



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA - CEUB

PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

ISABELLA SOARES DA SILVA

LUANA DE CARVALHO SANTOS

**IDENTIFICAÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA A DIROFILÁRIA EM CÃES
RESIDENTES DO DISTRITO FEDERAL**

BRASÍLIA

2022



ISABELLA SOARES DA SILVA

LUANA DE CARVALHO SANTOS

**IDENTIFICAÇÃO DE ANTICORPOS CONTRA A DIROFILÁRIA EM CÃES DO
DISTRITO FEDERAL**

Relatório final de pesquisa de Iniciação Científica apresentado à Assessoria de Pós-Graduação e Pesquisa.

Orientação: Lucas Edel Donato

BRASÍLIA

2022

DEDICATÓRIA

Dedicamos este trabalho às nossas famílias, que investiram tempo e dinheiro nos nossos sonhos, nunca deixando de acreditar em nós e na nossa capacidade de realizá-los. Sem vocês, não estaríamos aqui.

Também gostaríamos de dedicar este trabalho a todos os professores e profissionais da medicina veterinária que serviram de exemplo para nós, nos inspirando e guiando no caminho da profissão.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a todos que contribuíram, de forma direta ou não, para a elaboração e conclusão deste projeto de pesquisa.

Às nossas famílias, pelo carinho, amor e motivação. Nossa jornada não seria possível sem o apoio de vocês, tanto emocional quanto financeiro, e esperamos que este trabalho seja motivo de tanto orgulho para vocês quanto é para nós.

Ao nosso professor e orientador, Lucas Edel Donato, por toda a ajuda, dedicação e paciência que teve ao nos conduzir por esse caminho acadêmico e profissional. Não conseguiríamos sem você, e somos muito gratas por todo o apoio que nos deu e dá.

À professora Rafaella Albuquerque e Silva, médica veterinária e cientista, e a todas as mulheres pesquisadoras que serviram de exemplo para nós, e a quem admiramos e respeitamos imensamente.

Ao laboratório ECO, por nos patrocinar com os kits de teste para a dirofilariose e tornarem este trabalho possível; ao Centro Universitário de Brasília (CEUB) pela oportunidade de participar de um Projeto de Iniciação Científica, bem como à equipe do LABOCIEN, pelo apoio logístico e pela paciência ao nos ajudar com a porção laboratorial do projeto.

À D'us e outros agentes espirituais, por cada benção e guarda que nos trouxe até aqui.

“Toda garota merece participar da criação da tecnologia que vai mudar o mundo, e mudar quem o controla”

- Malala Yousafzai.

RESUMO

A dirofilariose é uma doença zoonótica causada por nematóides do gênero *Dirofilaria*, cuja adaptabilidade tornou o parasita objeto de endemias no Brasil, principalmente por conta das condições abaixo do ideal de saneamento básico, desmatamento e crescimento importante da população de cães e gatos. A doença é considerada negligenciada e afere-se que a exposição humana seja mais recorrente do que é de conhecimento entre a comunidade científica. O presente estudo objetiva detectar a presença de anticorpos contra a dirofilária em cães residentes do Distrito Federal e relacioná-la com a ocorrência do mosquito *Aedes aegypti*. Foram utilizadas 60 amostras de cães atