania* sp. and microfilariae of *D. immitis* was seen among neoplastic cells, being
27 the animal asymptomatic for both parasitic diseases, and, therefore, assuming role of reservoir
28 in the disease transmission cycle. Thus, it can be concluded that the city of Patos, located in the
29 Paraíba's backwoods, have infected animals with parasitoses of great importance for public
30 health, evidencing that both other animals and humans in the region are exposed to infections.
31 Control and prophylaxis measures to restrict the biological cycle of the vectors and, thus, the
32 expansion of disease occurrence areas are needed.

33
34
35 **KEYWORDS:** parasitic disease; zoonosis; epidemiology; cytology; cardiology.

1
2
3
4

SUMÁRIO

	Pág.
LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS.....	VII
LISTA DE QUADROS E FIGURAS.....	VIII
1 INTRODUÇÃO GERAL.....	10
2 REFERÊNCIAS.....	13
3 CAPÍTULO I: Aspectos epidemiológicos da infecção por <i>Dirofilaria immitis</i> em cães no sertão paraibano.....	15
3.1 ABSTRACT.....	16
3.2 RESUMO.....	16
3.3 INTRODUÇÃO.....	17
3.4 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.5 RESULTADOS.....	19
3.6 DISCUSSÃO.....	22
3.7 CONCLUSÕES.....	24
REFERÊNCIAS.....	25
4 CAPÍTULO II: Presença de <i>Leishmania</i> sp. e <i>Dirofilaria immitis</i> em Tumor Venéreo Transmissível Canino cutâneo – Relato de caso.....	28
4.1 ABSTRACT.....	29
4.2 INTRODUÇÃO.....	30
4.3 RELATO DE CASO.....	31
4.4 DISCUSSÃO.....	35
REFERÊNCIAS.....	38
5 CONCLUSÃO GERAL.....	43
ANEXOS.....	44

5
6

LISTA DE SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

- 1
2
3
- 4 **μL** - Microlitros
- 5 **ALT** - Alanina aminotransferase
- 6 **ALT** - Alanina aminotransferase
- 7 **AST** - Aspartato aminotransferase
- 8 **BAV** - Bloqueio atrioventricular
- 9 **Ca⁺⁺** - Cálcio
- 10 **CK** - Creatinoquinase
- 11 **CK-MB** - Creatinoquinase subunidade isoenzima MB
- 12 **cTnI** - Troponina I
- 13 ***D. immitis*** - *Dirofilaria immitis*
- 14 ***D. repens*** - *Dirofilaria repens*
- 15 **EDTA** - Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
- 16 **ELISA** - Enzime Liked Immunoasorbent Assay
- 17 **EMATER** - Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural
- 18 **FA** - Fosfatase alcalina
- 19 **FA** - Fosfatase alcalina
- 20 **g/dL** – Gramas por decilitro
- 21 **K⁺** - Potássio
- 22 **mL** - Mililitros
- 23 **mmHg** – Milímetros de mercúrio
- 24 **Na⁺** - Sódio
- 25 **ng/mL** - Nanogramas por mililitro
- 26 **PA** - Pressão arterial
- 27 **PAAF** - punção aspirativa com agulha fina
- 28 **PAD** - Pressão arterial diastólica
- 29 **PAM** - Pressão arterial média
- 30 **PAS** - Pressão arterial sistólica
- 31 **TVTc** - Tumor Venéreo Transmissível Canino
- 32 **U/L** – Unidades por litro
- 33

LISTA DE QUADROS E FIGURAS

1
2
3
4
5

CAPÍTULO I

	Pág.
Figura 1 - Mapa do município de Patos-PB destacando os bairros que apresentaram cães positivos para <i>Dirofilaria immitis</i> em levantamento epidemiológico.....	22
Figura 2 - Locais onde foram encontrados cães com resultado positivo para <i>Dirofilaria immitis</i> no município de Patos-PB, apresentando más condições de saneamento básico, acúmulo de resíduos domésticos e reservatórios com água não tratada.....	23
Quadro 1 - Resultados da análise univariada dos possíveis fatores de risco associados à infecção por <i>Dirofilaria immitis</i> em cães no município de Patos-PB para variáveis com $p \leq 0,20$	24

6
7
8

1
2
3
4
5

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO II

	Pág.
Figura 1 - Tumor ulcerado drenando secreção sanguinolenta em cão acometido por TVTc. A) Vista geral da lesão em região adjacente ao olécrano direito. B) Lesão em maior tamanho apresentando focos de necrose e larvas de mosca.....	34
Figura 2 - Achados citológicos de TVTc subtipo plasmocitoide em um cão com tumor em região de olécrano direito. A) Forma amastigota de <i>Leishmania</i> sp. (seta preta) livre em meio a células de aspecto arredondado, com citoplasma amplo, raramente vacuolizado e pouco distinto, núcleo centralizado a excêntrico, com cromatina frouxa e discretamente rendilhada, e nucléolos múltiplos e evidentes. B e C) Microfilárias dispostas em meio a intensa quantidade de células neoplásicas de aspecto plasmocitoide compatível com TVTc.....	35
Figura 3 - Radiografia torácica de cão com dirofilariose, diagnosticada após achado incidental de microfilárias em neoplasia cutânea, exibindo cardiomegalia e aumento da radiopacidade pulmonar. A) Projeção ventro-dorsal. B) Projeção latero-lateral.....	36
Figura 4 - Coração de cão com dirofilariose, diagnosticada após achado incidental de microfilárias em neoplasia cutânea. A) Presença de vermes adultos em câmaras cardíacas direitas. B) Visualização dos vermes em maior destaque.....	36

6

1 1 INTRODUÇÃO GERAL

2
3 As doenças caninas transmitidas por vetores (DCTV) têm sido amplamente
4 identificadas em todo o mundo, inclusive em regiões anteriormente consideradas livres em
5 decorrência de condições climáticas adversas ao desenvolvimento dos agentes transmissores
6 (DANTAS-TORRES, 2008). As DCTV, como a dirofilariose, têm despertado maior atenção
7 dos pesquisadores nos últimos anos como efeito da reemergência de casos humanos e animais
8 associada ao aumento da escala geográfica de prevalência dos vetores (GENCHI et al., 2009).

9 A dirofilariose canina é uma doença cosmopolita causada pelo nematoide *Dirofilaria*
10 *immitis*, da família Filaridae, cuja infecção é mais prevalente em regiões de clima tropical e
11 subtropical e possui o cão como hospedeiro definitivo. Os hospedeiros acidentais do parasita
12 incluem canídeos e felídeos selvagens, além do homem (LARSSON, 2015).

13 Entre as diversas espécies de *Dirofilaria*, as de maior importância clínica e
14 epidemiológica correspondem a *D. immitis* e *D. repens*, ambas podendo infectar animais e seres
15 humanos (SIMÓN et al., 2012). Outra filária considerada endêmica em alguns países equivale
16 à espécie *Acanthocheilonema reconditum*, anteriormente denominada de *Dipetalonema*
17 *reconditum*, a qual deve ser diferenciada da *D. immitis* por possuir exígua magnitude patogênica
18 (NELSON, 2015).

19 A parasitose é transmitida por mosquitos vetores dos gêneros *Culex*, *Aedes*,
20 *Ochlerotatus* e *Anopheles*, que assumem papel de hospedeiros intermediários no ciclo de
21 transmissão da doença, possibilitando o desenvolvimento das larvas infectantes de terceiro
22 estágio (CAPELLI et al., 2013).

23 O ciclo de transmissão do parasita necessita de um hospedeiro reservatório, um vetor
24 competente e condições climáticas propícias, iniciando-se quando os mosquitos ingerem,
25 durante o repasto sanguíneo, microfílarias (L₁) de *D. immitis* presentes no sangue de animais
26 infectados. No vetor, as microfílarias sofrem duas mudanças de estágio até L₃, compreendendo
27 as larvas infectantes, as quais são transmitidas para um hospedeiro suscetível durante a
28 alimentação hematófaga do mosquito. Essas larvas migram da pele inoculada até as artérias
29 pulmonares, onde atingem a maturidade sexual (BOWMAN; ATKINS, 2009; NELSON, 2015;
30 NGUYEN et al., 2016).

31 Muitos animais infectados permanecem longos períodos assintomáticos, todavia,
32 aqueles que exibem sinais clínicos apresentam mais frequentemente emagrecimento,
33 intolerância ao exercício, tosse, letargia, dispneia, síncope e distensão abdominal (LARSSON,
34 2015).

1 Os exames necessários para o diagnóstico da dirofilariose englobam radiografia de
2 tórax, na qual é possível observar aumento da silhueta cardíaca e aspecto dilatado e tortuoso de
3 artérias pulmonares. Além disso, pode ser realizado o diagnóstico parasitológico por meio da
4 pesquisa de microfilárias utilizando o teste de Knott modificado e da gota espessa, enquanto os
5 testes imunológicos baseiam-se na detecção de antígeno circulante pela técnica de ELISA. Os
6 exames eletrocardiográfico e ecocardiográfico são importantes para o estadiamento da moléstia
7 parasitária (BORTHAKUR et al., 2015; LARSSON, 2015).

8 O tratamento da doença em cães é complexo e possui alto risco em decorrência dos
9 efeitos colaterais secundários à morte maciça de vermes na corrente sanguínea. A terapia
10 adulticida é realizada com o emprego de dicloridrato de melasormina, enquanto o tratamento
11 microfilaricida baseia-se no uso de ivermectina ou milbemicina. Além disso, a doxiciclina tem
12 sido comumente utilizada para a eliminação de bactérias do gênero *Wolbachia* albergadas pelo
13 parasita e que contribuem para a sobrevivência dos vermes. Em caso de obstrução mecânica de
14 vias circulatórias recomenda-se a remoção cirúrgica dos parasitas (SIMÓN et al., 2012).

15 É preocupante não somente o alastramento geográfico da patologia canina para distintas
16 regiões do planeta, mas também o fato da dirofilariose se tratar de uma zoonose reemergente.
17 Mais de 1.700 casos humanos da parasitose já foram documentados em todo o mundo,
18 sugerindo que onde a doença canina esteja presente, os seres humanos apresentam risco de
19 infecção (MONTROYA-ALONSO et al., 2010; SIMÓN et al., 2012). Assim, é crescente o
20 número de relatos de identificação das formas imaturas do parasito em humanos e animais nos
21 mais diversos órgãos, como olhos, cérebro, pulmão e tecido subcutâneo (GENCHI et al., 2011;
22 IDDAWELA et al., 2015; FALIDAS et al., 2016; MALIK et al., 2016; SUBAPRIYA et al.,
23 2018).

24 Além de tecidos saudáveis, existem em cães descrições da presença das filárias em
25 neoplasias como mastocitoma (FILGUEIRA, 2016) e adenocarcinomas mamários (BURGESS;
26 WAGNER, 2016) sem qualquer sintomatologia relacionada à parasitose. Deste modo, alguns
27 exames complementares como a citologia de lesões neoplásicas são importantes ferramentas
28 para a detecção do agente de forma incidental em animais assintomáticos para dirofilariose
29 (MONDAL, 2010; ROSOLEM et al., 2013; PAL et al., 2018).

30 Alguns casos da infecção em cães são relatados em áreas de clima e ambiente adversos
31 à ocorrência da doença, como na cidade de Patos, Paraíba, Brasil, cujo clima é considerado
32 semiárido com baixos índices pluviométricos anuais. Além disso, existem poucos estudos
33 associando a identificação das formas larvais do parasito em neoplasias na espécie canina. Estes
34 aspectos associados ao diminuto volume de trabalhos publicados acerca da moléstia parasitária

1 cardiopulmonar supracitada tendem a tornar a infecção por *D. immitis* subestimada na região.
2 Assim, torna-se essencial a realização de um levantamento epidemiológico de cães
3 naturalmente infectados por esse patógeno, visando o conhecimento da atual situação da
4 dirofilariose no sertão paraibano e a adoção de medidas de controle e profilaxia necessárias para
5 se assegurar a manutenção da saúde pública e animal.

6 Desse modo, objetivou-se com a realização desta pesquisa determinar a presença da
7 infecção por *D. immitis* e os seus aspectos epidemiológicos na população canina da cidade de
8 Patos, sertão paraibano, além da descrição de um achado incidental de microfilárias em
9 neoplasia cutânea em um cão naturalmente infectado pelo parasita.

10

11

2 REFERÊNCIAS

- 1
2
- 3 BORTHAKUR, S. K.; DEKA, D. K.; ISLAM, S.; SARMA, D. K.; SARMAH, P. C.
4 Prevalence and Molecular Epidemiological Data on *Dirofilaria immitis* in Dogs from
5 Northeastern States of India. **The Scientific World Journal**, v. 2015, p.1-7, 2015.
- 6 BOWMAN, D. D.; ATKINS, C. E. Heartworm biology, treatment, and control. **Vet Clin**
7 **North Am Small Anim Pract**, v.39, n. 6, p. 1127–1158, 2009.
- 8 BURGESS, H. J.; WAGNER, B. Identification of microfilaria in a mammary mass aspirate
9 from a female dog. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 57, p. 374-376, 2016.
- 10 CAPELLI, G.; REGALBONO, A. F.; SIMONATO, G.; CASSINI, R.; CAZZIN, S.;
11 CANCRINI, G.; OTRANTO, D.; PIETROBELLI, M. Risk of canine and human exposure to
12 *Dirofilaria immitis* infected mosquitoes in endemic areas of Italy. **Parasites & Vectors**, v. 60,
13 n. 6, p. 1-7, 2013.
- 14 DANTAS-TORRES, F. Canine vector-borne diseases in Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 25,
15 n.1, p.1-17, 2008.
- 16 FALIDAS, E.; GOURGIOTISA, S.; IVOPOULOU, O.; KOUTSOGIANNIS, I.;
17 OIKONOMOU, C.; VLACHOS, K.; VILLIAS, C. Human subcutaneous dirofilariasis
18 caused by *Dirofilaria immitis* in a Greek adult. **Journal of Infection and Public Health**, v. 9,
19 p. 102-104, 2016.
- 20 FILGUEIRA, K. D. Microfilárias de *Dirofilaria immitis* em mastocitoma cutâneo canino. In:
21 Encontro da ABROVET, 5-6, 2016. Foz do Iguaçu, Brasil. **Anais...** Foz do Iguaçu, 2016.
22 p.16.
- 23 GENCHI, C.; RINALDI, L.; MORTARINO, M.; GENCHI, M.; CRINGOLI, G. Climate and
24 *Dirofilaria* infection in Europe. **Veterinary Parasitology**, v. 163, p. 286–292, 2009.
- 25 IDDAWELA, D.; EHAMBARAM, K.; WICKRAMASINGHE, S. Human ocular
26 dirofilariasis due to *Dirofilaria repens* in Sri Lanka. **Asian Pacific Journal of Tropical**
27 **Medicine**, v. 8, n. 12, p. 1022–1026, 2015.
- 28 LARSSON, M. H. M. A. Dirofilariose canina. In: JERICÓ, M.M.; KOGIKA, M.M.;
29 ANDRADE NETO, J.P. **Tratado de medicina interna de cães e gatos**. Rio de Janeiro:
30 Roca, 2015. p.1215-1218.
- 31 MALIK, D.; AMARANENI, A.; SINGH, S.; ROACH, R. Man’s best friend: How humans
32 can develop *Dirofilaria immitis* infections. **IDCases**, v. 4, p. 43-45, 2016.
- 33 MONDAL, S. K. Incidental detection of filaria in fine-needle aspirates: a cytologic study of
34 14 clinically unsuspected cases at different sites. **Diagnostic Cytopathology**, v. 40, n. 4, p.
35 292-296, 2012.
- 36 MONTOYA-ALONSO, J. A.; MELLADO, I.; CARRETÓN, E.; CABRERA-PEDRERO, E.
37 D.; MORCHÓN, R.; SIMÓN, F. Canine dirofilariosis caused by *Dirofilaria immitis* is a risk
38 factor for the human population on the island of Gran Canaria, Canary Islands, Spain.
39 **Parasitology Research**, v. 107, n. 5, p.1265–1269, 2010.

- 1 NELSON, C. T. Dirofilariose. In: GREENE, C. E. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. 4.
2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. p.1882-1903.
- 3 NGUYEN, C.; KOH, W. L.; CASTERIANO, A.; BEIJERINK, N.; GODFREY, C.; BROWN,
4 G.; EMERY, D.; ŠLAPETA, J. Mosquito-borne heartworm *Dirofilaria immitis* in dogs from
5 Australia. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 9, p.535, 2016.
- 6 PAL, S.; MONDAL, S.; PRADHAN, R.; BOSE, K.; CHAKRABARTI, S.; SIKDER, M.
7 Cytological findings of microfilariae in different sites: A retrospective review of 22 cases
8 from endemic region. **Trop Parasitol**, v. 8, n. 1, p. 24-28, 2018.
9
- 10 ROSOLEM, M.C.; MOROZ, L.R.; RODIGHERI, S.M.; CORRÊA NETO, U.J.; PORTO,
11 C.D.; HANEL, J.S. Estudo retrospectivo de exames citológicos realizados em um Hospital
12 Veterinário Escola em um período de cinco anos. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 65, n. 3,
13 p.735-741, 2013.
- 14 SIMÓN, F.; SILES-LUCAS, M.; MORCHÓN, R. et al. Human and animal dirofilariasis: the
15 emergence of a zoonotic mosaic. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 25, n. 3, p. 507–544,
16 2012.
- 17 SUBAPRIYA, S.; VAIRAMUTHU, S.; PAZHANIVEL, N.; SHAFIUZAMA, M.;
18 GOKULAKRISHNAN, M.; ALI, M. G. M. Cytological identification of microfilaria in an
19 aberrant location. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**.
20 v. 7, n. 6, p. 1397-1399, 2018.
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23

3 CAPÍTULO I:
**Aspectos epidemiológicos da infecção por *Dirofilaria immitis* em cães no sertão
paraibano**

Manuscrito que será submetido ao
periódico Pesquisa Veterinária Brasileira,
ISSN: 0100-736X, Qualis A2.

1 **Aspectos epidemiológicos da infecção por *Dirofilaria immitis* em cães no sertão**
 2 **paraibano¹**

3
 4 Ramon T. G. A. Rodrigues², Higina M. Melo², Lorena de C. Ramos², Luiz H. de S.
 5 Rodrigues², Olivia M. M. Borges², Edinete L. Pereira², Arthur W. de L. Brasil³ e Almir P. de
 6 Souza²
 7

8 **3.1 ABSTRACT.-** Rodrigues R.T.G.A., Melo H.M., Ramos L.C., Rodrigues L.H.S, Borges
 9 O.M.M., Pereira E.L., Brasil A.L. & De Souza A.P. [**Epidemiological aspects of *Dirofilaria***
 10 ***immitis* infection in dogs in the backwoods Paraíba region]** Aspectos epidemiológicos da
 11 infecção por *Dirofilaria immitis* em cães no sertão paraibano. *Pesquisa Veterinária Brasileira*
 12 00(0):00-00. Programa de Pós-graduação em Ciência e Saúde Animal, Universidade Federal
 13 de Campina Grande, Av. Universitária s/n, Bairro Sta Cecília, Patos, PB 58708-110, Brazil. E-
 14 mail: ramon.tgar@hotmail.com

15 In order to identify the presence of *D. immitis* infection and to determine the main
 16 epidemiological aspects associated with this parasitosis in the backlands of Paraíba, a study was
 17 carried out comprising 120 blood samples collected from dogs native to the city, without a
 18 history of travel to regions endemic to the disease, which were analyzed by modified Knott and
 19 thick drop methods for microfilariae and by ELISA for the detection of parasitic antigens. In
 20 addition, the environmental characteristics of the collection points were descriptively registered
 21 and the epidemiological questionnaire was applied to those responsible for the animals included
 22 in the study. Considering the results obtained, it was possible to determine the frequency of
 23 4,17% of dogs positive for *D. immitis* in at least one of the diagnostic tests used, being these
 24 animals located in the neighborhoods Jardim Magnólia, Noé Trajano, Alto da Tubiba and Novo
 25 Horizonte, considered peripherals and low-income. In addition, it was found that the majority
 26 of the positive animals were male, above six years of age, medium-sized, mongrel, living in
 27 environments with little or no cleaning performance, domiciled or semi-domiciled and who
 28 have not received worming, ivermectin or doxycycline during its entire life. Thus, it was
 29 possible to determine that the infection by *Dirofilaria immitis* is present in an autochthonous
 30 way in the backlands of Paraíba, despite the climatic conditions unfavorable to the vectors,
 31 evidencing the need of awareness of the tutors for the use of prophylactic measures aimed at
 32 the control of this zoonosis.

33
 34 INDEX TERMS: parasitic disease, zoonosis, epidemiology, heartworm disease, dogs.

35
 36 **3.2 RESUMO.-** Com o objetivo de identificar a presença da infecção por *D. immitis* e
 37 determinar os principais aspectos epidemiológicos associados a essa parasitose no sertão
 38 paraibano, foi realizado um estudo englobando 120 amostras sanguíneas coletadas de cães
 39 nativos da cidade, sem histórico de viagem a regiões endêmicas para a enfermidade, as quais
 40 foram analisadas pelos métodos de Knott modificado e gota espessa, para pesquisa de
 41 microfíliarias, e por ELISA, para detecção de antígenos parasitários. Além disso, foram
 42 descritivamente registradas as características ambientais dos pontos de coleta e aplicado

¹Recebido em

Aceito para publicação em

²Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Av. Universitária s/n, Bairro Sta Cecília, Patos, PB 58708-110, Brasil. *Autor para correspondência: ramon.tgar@hotmail.com.

³Universidade Federal de Rondônia, Av. Presidente Dutra, 2965, Centro, CEP: 76801-974, Porto Velho, Rondônia, Brasil.

1 questionário epidemiológico aos responsáveis pelos animais incluídos no estudo. Diante dos
2 resultados obtidos foi possível determinar a frequência de 4,17% de cães positivos para *D.*
3 *immitis* em pelo menos um dos testes diagnósticos utilizados, sendo esses animais localizados
4 nos bairros Jardim Magnólia, Noé Trajano, Alto da Tubiba e Novo Horizonte, considerados
5 periféricos e de baixa renda. Além disso, verificou-se que a maioria dos animais positivos era
6 macho, acima de seis anos de idade, sem raça definida, de porte médio, que viviam em
7 ambientes com pouca ou nenhuma realização de limpeza, criados de forma domiciliada ou
8 semi-domiciliada e que não receberam vermífugos, ivermectina ou doxiciclina ao longo da vida.
9 Assim, foi possível determinar que a infecção por *Dirofilaria immitis* está presente de forma
10 autóctone no sertão paraibano, apesar das condições climáticas desfavoráveis aos vetores,
11 evidenciando a necessidade de conscientização dos tutores para o emprego de medidas
12 profiláticas visando o controle dessa zoonose.

13
14 TERMOS DE INDEXAÇÃO: parasitose, zoonose, epidemiologia, dirofilariose, cães.

15 16 17 3.3 INTRODUÇÃO

18 A dirofilariose é uma enfermidade causada pelo parasita *Dirofilaria immitis*, o qual
19 habita as artérias pulmonares e, ocasionalmente, o ventrículo direito de cães e outros animais,
20 sendo transmitido pela picada de mosquitos hematófagos de diversos gêneros. Entre os
21 principais sinais clínicos descritos nas infecções maciças estão: tosse, dispneia, intolerância ao
22 exercício, ascite, anorexia e perda de peso. O diagnóstico da parasitose consiste,
23 principalmente, na utilização da pesquisa de microfilárias por técnicas diretas e, ainda, detecção
24 sorológica de antígenos circulantes de vermes adultos (Borthakur et al. 2015).

25 Apesar de tratar-se de uma doença cuja distribuição é cosmopolita, regiões de clima
26 quente e úmido de países tropicais e subtropicais figuram como as áreas de maior prevalência
27 da infecção por proporcionarem condições ambientais favoráveis ao desenvolvimento dos
28 vetores (Larsson 2015). Diversos levantamentos epidemiológicos já foram realizados em todo
29 o mundo evidenciando uma prevalência variável entre países e entre regiões de um mesmo país.

30 Com esses estudos constatou-se que a filariose por *D. immitis* é considerada endêmica
31 nas Américas do Norte, Central e do Sul, além do Caribe, África, Japão, Indonésia, Austrália e
32 sul da Europa (Nelson 2015, Nguyen et al. 2016). Inúmeros estudos de prevalência utilizando
33 pesquisa de antígenos já foram executados nos mais diversos países do globo, sendo
34 encontrados, a título de exemplificação, valores de 27,3% em Portugal (Vieira et al. 2014),
35 18,2% na Tailândia (Boonyapakorn et al. 2008), 18,03% na Índia (Borthakur et al. 2015), 13%
36 nos Estados Unidos (Bowman et al. 2016), 7,5% no México, 4,8% na Colômbia, 4,3% no Peru
37 e 5,1% na Argentina (Labarthe & Guerrero 2005).

38 No Brasil a prevalência nacional foi de aproximadamente 10,2% de animais com
39 microfilaremia e de 9,1% positivados nos testes de pesquisa antigênica (Barbosa & Alves

1 2006). Estudos regionais evidenciaram prevalências variáveis entre os estados e cidades
2 brasileiras, sendo observados 5,47% de cães positivos no estado do Paraná (Reifur et al. 2004),
3 1,3% em Alagoas (Brito et al. 2001), 47,7% em Natal (Ferreira et al. 2004), 11,54% em Recife
4 (Ramos et al. 2016) e 0,33% em João Pessoa (Vidal 2014). Na cidade de Patos, sertão da
5 Paraíba, há registro de apenas um estudo epidemiológico sobre a dirofilariose (Arcoverde et al.
6 1994), no qual foram utilizadas somente técnicas parasitológicas para estimação da prevalência
7 da doença.

8 Nesse contexto, tendo em vista a importância da doença na saúde pública associada à
9 ausência de investigações sorológicas e dos fatores de risco numa região com crescente número
10 de notificações interpessoais de casos por profissionais clínicos, objetivou-se com este estudo,
11 a determinação da frequência de animais positivos e dos aspectos epidemiológicos da infecção
12 por *D. immitis* na cidade de Patos-PB.

13

14

3.4 MATERIAL E MÉTODOS

15 **Local do estudo.** O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa
16 (CEP) do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande
17 (CSTR/UFCG), sob o protocolo CEP 043-2017. O estudo foi conduzido na zona urbana e no
18 Hospital Veterinário Universitário (HVU) Prof. Dr. Ivon Macêdo Tabosa, UFCG, no município
19 de Patos, Sertão paraibano, com latitude: -07° 01' 28" sul; longitude: 37° 16' 48" oeste;
20 temperatura média: 30°C; e umidade relativa 69% (EMATER) e clima tipo Aw (tropical quente
21 e úmido), de acordo com classificação de Köppen e Gieser (Peel et al. 2007). Os locais de
22 obtenção das amostras foram definidos por conveniência e incluíram os bairros Monte Castelo,
23 Maternidade, Noé Trajano, Jardim Magnólia, Alto da Tubiba, Novo Horizonte, Jatobá, Nova
24 Conquista e Jardim Guanabara.

25 **Atividades de campo.** Foram realizadas coletas de sangue em residências selecionadas
26 aleatoriamente nos referidos bairros entre os meses de janeiro e setembro de 2018 de um total
27 de 120 cães domiciliados ou semi-domiciliados, sem pré-requisitos quanto à idade, peso, sexo
28 ou raça, com autorização dos seus tutores, por meio da assinatura de termo de consentimento
29 exclusivo para essa finalidade. Para certificação da presença de casos autóctones foram
30 coletadas amostras sanguíneas de cães que nasceram e foram criados na região, sem histórico
31 de viagens para regiões litorâneas (cães nativos).

32 De cada animal foram coletados, em média, 5 mL de sangue em tubos a vácuo. As
33 amostras sanguíneas foram obtidas por venopunção cefálica ou jugular, sendo 2,5 mL

1 acondicionados em tubos com EDTA (etileno-diamino-tetracetato) e 2,5 mL em tubos sem
2 anticoagulante, sendo esta última amostra centrifugada para obtenção de soro.

3 **Diagnóstico.** O diagnóstico foi estabelecido por evidência do antígeno do parasita
4 adulto utilizando-se testes rápidos imunocromatográficos (Alere[®] Dirofilariose Ag Test Kit)
5 seguindo as instruções do fabricante e pela presença de microfírias de *D. immitis* no teste de
6 Knott modificado e no exame de gota espessa (Newton & Wright 1956). As amostras foram
7 processadas e submetidas aos testes diagnósticos nas 24 horas subsequentes as coletas.

8 **Variáveis epidemiológicas.** Em cada residência na qual um cão foi incluído no estudo,
9 as características ambientais foram descritivamente registradas e os tutores foram entrevistados,
10 sendo os dados documentados em questionários epidemiológicos a fim de se verificar uma
11 possível associação entre essas variáveis questionadas e a positividade dos animais nos testes
12 aplicados. As variáveis exploradas foram: tipo de criação (domiciliar; semi-domiciliar; solto),
13 contato com outros animais (sim; não), tipo de piso (terra; cimento), limpeza do ambiente (sim;
14 não), vacinação (sim; não), vermifugação (sim; não), presença de carrapatos (sim; não), uso de
15 ivermectina (sim; não), uso de doxiciclina (sim; não), presença de mosquitos (sim; não) e
16 conhecimento sobre a doença (sim; não). Os dados relativos à identificação do animal (raça,
17 sexo, idade, porte) foram analisados de forma descritiva.

18 **Análise estatística.** A análise estatística foi realizada com base na associação entre as
19 variáveis independentes (variáveis epidemiológicas) e aquelas dependentes (resultados da
20 imunocromatografia e testes de Knott modificado e da gota espessa). Calculou-se como medida
21 de associação o teste exato de Fischer com intervalo de confiança de 95% (Thursfield 2007).
22 Em seguida, as variáveis selecionadas foram submetidas a uma análise de correlação a fim de
23 se verificar uma possível colinearidade entre si. As que apresentassem coeficiente de correlação
24 $p \geq 0,9$ eram excluídas do modelo de acordo com a plausibilidade biológica. A análise de
25 fatores de risco foi efetuada em duas etapas: análise univariada e análise multivariada. Na
26 análise univariada, as variáveis que apresentaram um valor de $p \leq 0,2$ pelo teste exato de Fisher,
27 quando indicado, foram selecionadas para a análise multivariada, utilizando-se a regressão
28 logística múltipla, com nível de significância de 5% (Hosmer & Lemeshow 2000). Todas as
29 análises foram efetuadas com o programa SPSS 23.0 for Windows.

30 31 **3.5 RESULTADOS**

32 De um total de 120 amostras analisadas foram obtidos cinco resultados positivos em
33 pelo menos uma das modalidades diagnósticas adotadas, correspondendo a uma frequência de
34 4,17% de caninos infectados por *D. immitis*. Todos esses animais foram positivos nos testes de

1 Knott e da gota espessa, entretanto, um animal (0,83%) não foi reagente no teste de antígeno.
2 Os bairros com animais positivos foram: Jardim Magnólia, com dois casos; além de Noé
3 Trajano, Alto da Tubiba e Novo Horizonte, cada um possuindo um caso positivo (Fig. 1).

4



5

6

Fig. 1. Mapa do município de Patos-PB destacando os bairros que apresentaram cães positivos para *Dirofilaria immitis*. Fonte: Google Maps (2019).

7

8

9

10

Todos os locais com animais positivos compartilhavam características em comum, tais como inadequado saneamento básico, presença de vegetação abundante no entorno, acúmulo de lixo doméstico, precária estrutura física das residências e reservatórios com acúmulo de água não tratada (Fig. 2).

11

12

13

14

15

16



1
2 Fig. 2. Locais onde foram encontrados cães com resultado positivo para *Dirofilaria immitis* no
3 município de Patos-PB, apresentando más condições de saneamento básico, acúmulo de resíduos
4 domésticos e reservatórios com água não tratada.
5

6 Com relação à idade dos animais parasitados, houve variação de 2,5 a 9 anos, com média
7 de 5,7 anos, todavia, 60% deles situavam-se na faixa etária superior a 6 anos. Já no tocante ao
8 sexo, a grande maioria (80%) dos infectados era macho, enquanto somente um animal pertencia
9 ao sexo oposto.

10 A maior parte dos cães positivos (80%) não apresentava um padrão racial definido e
11 possuía porte médio, enquanto 20% eram de porte grande, não havendo, portanto, animais de
12 pequeno porte positivados nos testes diagnósticos utilizados.

13 Na análise univariada, as variáveis mais associadas à positividade para *Dirofilaria*
14 *immitis* em cães foram: limpeza do ambiente, tipo de criação, idade do animal, vermifugação,
15 uso de ivermectina e uso de doxiciclina (Quadro 1). Entretanto, na análise multivariada,
16 nenhuma das variáveis analisadas configurou-se como fator de risco pela regressão logística
17 múltipla.
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27

1 Quadro 1. Resultados da análise univariada dos possíveis fatores de risco associados à infecção por
 2 *Dirofilaria immitis* em cães no município de Patos-PB para variáveis com $p \leq 0,20$.

Variáveis	Categorias	Total de animais	Total de positivos n (%)	p
Limpeza do ambiente	Não	33	3 (9,1)	0,127
	Sim	87	2 (2,3)	
Tipo de criação	Domiciliar	87	2 (2,3)	0,183
	Semi-domiciliar	17	2 (11,8)	
	Solto	16	1 (6,3)	
Vermifugação	Não	49	4 (8,2)	0,157
	Sim	71	1 (1,4)	
Uso de doxiciclina	Não	115	4 (3,5)	0,195
	Sim	5	1 (20)	
Uso de ivermectina	Não	45	4 (8,9)	0,065
	Sim	75	1 (1,3)	

3

4

3.6 DISCUSSÃO

5

6

7

8

9

10

11

A constatação de cães nativos positivos para *Dirofilaria immitis* na cidade de Patos-PB, cujas condições climáticas são consideradas adversas à ocorrência da infecção, revela um novo status de expansão territorial da parasitose para áreas não endêmicas. Vieira et al. (2014) e Colwell et al. (2011) justificam que alguns fatores estão contribuindo para essa nova realidade, tais como o aquecimento global, mudanças na sazonalidade dos vetores, aumento da circulação de animais entre os países e capacidade de adaptação dos vetores a diferentes condições ambientais.

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

A frequência obtida nesta pesquisa aproximou-se dos 5,47% encontrados no estado do Paraná (Reifur et al. 2004), mas foi inferior aos 10,2% de prevalência nacional (Barbosa & Alves 2006), assim como aos 47,7%, 20%, 15%, 12,8% e 11,54% encontrados em Natal (Ferreira et al. 2004), Salvador (Labarthe et al. 2014), São Luís (Ahid et al. 1999), Porto Velho (Ogawa et al. 2013) e Recife (Ramos et al. 2016), respectivamente. Entretanto, esse percentual pode ser considerado bastante relevante, tendo em vista que em áreas litorâneas e endêmicas do Nordeste são documentadas taxas de ocorrência inferiores, como em João Pessoa com 0,33% (Vidal 2014), Alagoas com 1,3% (Brito et al. 2001) e Sergipe com 1,6% (Silva et al. 2017), demonstrando a importância de se realizar estudos investigativos relacionados à patologia na região estudada.

22

23

24

Em um único registro relativo à determinação da prevalência de dirofilariose em Patos-PB, foram encontrados 12,4% de animais positivos. Entretanto, apenas a técnica parasitológica de Knott foi empregada na metodologia (Arcoverde et al. 1994), não havendo pesquisa de

1 antígenemia do parasito no sertão paraibano previamente ao presente estudo. A redução da
2 frequência de animais positivos na cidade pode ter decorrido do largo emprego de
3 quimioprofilaxia com lactonas macrocíclicas e do uso extensivo de tetraciclinas para tratamento
4 de erliquiose (Labarthe & Guerrero 2005), como constatado na análise estatística univariada
5 que associou o uso desses fármacos à menor taxa de infecção por *D. immitis* devido às suas
6 ações comprovadas contra as formas adultas e larvais de *Dirofilaria*.

7 A amostra que apresentou positividade no teste de Knott, mas não foi reagente no teste
8 de antígeno, foi considerada para a frequência de casos positivos nesta pesquisa pelas
9 características morfológicas das microfilárias detectadas serem compatíveis com a espécie *D.*
10 *immitis*, seguindo critérios de diferenciação de Nelson (2015). Casos de animais
11 microfilarêmicos que apresentam negatividade na pesquisa de antígeno são frequentes e foram
12 relatados por Tarello (2001), Vezzani et al. (2008) e Alho et al. (2014). Essa situação pode
13 ocorrer devido a alguns fatores, tais como a formação de complexos antígeno-anticorpo que
14 podem impedir a detecção do antígeno (Little et al. 2014), a presença de baixa carga de parasitas
15 fêmeas adultas (que são a fonte do antígeno detectado nos testes) (Alho et al. 2014), ou a
16 persistência das microfilárias após a morte natural ou farmacológica dos vermes adultos
17 (Vezzani et al. 2008).

18 Os ambientes nos quais foram detectados animais positivos podem ter desempenhado
19 papel fundamental na epidemiologia da doença, uma vez que os bairros, em sua maioria,
20 apresentavam baixo status socioeconômico e havia áreas com vegetação abundante, acúmulo
21 de resíduos orgânicos, precário saneamento básico e reservatórios represando água não tratada,
22 favorecendo o desenvolvimento dos vetores. De acordo com Brown et al. (2012), muitos fatores
23 ambientais podem influenciar na transmissão da dirofilariose, incluindo precipitação
24 pluviométrica, umidade relativa do ar, índices de vegetação, densidade populacional humana e
25 animal e status socioeconômico.

26 No que se refere à idade dos animais positivos, a média de 5,7 anos obtida nesta pesquisa
27 foi semelhante à encontrada por Alho et al. (2014) e Vieira et al. (2014). De acordo com Larsson
28 (2015) a dirofilariose pode afetar cães de todas as idades, entretanto, a faixa etária de 3 a 5 anos
29 é mais comumente acometida. Apesar de a idade dos cães não ter sido estatisticamente
30 associada à infecção, animais mais jovens foram menos acometidos, assim como em trabalhos
31 de Kamyngkird et al. (2017) e Boonyapakorn et al. (2008), os quais justificam que quanto
32 maior a idade maior o tempo de exposição à picada dos vetores ao longo da vida.

33 Com relação ao sexo, quatro (80%) dos cinco caninos infectados eram machos, mas,
34 enquanto alguns autores afirmam não haver diferença na prevalência entre machos e fêmeas

1 (Vieira et al. 2007, Furtado et al. 2009), outros sugerem que nos machos a doença é mais
2 prevalente por se tratarem de animais mais comumente destinados à função de cães de guarda,
3 estando mais suscetíveis ao repasto sanguíneo dos vetores por viverem ao ar livre (Vezzani et
4 al. 2011, Traversa et al. 2010).

5 O fato de a grande maioria (80%) dos animais positivos não apresentar padrão racial
6 definido pode explicar o porquê de a maior parte (80%) deles também ser de médio porte, uma
7 vez que há uma maior população de cães SRD (que normalmente são de porte médio) na região
8 estudada, divergindo das descrições literárias de que a maior parte dos caninos parasitados é de
9 porte grande, uma vez que estes são geralmente criados no exterior do domicílio, estando,
10 portanto, mais expostos à picada dos mosquitos transmissores (Araujo et al. 2003, Vezzani et
11 al. 2011, Larsson 2015). Além disso, supõe-se que a maior superfície corporal desses indivíduos
12 predispõe a um maior número de picadas (Traversa et al. 2010).

13 Nesta pesquisa, todos os cães eram assintomáticos para dirofilariose e nenhuma das
14 variáveis epidemiológicas analisadas por meio da regressão logística múltipla foi reconhecida
15 como fator de risco para a ocorrência de infecção por *D. immitis*. Igual situação foi descrita por
16 Traversa et al. (2010), e pode ser explicada pela pequena quantidade de animais positivos
17 encontrados. Em contrapartida, Vieira et al. (2014) identificaram os seguintes fatores de risco:
18 cães com idades entre 4 e 9 anos, que vivem em ambiente rural e que vivem ao ar livre.

19 Apesar de as variáveis destacadas na análise univariada não terem se confirmado como
20 fatores de risco, vale salientar a sua plausibilidade biológica para explicar a ocorrência da
21 infecção parasitária estudada, tendo em vista que a ausência de limpeza do ambiente, o tipo de
22 criação extradomiciliar e a idade do animal acima de 6 anos tendem a favorecer o
23 desenvolvimento e a picada dos vetores, respectivamente. Além disso, a vermifugação, o uso
24 de ivermectina e de doxiciclina são sabidamente fatores que influenciam na concentração de
25 parasitos na corrente sanguínea, pelos seus efeitos antiparasitários (ivermectina) e
26 antibacterianos (doxiciclina) contra bactérias do gênero *Wolbachia*, albergadas pelos parasitas,
27 sendo responsáveis pela sua reprodução e sobrevivência (Simón et al. 2012).

28 29 **3.7 CONCLUSÕES**

30 Com os resultados dessa pesquisa foi possível determinar que a infecção por *Dirofilaria*
31 *immitis* está presente de forma autóctone no sertão paraibano, apesar das condições climáticas
32 desfavoráveis aos vetores, e que ela é mais prevalente em animais acima de 6 anos de idade,
33 que não recebem vermífugos, doxiciclina e ivermectina, e cujos ambientes não são

1 constantemente higienizados, evidenciando a necessidade de conscientização dos tutores para
2 o emprego de medidas profiláticas visando o controle dessa zoonose.

3
4 **Agradecimentos.-** Ao Laboratório de Patologia Clínica Veterinária do Hospital Veterinário da
5 UFCG, Patos-PB.

7 REFERÊNCIAS

8 Ahid S.M.M., Lourenco-de-Oliveira R. & Saraiva L.Q. 1999. Dirofilariose canina na Ilha
9 de São Luís, Nordeste do Brasil: uma zoonose potencial. Cad. Saúde Pública 15(2):405-412.

10 Alho A.M., Landumb M., Ferreira C., Meireles J., Gonçalves L., De Carvalho L. M. &
11 Belo S. 2014. Prevalence and seasonal variations of canine dirofilariosis in Portugal. Veterinary
12 Parasitology 206(1):99-105.

13 Alves L. C., Silva L. V. A., Faustino M. A. G., Mccall J. W., Supakonderj P., Labarthe
14 N. W., Sanchez M. & Caires O. 1999. Survey of Canine Heartworm in the City of Recife,
15 Pernambuco, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 94(5):587-590.

16 Araujo R.T., Marcondes C.B., Bastos L.C. & Sartor D.C. 2003. Canine dirofilariosis in
17 the region of Conceição Lagoon, Florianópolis, and in the Military Police kennel, São José,
18 State of Santa Catarina, Brazil. Vet. Parasitol 113(1):239-242.

19 Arcoverde M.C.P., Arcoverde F., Queiroga E. & Brito L.H.R. 1994. Prevalência de
20 microfílaras em cães no município de Patos no Estado da Paraíba. In: XXIII Congresso
21 Brasileiro de Medicina Veterinária, 210. Anais... Olinda.

22 Barbosa C.L. & Alves L.C. Dirofilariose canina: situação atual no Brasil. 2006. Revista
23 do Conselho Federal de Medicina Veterinária 1:57-62.

24 Boonyapakorn C., Srikitjakarn L., Morakote N. & Hoerchner, F. 2008. The epidemiology
25 of *Dirofilaria immitis* infection in outpatient dogs at Chiang Mai University Small Animal
26 Hospital, Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 39(1):33-38.

27 Borthakur S.K., Deka D.K., Islam S., Sarma D.K. & Sarmah P.C. 2015. Prevalence and
28 Molecular Epidemiological Data on *Dirofilaria immitis* in Dogs from Northeastern States of
29 India. The Scientific World Journal 2015:1-7.

30 Bowman D.D. & Atkins C.E. 2009. Heartworm biology, treatment, and control. Vet Clin
31 North Am Small Anim Pract 39(6):1127-1158.

32 Bowman D.D., Liu Y., McMahan C.S., Nordone S.K., Yabsley M.J. & Lund R.B. 2016.
33 Forecasting United States heartworm *Dirofilaria immitis* prevalence in dogs. Parasites &
34 Vectors 9:540.

35 Brito A.C., Vila-Nova M.C., Rocha D.A.M., Costa L.G., Almeida W.A.P., Viana L.S.,
36 Lopes Jr. R.R., Fontes G., Rocha E.M.M. & Regis, L. 2001. Prevalência da filariose canina
37 causada por *Dirofilaria immitis* e *Dipetalonema reconditum* em Maceió, Alagoas, Brasil. Cad.
38 Saúde Pública 17(6):1497-1504.

39 Brown H.E., Harrington L.C., Kaufman P.E., McKay T., Bowman D.D., Nelson C.T.,
40 Wang D. & Lund, R. 2012. Key factors influencing canine heartworm, *Dirofilaria immitis*, in
41 the United States. Parasites Vectors 30(5):245.

42 Capelli G., Regalbono A.F., Simonato G., Cassini R., Cazzin S., Cancrini G., Otranto D.
43 & Pietrobello, M. 2013. Risk of canine and human exposure to *Dirofilaria immitis* infected
44 mosquitoes in endemic areas of Italy. Parasites & Vectors 6:60.

45 Colwell D.D., Dantas-Torres F., Otranto D., 2011. Vector-borne parasitic zoonoses:
46 emerging scenarios and new perspectives. Vet. Parasitol. 182:12-21.

47 Dantas-Torres F. 2008. Canine vector-borne diseases in Brazil. Parasites & Vectors 1:25.

- 1 Dantas-Torres F. & Otranto D. 2013. *Dirofilariosis* in the Americas: a more virulent
2 *Dirofilaria immitis*?. *Parasites & Vectors*, 6(288):1-9.
- 3 Ferreira D.R.A., Barbosa T.S., Castro A.U., Mariz M.A.S., Soares J.G., Teixeira D.I.A.
4 & Athayde A.C.R. 2004. Prevalência de infecções por filariídeos em cães de microrregiões de
5 Natal, Brasil. *Ciência Animal* 14(2):111-115.
- 6 Furtado A.P., Do Carmo E.S., Giese E.G., Vallinoto A.C.R., Lanfredi R.M. & Santos J.N.
7 2009. Detection of dog filariasis in Marajo Island, Brazil by classical and molecular methods.
8 *Parasitol. Res.* 105:1509–1515.
- 9 Genchi C., Rinaldi L., Mortarino M., Genchi M. & Cringoli G. 2009. Climate and
10 *Dirofilaria* infection in Europe. *Veterinary Parasitology* 163:286–292.
- 11 Hosmer D.W. & Lemeshow S. 2000. *Applied logistic regression*. John Wiley e Sons,
12 New York. 392p.
- 13 Kamyngkird K., Junsiri W., Chimnoi W., Kengradomkij C., Saengow S., Sangchuto K.,
14 Kajeerum W., Pangjai D., Nimsuphan B., Inpankeaw T. & Jittapalaponga S. 2017. Prevalence
15 and risk factors associated with *Dirofilaria immitis* infection in dogs and cats in Songkhla and
16 Satun provinces, Thailand. *Agriculture and Natural Resources* 51:299-302.
- 17 Labarthe N.V., Paiva J.P., Reifur L., Mendes-De-Almeida F., Merlo A., Carvalho Pinto
18 C.J., Juliani P.S., De Almeida M.A. & Alves L.C. 2014. Updated canine infection rates for
19 *Dirofilaria immitis* in areas of Brazil previously identified as having a high incidence of
20 heartworm-infected dogs. *Parasit Vectors*. 7:493.
- 21 Labarthe N. & Guerrero J. 2005. Epidemiology of heartworm: what is happening in South
22 America and Mexico? *Vet Parasitol* 133(2):149-156.
- 23 Larsson M.H.M.A. 2015. *Dirofilariose canina*. In: Jericó M.M., Kogika M.M. & Andrade
24 Neto J.P. *Tratado de medicina interna de cães e gatos*. Editora Roca, Rio de Janeiro. p.1215-
25 1218.
- 26 Little S.E., Raymond M.R., Thomas J.E., Gruntmeir J., Hostetler J.A., Meinkoth J.H. &
27 Blagburn B.L. 2014. Heat treatment prior to testing allows detection of antigen of *Dirofilaria*
28 *immitis* in feline serum. *Parasites Vectors* 7:1.
- 29 Montoya-Alonso J. A., Mellado I., Carretón E., Cabrera-Pedrero E. D., Morchón R. &
30 Simón F. 2010. Canine dirofilariosis caused by *Dirofilaria immitis* is a risk factor for the human
31 population on the island of Gran Canaria, Canary Islands, Spain. *Parasitology Research*
32 107(5):1265-1269.
- 33 Nelson C.T. *Dirofilariose*. 2015. In: Greene C.E. *Doenças infecciosas em cães e gatos*. 4.
34 ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. p.1882-1903.
- 35 Newton N.L. & Wright W.H. 1956. The occurrence of a dog filarid other than *Dirofilaria*
36 *immitis* in the United States. *Journal Parasitology* 42(1):2546-2586.
- 37 Nguyen C., Koh W.L., Casteriano A., Beijerink N., Godfrey C., Brown G., Emery D. &
38 Šlapeta J. 2016. Mosquito-borne heartworm *Dirofilaria immitis* in dogs from Australia.
39 *Parasites & Vectors* 7(9):535.
- 40 Ogawa G.M. 2013. Prevalência de *Dirofilaria immitis* (Leyd, 1856) em cães e sua
41 ocorrência em mosquitos (diptera, culicidae) na cidade de Porto Velho, Rondônia, Brasil. Tese
42 de Doutorado. Disponível em: < https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42135/tde-20032014-150702/publico/GuilhermeMaerschnerOgawa_Doutorado_I_C.pdf> Acesso em 12
43 out. 2018.
- 44 Peel M.C., Finlayson B.L., McMahon T.A. 2007. Updated world map of the Köppen-
45 Geiger climate classification. *Hydrol. Earth Syst. Sci.*, 11(5):1633–1644.
- 46 Ramos R.A.N., Rêgo A.G.O., Firmino E.D.F., Ramos C.A.N., Carvalho G.A., Dantas-
47 Torres F., Otranto D. & Alves L.C. 2016. Filarioids infecting dogs in northeastern Brazil.
48 *Veterinary Parasitology* 226:26-29.
- 49

1 Reifur L., Thomaz-Soccol V. & Montiani-Ferreira F. 2004. Epidemiological aspects of
2 filariosis in dogs on the coast of Paraná state, Brazil: with emphasis on *Dirofilaria immitis*.
3 Veterinary Parasitology 122(4):273–286.

4 Silva P.L., Braga D.A., Nascimento Y.S., Campos B.L.S., Santos J.P. & Lima, V.F. 2017.
5 Frequência de filarídeos sanguíneos em cães do estado de Sergipe, Nordeste do Brasil. 38º
6 Congresso Brasileiro da Anclivepa. Recife, PE.

7 Silva R.C. & Langoni H. 2009. Dirofilariose. Zoonose emergente negligenciada. Ciência
8 Rural 39(5):1614-1623.

9 Simón F., Siles-Lucas M.; Morchón R., González-Miguel J., Mellado I., Carretón E. &
10 Montoya-Alonso J.A. 2012. Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic
11 mosaic. Clinical Microbiology Reviews 25(3):507–544.

12 Tarello, W. 2001. Importance in the dog of concentration tests for the diagnosis of
13 heartworm disease in non-endemic areas. Vet On-Line 2, Disponível em:
14 <<http://www.priory.com/vet/cardiworm.htm>>. Acesso em 11 jan. 2019

15 Thrusfield M. 2007. Veterinary Epidemiology. 3rd ed. Blackwell Science, Oxford. 610p.

16 Traversa D., Aste G., Milillo P., Capelli G., Pampurini F., Tunesi C., Santori D., Paoletti
17 B. & Boari, A. 2010. Autochthonous foci of canine and feline infections by *Dirofilaria immitis*
18 and *Dirofilaria repens* in central Italy. Veterinary Parasitology 169:128–132.

19 Vezzani D., Carbajo A.E., Fontanarrosa M.F., Scodellaro C.F., Basabe J., Cangiano G. &
20 Eiras D.F. 2011. Epidemiology of canine heartworm in its southern distribution limit in South
21 America: Risk factors, inter-annual trend and spatial patterns. Veterinary Parasitology
22 176:240–249.

23 Vezzani D., Fontanarrosa M.F. & Eiras D.F. 2008. Are antigen test kits efficient for
24 detecting heartworm-infected dogs at the southern distribution limit of the parasite in South
25 America? Preliminary results. Research Veterinary Science 85:113-115.

26 Vidal I.F. 2014. Dirofilariose canina no litoral da Paraíba. Tese de Doutorado. Disponível
27 em: <http://www.cstr.ufcg.edu.br/ppgm/dissertacoes/teses/tese_2014/ivana.pdf> Acesso em
28 11 jun. 2017.

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

32 Yildirim A., Ica A., Atalay O., Duzlu O. & Inci A. 2007. Prevalence and epidemiological
33 aspects of *Dirofilaria immitis* in dogs from Kayseri Province, Turkey. Res. Vet. Sci. 82:358–
34 363.

35 Youn H., Ra J.C., Kim B.K., Lim Y.S., Kim K.H. & Lee K.E. 2012. Studies on the anti-
36 parasitic efficacy and safety of ivermectin and pyrantel pamoate compound against *Dirofilaria*
37 *immitis* in dogs. Korean Journal Veterinary Research 52(1):53-56.

38 McCall J.W., Genchi C., Kramer L.H., Guerrero J. & Venco L. 2008. Heartworm
39 disease in animals and humans. Advances in parasitology 66:193-285.

40 Mendes R.S., Gurjão T.A., Oliveira L.M., Santana V.L, Tafuri W.L., Santos J.R.S.,
41 Dantas A.F.M. & Souza A.P. 2014. Miocardite crônica em um cão naturalmente infectado com
42 *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*: aspectos clínicos e patológicos. Arq. Bras. Med.
43 Vet. Zootec. 66(1):79-84.

44

45

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22

4 CAPÍTULO II

**Presença de *Leishmania* sp. e *Dirofilaria immitis* em Tumor Venéreo Transmissível
Canino cutâneo – Relato de caso**

Manuscrito que será submetido à revista
Acta Scientiae Veterinariae, ISSN 1679-
9216, Qualis B1.

1 **Presença de *Leishmania* sp. e *Dirofilaria immitis* em Tumor Venéreo Transmissível**
2 **Canino cutâneo**

3
4 Ramon Tadeu Galvão Alves Rodrigues¹, Olivia Maria Moreira Borges¹, Alinne Kátia
5 Fernandes Pereira Dantas², Leonardo Mendes Tôrres², Rossandra dos Santos Lucena², Almir
6 Pereira de Souza¹

7
8 ¹Programa de Pós-Graduação em Ciência e Saúde Animal (PPGCSA), Universidade Federal de
9 Campina Grande (UFCG), Campus de Patos, Paraíba, Brasil.

10 ²Centro Médico Veterinário Dr. Leonardo Tôrres, Patos, Paraíba, Brasil. CORRESPONDENCE:
11 Ramon Tadeu G. Alves Rodrigues [ramon.tgar@hotmail.com - TEL.: +55 (84) 998979829]. Av.
12 Universitária s/n, Bairro Sta Cecília, Patos, PB, CEP 58708-110, Brasil.

13
14 **4.1 ABSTRACT**

15
16 **Background:** Canine Transmissible Venereal Tumor (CTVT) is a neoplasm transmitted by
17 implantation of its cells into genital and extragenital organs, while Heartworm and Visceral
18 Leishmaniasis are zoonosis transmitted by hematophagous insects that are often
19 underdiagnosed in asymptomatic animals. Coinfection by the agents of these parasitosis is well
20 documented, however, the association of both diseases with the CTVT is still unusual. Thus, it
21 was aimed to report a case of incidental identification of microfilariae of *D. immitis* and
22 amastigotes forms of *Leishmania* sp. in cutaneous CTVT by cytology in an asymptomatic dog
23 for the parasitosis.

24 **Case:** A six-year-old, male, mongrel, sexually intact dog from the city of Patos-PB was
25 presented with a cutaneous tumor circumscribed lesion in a region adjacent to the right
26 olecranon, with an ulcerated surface of reddish color, having areas of necrosis inside and larvae
27 (myiasis), draining bloody secretion. The material was collected for cytological analysis, which
28 proved to be Canine Transmissible Venereal Tumor (CTVT) with the presence of amastigote
29 forms of *Leishmania* sp. and microfilariae of *D. immitis* among neoplastic cells. Blood count,
30 serum urea, creatinine and albumin, ALT, AST, FA, CK, Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺, CK-MB, cTnI, Snap
31 4Dx Plus (Idexx[®]), Snap Leishmania (Idexx[®]), and Knott's test were performed, plus chest
32 radiography, blood pressure measurements and electrocardiogram (ECG). The alterations found
33 corresponded to normochromic normocytic anemia, thrombocytopenia, hypoalbuminemia,
34 microfilariae in the Knott test, increase of CK, CK-MB and cTnI, positivity for *Ehrlichia* sp.,

1 *Anaplasma* sp., *Leishmania* sp. and *Dirofilaria immitis*. Furthermore cardiomegaly on
2 radiographs and sinus arrhythmia associated with atrioventricular block (AVB) of the first
3 degree on the ECG. Euthanasia was performed after necropsy, in which adult worms were
4 observed in the right heart chambers.

5 **Discussion:** The coexistence of neoplastic diseases and infectious microorganisms is often
6 detected only incidentally in asymptomatic animals, and complementary tests are important
7 tools to support clinical suspicions, as was observed in the present case. The fact that the animal
8 is not neutered, be in full sexual activity and have unrestricted life habit, favored his
9 involvement by CTVT due to greater contact with other whole canines. Coinfection by
10 *Dirofilaria* sp. and *Leishmania* sp., identified in this case, has already been confirmed in several
11 countries, suggesting the presence of distinct vectors in the same geographical area and the
12 imminent exposure of humans to these agents. Despite the studies evidencing the systemic
13 infection by the two parasites, there are no reports of mutual parasitism by the pathogens
14 mentioned in canine neoplasias, especially in the cutaneous extragenital form of the CTVT,
15 making the present case uncommon. The cytological examination was fundamental not only to
16 show that the cutaneous lesion was a CTVT, but also to have evidenced the parasites
17 *Leishmania* sp. and *Dirofilaria immitis*, whose infections remained hidden. The changes present
18 in hematology are commonly present in the diseases diagnosed in this case, and elevation of
19 CK, CK-MB and cTnI denote damage to cardiomyocytes due to the action of both parasites.
20 Cardiomegaly on radiographs and 1st degree AVB on the ECG also correspond to secondary
21 changes in the presence of worms in the animal's cardiovascular system. Thus, the presence of
22 a dog autochthonously infected by parasites with a zoonotic potential reveals the susceptibility
23 of other animals and humans in the region to infections.

24 **Keywords:** parasitic disease, citology, cardiology, dogs.

26 4.2 INTRODUÇÃO

28 O Tumor Venéreo Transmissível Canino (TVTc) é uma neoplasia contagiosa
29 transmitida por implantação das células neoplásicas nos órgãos genitais e, menos
30 frequentemente, em sítios extragenitais durante o coito ou por meio do ato de lambar, coçar,
31 morder ou cheirar áreas afetadas pelo tumor [16].

32 A dirofilariose canina, também conhecida como “doença do verme do coração”
33 caracteriza-se por ser uma parasitose causada pelo nematódeo *Dirofilaria immitis*, cuja

1 transmissão se dá por meio de mosquitos hematófagos e tem o cão como hospedeiro definitivo
2 [25,37].

3 Outra importante doença parasitária refere-se à leishmaniose visceral canina, causada
4 pelo protozoário *Leishmania infantum* e transmitida pelos dípteros *Lutzomyia longipalpis* e
5 *Lutzomyia cruzi*, conhecidos como flebotomíneos [20].

6 Essas doenças costumam ser subdiagnosticadas em algumas regiões pelo fato de que
7 muitos animais portadores da infecção não exibem sinais clínicos ou alterações nos parâmetros
8 laboratoriais. Entretanto, alguns indivíduos eventualmente desenvolvem doença clínica, a qual
9 pode envolver até quadros sistêmicos mais graves [12,38].

10 A detecção de formas amastigotas de *Leishmania* sp. é frequentemente reportada nos
11 mais diversos tecidos caninos, incluindo em amostras de TVTc genital [9,22], ocular [29],
12 cutâneo [2] e disseminado por todo o corpo [42].

13 Casos de identificação de *Dirofilaria* sp. e seus estágios larvais em locais atípicos, como
14 olhos [21], cérebro, testículos [17], pulmão [26] e tecido subcutâneo [13,40] são documentados
15 em animais e seres humanos. Além disso, existem descrições em cães da migração errática das
16 filárias imaturas em neoplasias como tricoblastoma, mastocitoma [15], fibrolipoma [14] e
17 tumores mamários [7], sendo que ainda não foi documentada a detecção de microfilárias em
18 apresentação tegumentar do TVTc.

19 Assim, objetivou-se com este estudo relatar um caso de identificação incidental de
20 microfilárias de *D. immitis* e formas amastigotas de *Leishmania* sp. em TVTc cutâneo por meio
21 de citologia em cão assintomático para as parasitoses.

22

23 **4.3 RELATO DE CASO**

24

25 Um canino, macho, sem raça definida, sexualmente íntegro, com aproximadamente seis
26 anos de idade, pesando 21 kg, oriundo das ruas adjacentes ao abatedouro público do município
27 de Patos-PB, foi resgatado e encaminhado para atendimento no Centro Médico Veterinário Dr.
28 Leonardo Tôrres, situado na mesma cidade. O animal era alimentado por populares da área
29 desde jovem, não havendo histórico de deslocamento para outras regiões. A queixa principal
30 correspondia a um aumento de volume na região de cotovelo direito com presença de miíase e
31 drenando secreção sanguinolenta, cujo período de evolução correspondia a duas semanas.
32 Ainda, foi relatado que a lesão havia sido tratada com pomadas antibióticas sem sucesso.

33 O animal foi submetido à criteriosa avaliação clínica geral, revelando ao exame físico
34 um cão ativo, em estação, estado nutricional ideal, mucosas hipocoradas e hipertrofia de

1 linfonodos cervicais superficiais. Verificou-se normalidade nos parâmetros fisiológicos,
2 entretanto, havia uma lesão tumoral cutânea circunscrita (6cm x 7cm x 9cm) em região
3 adjacente ao olécrano direito aderida a planos profundos, com superfície ulcerada de coloração
4 avermelhada, bordas regulares, possuindo áreas de necrose em seu interior e larvas (mííase),
5 drenando secreção sanguinolenta (Figura 1). Para melhor avaliar a origem deste tumor,
6 procedeu-se a coleta de material para análise citológica. Para tanto, realizou-se punção
7 aspirativa com agulha fina (PAAF) e capilaridade de três pontos distintos da lesão, livrando a
8 região ulcerada, conforme descrito para a técnica citológica em alterações com esta
9 configuração [35]. Em seguida, foram realizadas a retirada das larvas e a limpeza da lesão com
10 clorexidina 2% e solução fisiológica (NaCl 0,9%).

11

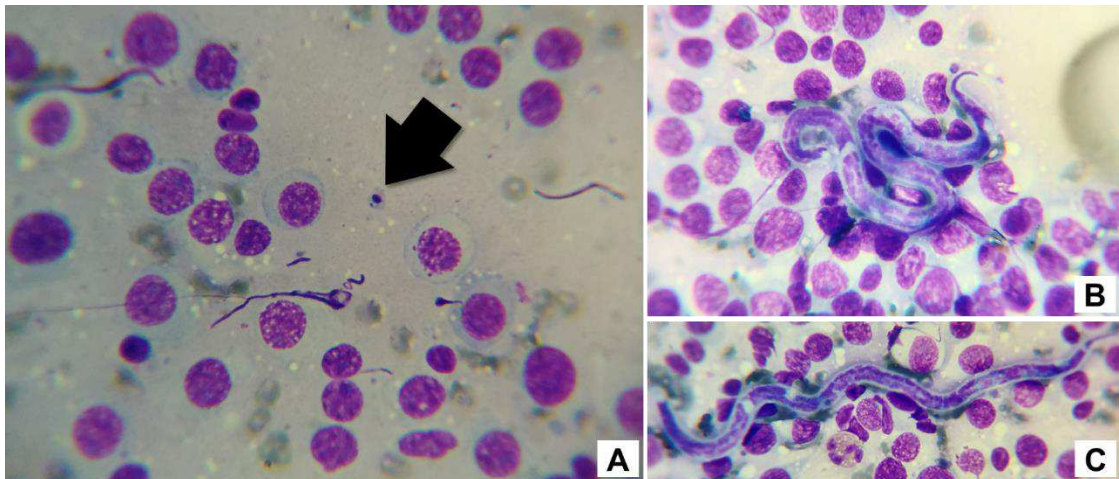


12
13
14
15
16
17

Figura 1 - Tumor ulcerado drenando secreção sanguinolenta em cão acometido por TVTc. A) Vista geral da lesão em região adjacente ao olécrano direito. B) Imagem aproximada da lesão evidenciando focos de necrose e larvas de mosca. Fonte: Olivia M. M. Borges (2018).

18
19
20
21
22
23
24
25
26

No exame citológico observou-se uma intensa celularidade, imersa em fundo de lâmina amorfo e basofílico contendo inúmeras hemácias. O conteúdo celular caracterizou-se por células redondas, apresentando citoplasma amplo e vacuolar, núcleo, em sua maioria excêntrico, com cromatina grosseira e discretamente rendilhada, e nucléolos evidentes e por vezes múltiplos. Em meio ao conteúdo celular foram observadas formas amastigotas de *Leishmania* sp. (Figura 2A), bem como microfilárias (Figura 2B e C). Estes achados citológicos foram compatíveis com Tumor Venéreo Transmissível Canino (TVTc) subtipo plasmocitoide associado à presença de agentes infecciosos (*Leishmania* sp. e Microfilárias).



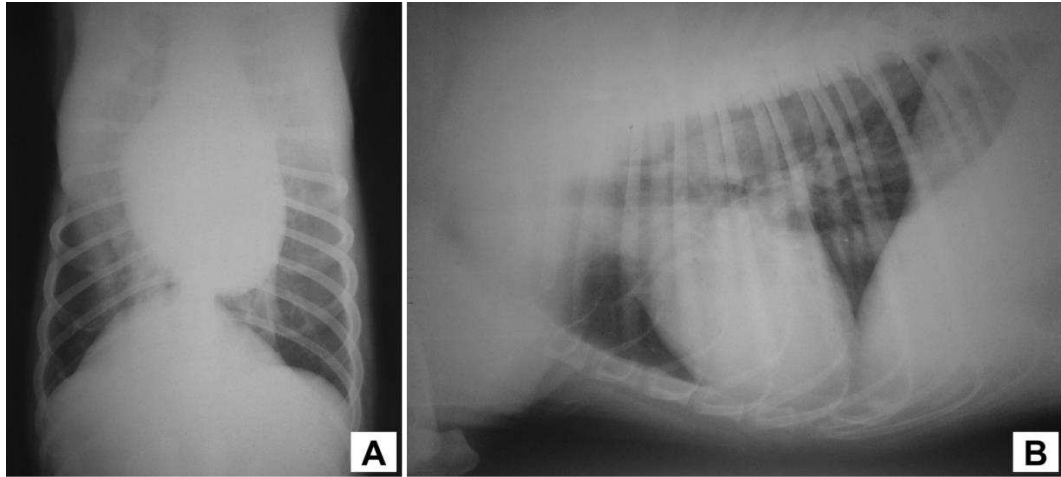
1
2 **Figura 2** – Achados citológicos de TVTc subtipo plasmocitoide em um cão com tumor em
3 região de olécrano direito. A) Forma amastigota de *Leishmania* sp. (seta preta) livre em meio a
4 células de aspecto arredondado, com citoplasma amplo, raramente vacuolizado e pouco distinto,
5 núcleo centralizado a excêntrico, com cromatina frouxa e discretamente rendilhada, e nucléolos
6 múltiplos e evidentes. B e C) Microfilárias dispostas em meio a intensa quantidade de células
7 neoplásicas de aspecto plasmocitoide compatível com TVTc. Fonte: Olivia M. M. Borges
8 (2018).
9

10 À luz dos achados citológicos coletou-se amostra sanguínea para realização de
11 hemograma, dosagem sérica de ureia, creatinina, albumina, ALT, AST, FA, CK, Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺,
12 CK-MB, cTnI, Snap 4Dx Plus (Idexx[®]), Snap Leishmania (Idexx[®]) e teste de Knott. Além
13 disso, foram realizadas radiografias torácicas simples nas projeções latero-lateral e ventro-
14 dorsal; aferição da pressão arterial (PA) sistólica (PAS), média (PAM) e diastólica (PAD) pelo
15 método oscilométrico (DeltaMap[®]); e eletrocardiografia com eletrocardiógrafo DL660
16 (DeltaLife[®]) objetivando-se o estadiamento do comprometimento do sistema cardiovascular do
17 paciente.

18 O hemograma exibiu anemia normocítica normocrômica e trombocitopenia (119
19 mil/ μ L), associadas à presença de microfilarías identificadas na pesquisa parasitológica de
20 Knott. Adicionalmente, alterações na bioquímica sérica foram observadas nos valores de
21 albumina: 1,75g/dL (2,6 – 3,3g/dL); CK: 52,7 U/L (1,15 – 28,4 U/L); CK-MB: 127 U/L (11 -
22 38,8 U/L); e cTnI: 0,12ng/mL (0 - 0,07ng/mL), as demais variáveis laboratoriais encontravam-
23 se dentro do intervalo de referência para a espécie. Os testes rápidos Snap 4Dx Plus e Snap
24 Leishmania resultaram positividade para *Anaplasma* sp., *Ehrlichia* sp., *Dirofilaria immitis* e
25 *Leishmania* sp.

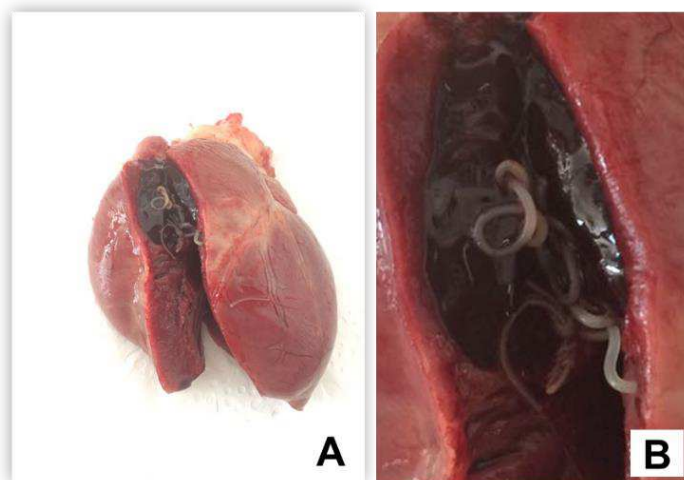
26 As radiografias torácicas exibiram campos pulmonares com radiopacidade aumentada e
27 evidenciação do padrão bronquial associado a remodelamento difuso da silhueta cardíaca com
28 apresentação arredondada e em maior contato com o esterno (Figura 3). Os valores de PAS,

1 PAM e PAD foram respectivamente 161mmHg, 110mmHg e 82mmHg. Já o exame
2 eletrocardiográfico demonstrou arritmia sinusal respiratória e bloqueio atrioventricular de 1º
3 grau.



4 **Figura 3** – Radiografia torácica de cão com dirofilariose, diagnosticada após achado
5 incidental de microfílarias em neoplasia cutânea, exibindo cardiomegalia e aumento da
6 radiopacidade pulmonar. A) Projeção ventro-dorsal. B) Projeção latero-lateral. Fonte:
7 Centro Médico Veterinário Dr. Leonardo Tôrres (2018).
8
9

10 Após o estabelecimento do diagnóstico das doenças e tendo em vista a impossibilidade
11 do tratamento da leishmaniose, por se tratar de um animal de rua, a tutora optou pela realização
12 de eutanásia, a qual foi procedida seguindo os princípios bioéticos e de bem-estar animal
13 preconizados pela legislação vigente. A necropsia foi realizada imediatamente após a eutanásia,
14 durante a qual foi observada a presença de vermes adultos no ventrículo direito (Figura 4). Os
15 demais órgãos não apresentaram alterações dignas de nota.



16 **Figura 4** – Coração de cão com dirofilariose,
17 diagnosticada após achado incidental de microfílarias em
18 neoplasia cutânea. A) Presença de vermes adultos em
19 câmaras cardíacas direitas. B) Visualização dos vermes em
20 maior destaque. Fonte: Olivia M. M. Borges (2018).
21

1 4.4 DISCUSSÃO

2
3 A apresentação concomitante de moléstias neoplásicas e micro-organismos infecciosos
4 já é conhecida [4,19], sendo muitas vezes discutida a possibilidade de um predispor o
5 desenvolvimento do outro. A coexistência das duas entidades mórbidas frequentemente só é
6 detectada de maneira incidental, essencialmente naqueles animais assintomáticos. Portanto, os
7 exames complementares figuram como importantes ferramentas de suporte às suspeitas
8 clínicas, como foi observado no presente caso.

9 O fato de o animal em discussão não ser castrado, estar em plena atividade sexual e
10 possuir hábito de vida irrestrito, favoreceu o seu acometimento pelo TVTc, pois descreve-se
11 que 80% dos cães com a neoplasia situam-se na faixa etária de 2 a 8 anos, período de maior
12 desempenho sexual dessa espécie [16], e o livre acesso ao meio extradomiciliar permite maior
13 contato com outros caninos inteiros, aumentando-se potencialmente o risco de transmissão [39].

14 A área em que o animal vivia pode ter contribuído para a infecção pelos parasitas
15 *Dirofilaria immitis* e *Leishmania* sp., tendo em vista que o bairro é considerado de baixa renda
16 com condições higiênico-sanitárias precárias, somando-se o fato de haver um abatedouro
17 público apresentando intenso fluxo de animais e constante drenagem de resíduos biológicos ao
18 ar livre. Essas circunstâncias são classificadas como fatores de risco e corroboradas em estudo
19 [1], no qual os autores observaram maiores taxas de leishmaniose visceral em regiões com
20 condições inadequadas de saneamento básico, favorecendo o ciclo biológico dos vetores.

21 A coinfeção por *Dirofilaria* sp. e *Leishmania* sp., identificada no animal em discussão,
22 já tem sido estudada e confirmada em diversos países, como Grécia, com prevalência de 0,16%
23 [33]; Espanha, com 24,6% [41]; e Portugal com 1,1% de frequência reportada [8]. Estes achados
24 sugerem a presença de vetores distintos em uma mesma área geográfica e são alarmantes do
25 ponto de vista de saúde pública, considerando a iminente exposição de seres humanos aos
26 referidos agentes, principalmente no semiárido paraibano, o qual, até então, não é fonte
27 epidemiológica para a dirofilariose.

28 Apesar dos estudos evidenciarem a infecção sistêmica pelos dois parasitas, não existem
29 relatos de parasitismo mútuo pelos patógenos citados em neoplasias cutâneas em cães,
30 especialmente na forma extragenital cutânea do TVTc, havendo descrições nesta malignidade
31 neoplásica somente da detecção de formas amastigotas de *Leishmania* sp. [2,11,22]. Ademais,
32 trabalhos relatando microfilárias parasitando lesões neoplásicas em animais são escassos,
33 sabendo-se da existência dessa comprovação em tricoblastoma, mastocitoma, fibrolipoma [14]
34 e tumores mamários [7], com ausência da associação com o TVTc.

1 A infecção do hospedeiro do presente relato por *Dirofilaria immitis* provavelmente
2 ocorreu antes do surgimento do TVTc, tendo em vista que havia vermes adultos nas câmaras
3 cardíacas associados à microfilaremia e o seu ciclo completo ter duração de 6 a 9 meses [38],
4 enquanto as lesões neoplásicas haviam surgido 2 semanas previamente ao atendimento.
5 Portanto, a presença de microfilárias no exame citológico pode ter ocorrido por sua migração
6 circulatória errática através do tumor ou pelo fato de o TVTc ser uma neoplasia extremamente
7 friável e hemorrágica [16], favorecendo a deposição das formas parasitárias imaturas no tecido
8 neoplásico.

9 Já a infecção por *Leishmania* sp. pode ter se dado tanto antes (pela simples presença dos
10 vetores na área de convivência do cão), como após o aparecimento das lesões cutâneas do
11 TVTc, considerando que a secreção sanguinolenta da neoplasia possa, hipoteticamente, ter
12 atraído os flebotomíneos e estes terem inoculado as formas infectantes do parasita, sofrendo,
13 em seguida, transformação para formas amastigotas evidenciadas na citologia [37].

14 Os sinais clínicos exibidos por animais acometidos por dirofilariose incluem mais
15 frequentemente emagrecimento, intolerância ao exercício, tosse, letargia, dispneia, síncope e
16 distensão abdominal [24], porém, nenhuma dessas manifestações clínicas foi evidente no
17 canino em discussão, o que postergou o diagnóstico. Todavia, é comum que muitos animais
18 infectados permaneçam longos períodos assintomáticos devido a capacidade do parasita de
19 modular o sistema imunológico do hospedeiro [27]. Soma-se a isso a possibilidade de a
20 imunossupressão vigente na leishmaniose [20] ter atenuado a resposta imune contra os
21 filarídeos. Além disso, o surgimento e a severidade dos sinais clínicos dependem do tempo de
22 infecção, da quantidade de filárias e da resposta individual do hospedeiro ao parasita [6,38].

23 O exame citológico realizado no canino relatado foi de fundamental importância não
24 apenas para se evidenciar que a lesão cutânea exibida tratava-se de um TVTc, mas também por
25 ter evidenciado os parasitas *Leishmania* sp. e *Dirofilaria immitis*. A literatura corrobora a
26 importância da citologia por PAAF na detecção de agentes em lesões diversas sem suspeita
27 clínica das enfermidades por eles causadas [23,31,34,36]. Nesse contexto, pesquisadores [40]
28 igualmente encontraram, de forma incidental, microfilárias de *D. immitis* em análise citológica
29 de um aumento de volume na região do antebraço de um cão sem qualquer sintomatologia
30 relacionada à parasitose, enfatizando a importância de sempre utilizar esta ferramenta
31 diagnóstica na rotina clínica de animais com lesões tumorais.

32 No que se refere aos resultados dos demais exames complementares a anemia e a
33 trombocitopenia, observadas na hematologia deste caso, estão comumente presentes nas
34 doenças diagnosticadas, assim como ocorreu em um estudo [29] no qual um cão com TVTc

1 ocular também apresentou reatividade para *Dirofilaria immitis*, *Anaplasma* sp. e *Ehrlichia* sp.
2 nos testes sorológicos. Ademais, em relato de um cão coinfectado por *D. immitis* e *D. repens*
3 [30], também foram encontradas anemia, trombocitopenia e hipoalbuminemia entre os dados
4 laboratoriais analisados. A literatura ainda menciona a presença de elevada atividade sérica das
5 enzimas hepáticas, azotemia e hiperbilirrubinemia [5,32], divergindo do presente caso.

6 Os valores de CK (52,7 U/L) e CK-MB (127 U/L) estavam acima do limite de referência
7 para cães e foram semelhantes aos encontrados em caninos cardiopatas sintomáticos [3] com
8 média de 60,36 U/L para CK e de 187,46 U/L para CK-MB. Adicionalmente, constatou-se
9 também, no animal em discussão, elevação nos valores de Troponina I (cTnI) conforme obtido
10 em cães com dirofilariose [10], evidenciando, junto ao aumento de CK e CK-MB, dano cardíaco
11 nesses indivíduos, essencialmente quando há microfilaremia. Entretanto, é válido salientar que
12 a infecção por *Leishmania* sp. pode ter contribuído para a elevação da cTnI uma vez que a
13 associação entre esta alteração e a leishmaniose já foi comprovada [28].

14 As alterações no padrão pulmonar e nas dimensões cardíacas observadas nas
15 radiografias torácicas foram concordantes com um estudo [43], no qual também foram
16 encontrados outros achados compatíveis com dirofilariose, representados pelo alargamento das
17 artérias dos lobos pulmonares, tornando-as de aspecto tortuoso, e dilatação da artéria pulmonar
18 principal.

19 Já os achados eletrocardiográficos de arritmia sinusal respiratória e bloqueio
20 atrioventricular (BAV) de 1º grau observados no presente caso foram igualmente constatados
21 em um cão microfilarêmico, porém com diversos distúrbios eletrolíticos [32]. A arritmia sinusal
22 não é considerada patológica na espécie canina e decorre da interferência no tônus vagal durante
23 o ciclo inspiração-expiração, enquanto o BAV de 1º grau pode surgir como consequência de
24 fibrose do nodo AV, impulso vagal, desequilíbrio eletrolítico ou uso de drogas cardioativas
25 [18].

26 As formas adultas do nematódeo observadas no coração direito do animal durante a
27 necropsia normalmente ocorre quando há uma alta carga parasitária fazendo com que os vermes
28 se alojem além dos limites anatômicos das artérias pulmonares, podendo causar obstrução
29 mecânica do fluxo sanguíneo e o desencadeamento da síndrome da veia cava, forma mais grave
30 da doença [24,32]. Contudo, o cão em discussão não exibia sinais compatíveis com essa
31 síndrome, fazendo com que a hipótese mais provável desse achado se sustente no fato de que
32 em cães necropsiados a presença de vermes adultos nas cavidades cardíacas seja mais usual
33 pela redução da pressão secundária à ausência de fluxo sanguíneo nas artérias pulmonares [6].

1 A eutanásia foi requerida por se tratar de um animal errante, não havendo
2 disponibilidade de condições adequadas para o tratamento das entidades mórbidas que o
3 acometiam e, somado a isso, o fato de ele estar coinfestado por agentes zoonóticos.

4 A presença de um cão duplamente infectado de forma autóctone por parasitas de
5 potencial zoonótico alerta para a presença de vetores contaminados na área residencial de uma
6 cidade com casos regulares de leishmaniose, mas não endêmica para dirofilariose, revelando
7 que outros animais e os próprios seres humanos estão suscetíveis às infecções. Além disso,
8 exames complementares, como a citologia, podem detectar doenças ocultas em animais
9 assintomáticos e assegurar o diagnóstico naqueles com sintomas característicos.

10
11
12 **Declaração de interesse.** Os autores relatam não haver conflitos de interesse. Os autores são
13 os únicos responsáveis pelo conteúdo e escrita do trabalho.

14 **REFERÊNCIAS**

- 15
16
17 1 **Abrantes T.R., Werneck G.L., Almeida A.S. & Figueiredo F.B. 2018.** Fatores
18 ambientais associados à ocorrência de leishmaniose visceral canina em uma área de recente
19 introdução da doença no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*.
20 34(1):1-12.
- 21 2 **Albanese F., Poli A., Millanta F. & Abramo F. 2002.** TVT Primary cutaneous
22 extragenital canine transmissible venereal tumour with Leishmania -laden neoplastic cells:
23 a further suggestion of histiocytic origin? *Veterinary Dermatology*. 13(1):243–246.
- 24 3 **Alves A.C., Sousa V.R.F., da Silva E.P., Néspoli P.E.B., da Silva F.G. & de Almeida**
25 **A.B.P.F. 2015.** Uso de biomarcadores CK-NAC, CK-MB e troponina i em cães com
26 doença cardíaca. *Archives of Veterinary Science*. 20(2):103-108.
- 27 4 **Bhuyan P., Harankhedkar S., Burma S., Sahu S.S., Mahapatra S. & Pattnaik K. 2014.**
28 Microfilaria with neoplasm – a chance diagnosis by fine needle aspiration cytology. *Case*
29 *Reports in Clinical Pathology*. 1(2):125-127.
- 30 5 **Borthakur S. K., Deka D.K., Islam S., Sarma D.K. & Sarmah P.C. 2015.** Prevalence and
31 Molecular Epidemiological Data on *Dirofilaria immitis* in Dogs from Northeastern States of
32 India. *The ScientificWorld Journal*. 2015(1):1-7.
- 33 6 **Bowman D.D. & Atkins C.E. 2009.** Heartworm biology, treatment, and control. *The*
34 *Veterinary Clinics of North America Small Animal Practice*.39(6):1127-1158.

- 1 7 **Burgess H.J. & Wagner B. 2016.** Identification of microfilaria in a mammary mass
2 aspirate from a female dog. *The Canadian Veterinary Journal*. 57(1):374-376.
- 3 8 **Cardoso L., Mendão C. & Madeira de Carvalho L. 2012.** Prevalence of *Dirofilaria*
4 *immitis*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, *Anaplasma* spp. and *Leishmania*
5 *infantum* in apparently healthy and CVBD-suspect dogs in Portugal - a national serological
6 study. *Parasites & Vectors*, 5(1):62.
- 7 9 **Carreira V.S., Ferrari H.F., Langohr I.M., Mackenzie C., Montezzo L.C., Taira E.,**
8 **Floeter-Winter L.M. & Luvizotto M.C.R. 2014.** *Leishmania* sp. Amastigotes
9 Identification in Canine Transmissible Venereal Tumor. *Case Reports in Veterinary*
10 *Medicine*. 2014(1):1-4.
- 11 10 **Carretón E., Corbera J.A., Juste M.C, Morchón R., Simón F. & Montoya-Alonso J.A.**
12 **2011.** *Dirofilaria immitis* infection in dogs: Cardiopulmonary biomarker levels. *Veterinary*
13 *Parasitology*. 176(2011):313–316.
- 14 11 **Catone G., Marino G., Poglayen G., Gramiccia M., Ludovisi A. & Zanghì A. 2003.**
15 Canine transmissible venereal tumor parasitized by *Leishmania infantum*. *Veterinary*
16 *Research Communications*. 27(7):549-553.
- 17 12 **Dantas-Torres F. & Otranto, D. 2013.** *Dirofilaria immitis* in the Americas: a more virulent
18 *Dirofilaria immitis*?. *Parasites & Vectors*. 6(288):1-9.
- 19 13 **Falidas E., Gourgiotisa S., Ivopouloub O., Koutsogiannisc I., Oikonomoua C.,**
20 **Vlachosd K. & Villias C. 2016.** Human subcutaneous dirofilariasis caused by *Dirofilaria*
21 *immitis* in a Greek adult. *Journal of Infection and Public Health*. 9(1):102-104.
- 22 14 **Ferreira M.B., Fernandes K.S.B.R., Rodrigues R.T.G.A., Medeiros V.B., Pereira**
23 **R.H.M.A. & Filgueira K.D. 2017.** Ciclo errôneo da *Dirofilaria immitis* em fibrolipoma
24 canino. In: *38º Congresso Brasileiro da Anclivepa* (Recife, Brasil). p.1228.
- 25 15 **Filgueira K.D. 2016.** Microfilárias de *Dirofilaria immitis* em mastocitoma cutâneo canino.
26 In: *Encontro da ABROVET 2016* (Foz do Iguaçu, Brasil). p.16.
- 27 16 **Ganguly B., Das U. & Das A.K. 2013.** Canine transmissible venereal tumour: a review.
28 *Veterinary and Comparative Oncology*. 14(1):1-12.
- 29 17 **Genchi C., Kramer L.H. & Rivasi F. 2011.** *Dirofilaria immitis* infections in Europe. *Vector-*
30 *Borne and Zoonotic Diseases*. 11(1):1307-1317.
- 31 18 **Goodwin J. 2002.** Eletrocardiografia. In: Tilley L.P & Goodwin J. *Manual de Cardiologia*
32 *para Cães e Gatos*. 3. ed. São Paulo: Roca, p.39-66.
- 33 19 **Gupta S., Sodhani P., Jain S. & Kumar N. 2001.** *Microfilaria* in association with
34 neoplastic lesions: report of five cases. *Cytopathology*. 12(1):120-126.

- 1 20 **Hoffmann A.R., Navarro I.T.; Camargo Junior V.E., Caldart E.T., Breganó R.M. &**
2 **Pereira P.M. 2012.** Leishmania amazonensis em cão com quadro clínico de leishmaniose
3 visceral no Estado do Paraná, Brasil – relato de caso. *Semina: Ciências Agrárias*. 33(Suppl
4 2):3265-3270.
- 5 21 **Iddawela D., Ehambaram K. & Wickramasinghe S. 2015.** Human ocular dirofilariasis
6 due to *Dirofilaria repens* in Sri Lanka. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*.
7 8(12):1022–1026.
- 8 22 **Kegler K., Habierski A., Hahn K., Amarilla S.P., Seehusen F. & Baumgärtner W.**
9 **2013.** Vaginal Canine Transmissible Venereal Tumour Associated with Intra-tumoural
10 *Leishmania* spp. Amastigotes in an Asymptomatic Female Dog. *Journal of Comparative*
11 *Pathology*. 149(1):156-161.
- 12 23 **Kumar B., Karki S. & Yadava S.K. 2010.** Role of Fine Needle Aspiration Cytology in
13 Diagnosis of Filarial Infestation. *Diagnostic Cytopathology*. 39(1):8-12.
- 14 24 **Larsson M.H.M.A. 2015.** *Dirofilariose* canina. In: Jericó M.M., Kogika M.M. & Andrade
15 Neto J.P. Tratado de medicina interna de cães e gatos. Rio de Janeiro: Roca, p.1215-1218.
- 16 25 **Lee A.C.Y., Montgomery S.P., Theis J.H., Blagburn B.L. & Eberhard M.L. 2010.**
17 Public health issues concerning the widespread distribution of canine heartworm disease.
18 *Trends in Parasitology*. 26(4):168-173.
- 19 26 **Malik D., Amaraneni A., Singh S. & Roach R. 2016.** Man’s best friend: How humans
20 can develop *Dirofilaria immitis* infections *IDCases*. 4(1):43–45.
- 21 27 **McCall J.W., Genchi C., Kramer L.H., Guerrero J. & Venco L. 2008.**
22 Heartworm disease in animals and humans. *Advances in parasitology*. 66(1):193-285.
- 23 28 **Mendes R.S., Gurjão T.A., Oliveira L.M., Santana V.L, Tafuri W.L., Santos J.R.S.,**
24 **Dantas A.F.M. & Souza A.P. 2014.** Miocardite crônica em um cão naturalmente infectado
25 com *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*: aspectos clínicos e patológicos. Arquivo
26 Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia. 66(1):79-84.
- 27 29 **Milo J. & Snead E. 2014.** A case of ocular canine transmissible venereal tumor. *Canadian*
28 *Veterinary Journal*. 55(1):1245–1249.
- 29 30 **Mircea, M., Ionică A.M., Mircean V., Yörke A., Codea A.R., Tăbăran F.A., Taulescu**
30 **M. & Dumitrache M.O. 2017.** Clinical and pathological effects of *Dirofilaria repens* and
31 *Dirofilaria immitis* in a dog with a natural co-infection. *Parasitology International*.
32 66(1):331–334.

- 1 31 **Mondal S.K. 2010.** Incidental Detection of Filaria in Fine-Needle Aspirates: A Cytologic
2 Study of 14 Clinically Unsuspected Cases at Different Sites. *Diagnostic Cytopathology*.
3 40(4):292-296.
- 4 32 **Nelson C.T. 2015.** Dirofilariose. In: Greene C.E. *Doenças infecciosas em cães e gatos*. 4.
5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p.1882-1903.
- 6 33 **Ntais P.; Christodoulou V., Dokianakis E. & Antoniou A. 2016.** Leishmania infantum
7 and Dirofilaria immitis coinfection in dogs in Greece. *Parasitology Open*. 2(17):1-5.
- 8 34 **Pal S., Mondal S., Pradhan R., Bose K., Chakrabarti S. & Sikder M. 2018.** Cytological
9 findings of microfilariae in different sites: A retrospective review of 22 cases from
10 endemic region. *Tropical Parasitology*. 8(1):24-28.
- 11 35 **Raskin R.E. & Meyer D.J. 2011.** *Citologia Clínica de Cães e Gatos: atlas colorido e guia*
12 *de interpretação*. 2ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 472p.
- 13 36 **Rosolem M.C., Moroz L.R., Rodigheri S.M., Corrêa Neto U.J., Porto C.D. & Hanel**
14 **J.S. 2013.** Estudo retrospectivo de exames citológicos realizados em um Hospital
15 Veterinário Escola em um período de cinco anos. *Arquivo Brasileiro de Medicina*
16 *Veterinária e Zootecnia*. 65(3):735-741.
- 17 37 **Silva C.M.H.S & Winck C.A. 2018.** Leishmaniose visceral canina: Revisão de literatura.
18 *Revista da Universidade Vale do Rio Verde*. 16(1):1-12.
- 19 38 **Simón F., Siles-Lucas M.; Morchón R., González-Miguel J., Mellado I., Carretón E. &**
20 **Montoya-Alonso J.A. 2012.** Human and animal dirofilariasis: the emergence of a zoonotic
21 mosaic. *Clinical Microbiology Reviews*. 25(3):507–544.
- 22 39 **Strakova A. & Murchison E.P. 2014.** The changing global distribution and prevalence
23 of canine transmissible venereal tumour. *BMC Veterinary Research*. 10(168):1-10.
- 24 40 **Subapriya S., Vairamuthu S., Pazhanivel N., Shafiuza M., Gokulakrishnan M. &**
25 **Ali M.G.M. 2018.** Cytological identification of microfilaria in an aberrant location.
26 *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 7(6):1397-1399.
- 27 41 **Tabar M., Altet L., Martinez V. & Rour X. 2013.** Wolbachia, filariae and Leishmania
28 coinfection in dogs from a Mediterranean area. *Journal of Small Animal Practice*.
29 54(4):174-178.
- 30 42 **Trevizan J.T., Carreira J.T., Souza N.C., Carvalho I.R., Gomes P.B.C., Lima V.M.F.,**
31 **Orlandi C.M.B., Rozza D.B. & Koivisto M.B. 2012.** Disseminated Transmissible
32 Venereal Tumour Associated with Leishmaniasis in a Dog. *Reproduction in Domestic*
33 *Animals*. 47(Suppl. 6): 356–358.

- 1 43 **Tudor N., Ionita L., Tapaloaga D., Tudor P., Ionita C. & Vlagioiu C. 2014.**
- 2 Radiographic cardiopulmonary changes in dogs with heartworm disease. *Romanian*
- 3 *Biotechnological Letters*. 19(6):9918-9924.
- 4
- 5

1 **5 CONCLUSÃO GERAL**

2

3 Os resultados obtidos por meio deste estudo permitiram desmistificar a perspectiva de
4 que a dirofilariose canina é uma doença restrita a áreas litorâneas a partir da comprovação da
5 presença da infecção em cães nativos na cidade de Patos, sertão paraibano. Além disso, foi
6 possível verificar que os casos positivos se concentraram em áreas com más condições
7 ambientais sem o adequado emprego de métodos preventivos que evitariam a ocorrência da
8 parasitose.

9 Complementarmente, a coinfeção por dois agentes zoonóticos como *Dirofilaria*
10 *immitis* e *Leishmania* sp. em um cão assintomático denota a necessidade da realização de mais
11 estudos epidemiológicos com um maior número de animais testados visando se identificar os
12 vetores presentes na região e outros fatores de risco para a população humana e animal.
13 Também, evidencia a importância de exames complementares, como a citologia, no
14 estabelecimento do diagnóstico de doenças ocultas na rotina clínica.

15

- 1
- 2
- 3
- 4
- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10
- 11
- 12
- 13
- 14
- 15

ANEXOS

1 **NORMAS DO CAPÍTULO I**
2 **PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA**
3 *Brazilian Journal of Veterinary Research*

4
5 **INSTRUÇÕES AOS AUTORES**

6
7 Os artigos devem ser submetidos através do Sistema Scholar One, link
8 <<https://mc04.manuscriptcentral.com/pvb-scielo>>, com os arquivos de texto na versão mais
9 recente do Word e formatados de acordo com o modelo de apresentação disponíveis no ato de
10 submissão e no site da revista (www.pvb.com.br). Devem constituir-se de resultados de
11 pesquisa ainda não publicados e não considerados para publicação em outro periódico.

12
13 Apesar de não serem aceitas comunicações (Short communications) sob a forma de “Notas
14 Científicas”, não há limite mínimo do número de páginas do artigo enviado.

15 Embora sejam de responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos artigos, o
16 Conselho Editorial, com a assistência da Assessoria Científica, reserva-se o direito de sugerir
17 ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias. Os artigos submetidos são avaliados
18 pelos pares (peer review) e, aceitos para publicação, com dois pareceres favoráveis ou
19 rejeitados, por dois pareceres desfavoráveis

20
21 Os direitos autorais dos artigos aceitos para publicação permanecem com os autores.

22
23 NOTE: Em complementação aos recursos para edição da revista é cobrada taxa de publicação
24 (paper charge) no valor de R\$ 1.500,00 por artigo editorado, na ocasião do envio da
25 comunicação de aceite, ao autor para correspondência. Não há taxa de submissão e avaliação
26 de artigo.

27
28 1. Os artigos devem ser organizados em Título, ABSTRACT, RESUMO, INTRODUÇÃO,
29 MATERIAL E MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSSÃO, CONCLUSÕES,
30 Agradecimentos e REFERÊNCIAS:

31
32 a) o Título deve ser conciso e indicar o conteúdo do artigo; pormenores de identificação
33 científica devem ser colocados em MATERIAL E MÉTODOS.

34

- 1 b) O(s) Autor(es) deve(m) sistematicamente abreviar seus nomes quando compridos, mas
2 mantendo o primeiro nome e o último sobrenome por extenso, como por exemplo:
3 Paulo Fernando de Vargas Peixoto escreve Paulo V. Peixoto (inverso, Peixoto P.V.); Franklin
4 Riet-Correa Amaral escreve Franklin Riet-Correa (inverso, Riet-Correa F.). Os artigos devem
5 ter no máximo 8 (oito) autores;
6
- 7 c) o ABSTRACT deve ser uma versão do RESUMO em português, podendo ser mais
8 explicativo, seguido de “INDEX TERMS” que incluem palavras do título;
9
- 10 d) o RESUMO deve conter o que foi feito e estudado, indicando a metodologia e dando os mais
11 importantes resultados e conclusões, seguido dos “TERMOS DE INDEXAÇÃO” que incluem
12 palavras do título;
13
- 14 e) a INTRODUÇÃO deve ser breve, com citação bibliográfica específica sem que a mesma
15 assuma importância principal, e finalizar com a indicação do objetivo do artigo;
16
- 17 f) em MATERIAL E MÉTODOS devem ser reunidos os dados que permitam a repetição da
18 experimentação por outros pesquisadores. Em experimentos com animais, deve constar a
19 aprovação do projeto pela Comissão de Ética local;
20
- 21 g) em RESULTADOS deve ser feita a apresentação concisa dos dados obtidos. Quadros (em
22 vez de Tabelas) devem ser preparados sem dados supérfluos, apresentando, sempre que
23 indicado, médias de várias repetições. É conveniente expressar dados complexos, por gráficos
24 (=Figuras), ao invés de apresentá-los em Quadros extensos;
25
- 26 h) na DISCUSSÃO devem ser discutidos os resultados diante da literatura. Não convém
27 mencionar artigos em desenvolvimento ou planos futuros, de modo a evitar uma obrigação do
28 autor e da revista de publicá-los;
29
- 30 i) as CONCLUSÕES devem basear-se somente nos resultados apresentados;
31 j) Agradecimentos devem ser sucintos e não devem aparecer no texto ou em notas de rodapé;
32
- 33 k) a Lista de REFERÊNCIAS, que só incluirá a bibliografia citada no artigo e a que tenha
34 servido como fonte para consulta indireta, deverá ser ordenada alfabética e cronologicamente,

1 pelo sobrenome do primeiro autor, seguido dos demais autores (todos), em caixa alta e baixa,
2 do ano, do título da publicação citada, e, abreviado (por extenso em casos de dúvida), o nome
3 do periódico ou obra, usando sempre como exemplo os últimos fascículos da revista
4 (www.pvb.com.br).

5
6 2. Na elaboração do texto devem ser atendidas as seguintes normas:

7
8 a) A digitação deve ser na fonte Cambria, corpo 10, entrelinha simples; a página deve ser no
9 formato A4, com 2cm de margens (superior, inferior, esquerda e direita), o texto deve ser
10 corrido e não deve ser formatado em duas colunas, com as legendas das Figuras no final (logo
11 após as REFERÊNCIAS). As Figuras e os Quadros devem ter seus arquivos fornecidos
12 separados do texto. Os nomes científicos devem ser escritos por extenso no início de cada
13 capítulo.

14
15 b) a redação dos artigos deve ser concisa, com a linguagem, tanto quanto possível, no passado
16 e impessoal; no texto, os sinais de chamada para notas de rodapé serão números arábicos
17 colocados em sobrescrito após a palavra ou frase que motivou a nota. Essa numeração será
18 contínua por todo o artigo; as notas deverão ser lançadas ao pé da página em que estiver o
19 respectivo número de chamada, sem o uso do “Inserir nota de fim”, do Word. Todos os Quadros
20 e todas as Figuras têm que ser citados no texto. Estas citações serão feitas pelos respectivos
21 números e, sempre que possível, em ordem crescente. ABSTRACT e RESUMO serão escritos
22 corridamente em um só parágrafo e não devem conter citações bibliográficas.

23
24 c) no rodapé da primeira página deverá constar endereço profissional completo de todos os
25 autores (na língua do país dos autores), o e-mail do autor para correspondência e dos demais
26 autores. Em sua redação deve-se usar vírgulas em vez de traços horizontais;

27
28 d) siglas e abreviações dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no artigo,
29 serão colocadas entre parênteses, após o nome da instituição por extenso;

30
31 e) citações bibliográficas serão feitas pelo sistema “autor e ano”; artigos de até dois autores
32 serão citados pelos nomes dos dois, e com mais de dois, pelo nome do primeiro, seguido de “et
33 al.”, mais o ano; se dois artigos não se distinguirem por esses elementos, a diferenciação será
34 feita através do acréscimo de letras minúsculas ao ano. Artigos não consultados na íntegra

1 pelo(s) autor(es), devem ser diferenciados, colocando-se no final da respectiva referência,
2 “(Resumo)” ou “(Apud Fulano e o ano.)”; a referência do artigo que serviu de fonte, será
3 incluída na lista uma só vez. A menção de comunicação pessoal e de dados não publicados é
4 feita no texto somente com citação de Nome e Ano, colocando-se na lista das Referências dados
5 adicionais, como a Instituição de origem do(s) autor(es). Nas citações de artigos colocados
6 cronologicamente entre parênteses, não se usará vírgula entre o nome do autor e o ano, nem
7 ponto-e-vírgula após cada ano, como por exemplo: (Priester & Haves 1974, Lemos et al. 2004,
8 Krametter-Froetcher et. al. 2007);

9
10 f) a Lista das REFERÊNCIAS deverá ser apresentada em caixa alta e baixa, com os nomes
11 científicos em itálico (grifo), e sempre em conformidade com o padrão adotado nos últimos
12 fascículos da revista, inclusive quanto à ordenação de seus vários elementos.

13
14 3. Os gráficos (=Figuras) devem ser produzidos em 2D, com colunas em branco, cinza e preto,
15 sem fundo e sem linhas. A chave das convenções adotadas será incluída preferentemente, na
16 área do gráfico (=Figura); evitar-se-á o uso de título ao alto do gráfico (=Figura).

17
18 4. As legendas explicativas das Figuras devem conter informações suficientes para que estas
19 sejam compreensíveis, (até certo ponto autoexplicativas, independente do texto). 5. Os Quadros
20 devem ser explicativos por si mesmos. Entre o título (em negrito) e as colunas deve vir o
21 cabeçalho entre dois traços longos, um acima e outro abaixo. Não há traços verticais, nem
22 fundos cinzas. Os sinais de chamada serão alfabéticos, recomeçando, se possível, com “a” em
23 cada Quadro; as notas serão lançadas logo abaixo do Quadro respectivo, do qual serão separadas
24 por um traço curto à esquerda.

25

26

1 **NORMAS DO CAPÍTULO II**
2 **ACTA SCIENTIAE VETERINARIAE**

3
4 **INSTRUÇÕES RELATO DE CASO**

5
6 Destinado para a descrição de quadros clínicos/cirúrgicos/ sintomatológicos/terapêuticos, etc.
7 de natureza ou evolução incomum.

8
9 INICIALMENTE os trabalhos são triados pelo Conselho Editorial. NÃO SERÃO aceitos
10 aqueles FORA dos padrões específicos da ASV. O ABSTRACT (OBRIGATÓRIO: total
11 mínimo de 3400 caracteres com espaços e máximo de 3900 cce, SEM contar keywords e
12 descritores). É composto de três partes: 1. Background (seção curta com no máximo de 700
13 cce) que sempre terminará com o objetivo do relato. 2. Case: descrição detalhada. 3. Discussion:
14 com as conclusões e perspectivas do relato.

15
16 IMPORTANTE: informar o endereço postal completo do autor principal para Correspondence.
17 Sempre Informar a filiação (nome da Instituição com SIGLA e local) dos outros autores (nomes
18 completos). Esta informação deve ser colocada abaixo da nomimata dos autores. Nunca como
19 nota de rodapé. Fornecer DOIS e-mails (autores diferentes) para contato durante avaliação do
20 trabalho e agilização dos trâmites necessários.

21
22 OBSERVAÇÃO: Primeiro Autor que já tem um RELATO de CASO em avaliação, só pode
23 submeter novo trabalho após a publicação do mesmo.

24
25 **CONSIDERAÇÕES PRÉVIAS**

26
27 Autoria: ASV se reserva o direito de LIMITAR a participação de no máximo OITO autores. O
28 reconhecimento da autoria deve estar baseado em contribuição substancial relacionada aos
29 seguintes aspectos: 1) Efetiva e relevante participação no acompanhamento do caso; 2) Redação
30 do artigo (análise e interpretação dos dados) e/ou revisão crítica relevante do conteúdo
31 intelectual. Os auxiliares da equipe que não se encaixem nestes critérios prioritários podem
32 figurar na seção de Acknowledgements. Os relatos serão publicados em ordem de aprovação
33 final de todos os requisitos [conteúdo (texto e ilustrações) e correta formatação].

1 ATENÇÃO: O texto não aceitável (Abstract ou trabalho integral) passará
2 OBRIGATORIAMENTE por revisão do inglês e a ser realizado por serviços especializados
3 (opções RECOMENDADAS pela ASV).

4

5 Resumo dos Requisitos Técnicos:

6

7 • Apresentar o texto em fonte Times, tamanho 12, espaço duplo e margem de 2,5cm. NUNCA
8 colocar nota de rodapé em nenhuma página.

9

10 • Enumerar em ordem crescente, na margem esquerda, todas as linhas do trabalho.

11

12 • Imagens: As imagens devem ser digitalizadas em 300 dpi em CMYK (coloridas) e Gray Scale
13 (tons de cinza), ao serem salvas deve ser selecionada a extensão TIFF. Podem ser enviadas em
14 ARQUIVOS SEPARADOS por e-mail. Se necessário será solicitada a remessa das mesmas em
15 CD/DVD. Para a digitalização pode ser usado qualquer programa de imagem, mas nunca enviar
16 incorporado em documento Word. As fotografias feitas através de microscópio devem conter
17 indicadores internos de escala. Os símbolos, flechas ou letras usados em fotomicrografias
18 devem contrastar claramente com o fundo, com a escala (bar) inserida e a magnitude descrita
19 na legenda. Para as fotos em câmera digital, a máquina deve ter resolução superior a 5
20 Megapixels (observar no momento de bater a foto se a câmera está configurada em resolução
21 máxima). Nunca enviar as imagens com extensão jpg ou gif.

22

23 • Unidades de Medidas: Medidas de comprimento, altura, peso e volume devem ser expressas
24 em unidades métricas (metros, gramas ou litros, ou seus múltiplos decimais). As temperaturas
25 devem ser dadas em graus Celsius. A pressão sanguínea em milímetros de mercúrio. Todos os
26 valores hematológicos ou bioquímicos devem ser apresentados em unidades do sistema métrico
27 decimal de acordo com o Sistema Internacional de Medidas (SI).

28

29 • Abreviações: devem ser evitadas e, se empregadas [só abreviatura padrão], definidas na
30 primeira menção, salvo se forem unidades comuns de medida. Para nomes latinos binominais,
31 abreviar o gênero após citação inicial, exceto quando iniciar frase.

32

33 • Incluir permissão para reproduzir material previamente publicado.

34

1 • Anexar também termo de cessão dos direitos autorais (texto simples com assinatura dos
2 coautores; escanear e enviar por e-mail).

3
4 **Para a submissão dos RELATOS ou comunicação com os Editores SOMENTE utilizar o**
5 **e-mail: actascivet-submission@ufrgs.br**

6
7 **IMPORTANTE:** A taxa de publicação [R\$ 550,00] somente deverá ser paga (enviar por e-mail)
8 após a revisão e aprovação final do trabalho. A publicação ocorrerá **SOMENTE** após o
9 pagamento. A taxa única de fotolitagem colorida é de R\$ 170,00].

10 **ESTRUTURA BÁSICA DOS TRABALHOS**

11 **PÁGINA INICIAL**

12
13
14 1. Título não deve exceder 60 palavras. Title: com letras capitalizadas. Nomes completos de
15 todos autores. Apresentar as filiações **SEM** informar cargo ou titulação dos autores.

16
17 2. **ABSTRACT:** na forma direta e no passado.**OBRIGATÓRIO:** total mínimo de 3400
18 caracteres com espaços e máximo de 3900 cce, **SEM** contar keywords e descritores). É
19 composto de três partes: 1. Background (seção curta com no máximo de 700 cce): destacando
20 a importância do assunto e que sempre terminará com o objetivo do relato. 2. Case: descrição
21 detalhada. 3. Discussion: com as conclusões e perspectivas do relato. Abstract deve ser
22 preparado por tradutor / serviço reconhecidamente qualificado (anexar o comprovante). **ASV**
23 se reserva o direito de **RECUSAR** texto-inglês considerado tecnicamente inadequado.

24 **PÁGINAS SEGUINTEs**

25
26
27 3. **INTRODUÇÃO:** Deve ser **CURTA**, clara e objetiva, contendo informações que justifiquem
28 a importância do relato (originalidade) e restringindo as citações ao assunto específico. Sempre
29 finalizar com o (s) objetivo (s) do trabalho. É obrigatório considerar o limite **MÍNIMO** de 700
30 cce e o **MÁXIMO** de 1700 c.c.e. Obs.: Pode ser similar ao texto do “background” [primeira
31 parte do Abstract e que não deve ultrapassar 700 c.c.e].

32
33 4. **RELATO DO CASO:** destinado para a descrição de quadros clínicos/cirúrgicos/
34 sintomatológicos/terapêuticos, etc. de natureza ou evolução incomum. É obrigatória

1 apresentação de no mínimo 2 figuras ilustrativas de tamanho padrão (7,5cm de largura),
2 comparando várias situações [antes x pós-tratamento ou cirurgia, lesão macroscópica x achado
3 histopatológico; lesão x cultivo macroscópico x aspecto microscópico, etc.].

4
5 Tabelas: se uma tabela tem poucas linhas e/ou colunas, tente organizar em frases dentro do
6 corpo do texto. Ou seja, não use tabelas pequenas para informações que podem ser alocadas no
7 texto do artigo (exemplo resultados de exames hematológicos e ou bioquímicos e respectivos
8 padrões de referencia).

9
10 5. DISCUSSÃO: O conteúdo deve ser interpretativo e as hipóteses e especulações formuladas
11 embasadas nos dados obtidos pelos aa. e, relacionadas ao conhecimento atual sobre o tema,
12 fornecido por outros estudos. Nesta seção referenciar somente a literatura essencial. Concluir
13 com as implicações dos achados e perspectivas.

14
15 Observação sobre as citações: Normalmente citadas no texto por números entre colchetes,
16 correspondendo aos aa. ordenados e numerados por ordem alfabética. Exs.: [2], [7,9,16], [23-
17 27,31,33,45-48]. Só quando for essencial citar o nome dos aa. no texto. Não citar nomes dos
18 autores somente para cotejar dados obtidos em outros trabalhos similares. Observe as sugestões:
19 A primeira descrição coube a Autor & Autor [3]...; Autor & Autor [32] iniciaram...; Autor et
20 al. [18] em 1958... Os dados não publicados ou comunicações pessoais só devem aparecer no
21 texto assim: (A.A.autor, comunicação pessoal, ano) e (C.D.autor & E.F. autor, dados não
22 publicados); nestes casos informar antes das Referências o endereço completo ou e-mail dos
23 aa.

24
25 6. MANUFACTURERS. Quando pertinente indicar insumos e aparelhos DIRETOS no texto
26 com números sobrescritos; os fabricantes (nome, cidade e país) deverão ser citados em
27 Manufacturers.

28
29 7. Acknowledgements. Se necessários, devem ser sucintos e dirigidos para significativa
30 assistência técnica, cooperação ou orientação recebida de colegas, etc. Quando se aplicar.

31
32 8. Declaration of interest.

33

1 9. REFERENCES: Atenção para todos os detalhes. Os trabalhos não serão analisados enquanto
2 estiverem incompletas ou fora das normas. Relacionar as references em ordem alfabética e
3 numerada, conforme os vários exemplos abaixo. Sequencia: Número / Referenciar sobrenome
4 (letra maiúscula só a inicial) sem vírgulas e iniciais de todos aa. seguidas de ponto e separados
5 por virgula entre cada autor (usar “&” para separar os últimos aa. / Ano da publicação. / Título
6 do artigo. / Nome completo da revista em itálico (s/abreviação). / n. do volume (n. fascículo):
7 pp-pp. Importante: poderão ser listados NO MÁXIMO dois resumos (Congressos, Simpósios,
8 Salões ou workshops).

9

10 • TRABALHOS

11

12 → COM DOIS AUTORES:

13 **Spilki F.R. & Arns C.V. 2008.** Vírus respiratório sincicial bovino. *Acta Scientiae Veterinariae*.
14 36(3): 197-214.

15

16 → COM VÁRIOS AUTORES:

17 **Pereira S.A., Schubach T.M.P., Gremião I.D.F., Silva D.T., Figueiredo F.B., Assis N.V. &**
18 **Passos S.R.L. 2009.** Aspectos terapêuticos da esporotricose felina. *Acta Scientiae Veterinariae*.
19 37(4): 311-321.

20

21 Obs.1: A numeração das referências segue a prioridade da ordem alfabética dos sobrenomes
22 dos diversos autores/ co-autores e não do ano da publicação. Exemplos:

23

24 7 Berlinguer F., Leoni G., Bogliolo L., Pintus P.P., Rosati I., Ledda S. & Naitana S. 2004.

25 8 Bernardi M.L., Cotinot C., Payen E. & Delouis C. 1996.

26 9 Bernardi M.L. & Delouis C. 1995.

27 10 Bernardi M.L. & Delouis C. 1996.

28 11 Bernardi M.L., Fléchon J-E. & Delouis C. 1996.

29 26 Martinez E.A., Vazquez J.M., Roca J., Lucas X., Gil M.A., Par-rilla J.L., Vazquez J.L. &
30 Day B.N. 2002.

31 27 Martinez E.A., Vazquez J.M., Roca J., Lucas X., Gil M.A. & Vazquez J.L. 2001.

32 28 Martini R. L. 1998. 29 Matthijsa A., Hakze R., Potsma A. & Woelders H. 2000.

33 30 Matthijsa A., Harkema W., Engel B. & Woelders H. 2000.

34 68 Tervit H.R., Whittingham D.G. & Rowson L.E.A. 1972.

- 1 69 Thompson J.G. 1997.
2 70 Thompson J.G., Gardner D.K., Pugh P.A., McMillan W.H. & Tervit H.R. 1995.
3 71 Thompson J.G., Simpson A.C., Pugh P.A., Donnelly P.E. & Tervit H.R. 1990.
4 72 Thompson J.G., Simpson A.C., Pugh P.A. & Tervit H.R. 1992.
5 73 Thompson J.G., Simpson A.C., Pugh P.A., Wright R.W. & Tervit H.R. 1991.

6

7 Obs.2: Para referencias com idêntica ordenação dos aa., mesmo ano de publicação e em
8 diferentes Revistas, dar prioridade de numeração para aquela que foi citada primeiro no
9 trabalho. Se for na mesma Revista, priorizar a referência com numeração mais baixa.

10

11 → EM VOLUME COM SUPLEMENTO:

12 **Pier A.C., Cabañes F.J., Chermette R., Ferreiro L., Guillot J., Jensen H.E. & Santurio**
13 **J.M. 2000.** Prominent animal mycoses from various regions of the world. *Medical Mycology*.
14 38 (Suppl 1): 47-58.

15

16 → EM FASCÍCULO SEM VOLUME:

17 **Turan L., Wredmark T. & Fellander-Tsai I. 1995.** Arthroscopic ankle arthrodesis in
18 rheumatoid arthritis. *Clinical of Orthopedic*. (320): 110-114.

19

20 → SEM VOLUME E SEM FASCÍCULO:

21 **Schulman R.L. 2003.** Insulin and other therapies for diabetes mellitus. *Veterinary Medicine*.
22 April: 334-347.

23

24 → EM FORMATO ELETRÔNICO:

25 **Morse S.S. 1995.** Factors in the emergence of infectious diseases. *Emerging Infectious*
26 *Diseases*. 1: 7-15. [Fonte:].

27

28 → IN PRESS/ Publicação ahead of print [mencionar as datas]:

29 **Teifke J.P., Driemeier D. & Kaden V. 2002.** Arrest of metaphyseal ossification with classical
30 swine fever. *Veterinary Record*. [in press].

31

32 → COMPLETO EM EVENTO:

33 [Sempre com o N.º do evento (Cidade e País)]

1 **Bortolozzo F.P., Uemoto D.A., Wentz I. & Pozzobon M.C. 1999.** Reproductive performance
2 of gilts submitted to artificial insemination in different intervals before ovulation. In:
3 Proceedings of the 4th International Conference on Board Semen Preservation (Beltsville,
4 U.S.A.). pp.239-240

5

6 → EM COLEÇÃO OU SÉRIE:

7 **Jellieff D.B. 1968.** Evaluación del estado de nutrición de la comunidad. Ginebra: Organizacion
8 Mundial de la Salud. [Serie de Monografias, 53], 201p.

9

10 • RESUMOS - No máximo DOIS [Sempre com o N.º do evento (Cidade e País)]

11

12 → PUBLICADO EM ANAIS:

13 **Bisol J.F.W., Vieira M.J., Keller A., Mattos R.C. & Gregory R.M. 2000.** Efeito da adição
14 de antibióticos ao diluente de sêmen resfriado eqüino na fertilidade de éguas. In: Resumos do
15 XII Salão de Iniciação Científica da UFRGS (Porto Alegre, Brasil). p.125.

16

17 → PUBLICADO EM ANAIS COM VÁRIOS VOLS.:

18 **Barcellos D.E.S.N., Razia L.E. & Borowski S.M. 2002.** Microagglutination test detecting
19 antibodies against *Brachyspira pilosicoli* [paper 537]. In: Proceedings of the 17th Congress of
20 the International Pig Veterinary Society. v.2. (Ames, U.S.A.). p.362.

21

22 → PUBLICADO EM REVISTA:

23 **Reischak D., Costa U.M., Moojen V. & Ravazzolo A.P. 1999.** Ovine synovial membrane cell
24 line permissive to in vitro caprine lentivirus replication [abstract A-097]. In: *Virologica* 99
25 (Curitiba, Brazil). *Virus Reviews & Research*. 4(1): 81-82.

26

27 • DISSERTAÇÕES / TESES

28 **Machado M.L.S. 2001.** Dermatofitos e leveduras isolados da pele de cães com dermatopatias
29 diversas. 82f. Porto Alegre, RS. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Programa
30 de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

31

32 • LIVROS [Sempre com nome da Cidade: nome da Editora]

33

34 → CAPÍTULO EM LIVRO COM AUTORIA:

1 **Rodrigues J.L. 1982.** Transferência Embrionária. In: Mies Filho A. (Ed). Reprodução dos
2 Animais e Inseminação Artificial. 5.ed. Porto Alegre: Sulina, pp.710-720. [mencionar o Ed ou
3 Eds]

4 → CAPÍTULO EM LIVRO SEM AUTORIA:

5 **Solomon S.E. & Nascimento V.P. 1994.** Hen's eggshell structure and function. In: The
6 Microbiology of the Avian Egg. London: Chapman & Hall, pp.1-24.

7

8 → CITAÇÃO DE LIVRO:

9 **Bladh W. H. 1971.** Nuclear Medicine. 2nd edn. New York: Mac Graw-Hill, 858p.

10

11 EXEMPLOS - PADRÃO ASV

12 Exemplo 1

13

14 1 **Benitah N. 2006.** Canine nasal aspergillosis. Clinical Techniques in Small Animal Practice.
15 21(2): 82-88.

16 2 **Cadwallader J.A., Goulden B.E., Baxter M., Wyburn R.S. & Alley M.R. 1973.** Rhinitis
17 and sinusitis involving *Aspergillus fumigatus* in a dog. New Zealand Veterinary Journal.
18 21(11): 229-233.

19 3 **Davey T.N. 2003.** Aspergilose. In: Tilley L.P. & Smith Jr. F.W.K. (Eds). Consulta veterinária
20 em 5 minutos, espécies canina e felina. 2.ed. São Paulo: Manole, pp.460-461.

21 4 **Day M.J. 2009.** Canine sino-nasal aspergillosis: parallels with human disease. Medical
22 Mycology. 47(Suppl 1): s315-s323.

23 5 **De Lorenzi D., Bonfanti U., Masserdotti C., Caldin M. & Furlanello T. 2006.** Diagnosis
24 of canine nasal aspergillosis by cytological examination: a comparison of four different
25 collection techniques. Journal of Small Animal Practice. 47(6): 316-319.

26 6 **Harvey C.E. & O'Brien J.A. 1983.** Nasal aspergillosis and penicilliosis. In: Kirk R.W. (Ed).
27 Current Veterinary Therapy VIII. Philadelphia: W.B. Saunders Co., pp.236-240.

28 7 **Hawkins E.C. 2006.** Distúrbios da Cavidade Nasal. In: Nelson R.W. & Couto C.G. (Eds).
29 Medicina interna de pequenos animais. 3.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, pp.219-230.

30 8 **Johnson L.R., Drazenovich T.L., Herrera M.A. & Wisner E.R. 2006.** Results of
31 rhinoscopy alone or in conjunction with sinuscopy in dogs with aspergillosis: 46 cases (2001-
32 2004). Journal of the American Veterinary Medical Association. 228(5): 738-742

33 9 **Kohn B., Kittner A., Werner H., Schmitz S., Rudolph R. & Brunnberg L. 2002.** Nasal
34 aspergillosis in dogs - diagnosis and therapy. Kleintierpraxis. 47(7):415-426.

- 1 10 **Lane J.G., Clayton-Jones D.G., Thoday K.L. & Thomsett L.R. 1974.** The diagnosis and
2 successful treatment of *Aspergillus fumigatus* infection of the frontal sinuses and nasal
3 chambers of the dog. *Journal of Small Animal Practice*. 15(2): 79-87.
- 4 11 **Mathews K.G. 2004.** Fungal Rhinitis. In: King L.G. (Ed). *Textbook of respiratory disease*
5 in dogs and cats. Missouri: Saunders, pp.284-293.
- 6 12 **Mathews K.G., Davidson A.P., Roplik P.D., Richardson E.F., Komtebedde J.,**
7 **Pappagianis D., Hector R.F. & Kass P.H. 1998.** Comparison of topical administration of
8 clotrimazole through surgically versus nonsurgically placed catheters for treatment of nasal
9 aspergillosis in dogs: 60 cases (1990-1996). *Journal of the American Veterinary Medical*
10 *Association*. 213(4): 501-506.
- 11 13 **Menezes E.A., Trindade E.C.P., Costa M.M., Freire C.C.F., Cavalcante M.S. & Cunha**
12 **F.A. 2004.** Airbone fungi isolated from Fortaleza city, State of Ceará, Brazil. *Revista do*
13 *Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 46(3): 133-137.
- 14 14 **Mezzari A., Perin C., Santos Jr. S.S. & Bernd L.A.G. 2002.** Airbone fungi in the city of
15 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São*
16 *Paulo*. 44(5): 269-272.
- 17 15 **Mortellaro C.M., Della Franca P.D. & Caretta G. 1989.** *Aspergillus fumigatus*, the
18 causative agent of infection of the frontal sinuses and nasal chambers of the dog. *Mycoses*.
19 32(7): 327-335.
- 20 16 **Peeters D. & Clercx C. 2007.** Update on Canine Sinonasal Aspergillosis. *Veterinary Clinics*
21 *of North America: Small Animal Practice*. 37(5): 901-916.
- 22 17 **Pomrantz J.S., Johnson L.R., Nelson R.W. & Wisner E.R. 2007.** Comparison of serologic
23 evaluation via agar gel immunodiffusion and fungal culture of tissue for diagnosis of nasal
24 aspergillosis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 230(9): 319-
25 1323.
- 26 18 **Saunders J.H. & Van Bree H. 2003.** Diagnosis of nasal aspergillosis in the dog. *Vlaams*
27 *Diergeneeskungig Tijdschrift*. 72: 399-408.
- 28 19 **Sharp N.J.H. 1998.** Aspergillosis and Penicilliosis. In: Greene C.E. (Ed). *Infectious*
29 *diseases of the dog and cat*. 2nd edn. Philadelphia: Saunders, pp.714-722.
- 30 20 **Tasker S., Knottenbelt C.M., Munro E.A., Stonehewer J., Simpson J.W. & Mackin A.J.**
31 **1999.** Aetiology and diagnosis of persistent nasal disease in the dog: a retrospective study of 42
32 cases. *Journal of Small Animal Practice*. 40(10): 473-478.

- 1 21 **Turek M.M. & Lana S.E. 2007.** Canine nasosinal tumors. In: Withrow S.J. & MacEwen
2 E.G. (Eds). Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology. 4th edn. Philadelphia:
3 Saunders Company, pp.525-539.
- 4 22 **von Biberstein S.E., Spiro J.D. & Coll W. 1999.** Acinic cell carcinoma of the nasal cavity.
5 Otolaryngology - Head and Neck Surgery. 120(5): 759-762.
- 6 23 **Wilson D.W. & Dungworth D.L. 2002.** Tumors of the respiratory tract. In: Meuten D.J.
7 (Ed). Tumors in Domestic Animals. 4th edn. Iowa: Blackwell, pp.365-399.
- 8 24 **Windsor R.C., Johnson L.R., Herrgesel E.J. & De Cock H.E. 2004.** Idiopathic
9 lymphoplasmacytic rhinitis in dogs: 37 cases (1997-2002). Journal of the American Veterinary
10 Medical Association. 224(12): 1952-1957.
- 11 25 **Wolf A.M. 1992.** Fungal diseases of the nasal cavity of the dog and cat. Veterinary Clinics
12 of North America: Small Animal Practice. 22(5): 1119-1132.
- 13 26 **Wuiermattei D.L. & Flo G.L. 1999.** Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture
14 Repair. 3rd edn. Philadelphia: W.B. Saunders, 743p.
- 15 27 **Zchwarz P.D. 1993.** Fracture biomechanics of the appendicular skeleton: causes and
16 assessment. In: Bojrab M.J., Smeak D.D. & Bloomberg M.S. (Eds). Disease mechanisms in
17 small animal surgery. Philadelphia: Lea & Febiger, pp.1009-1026.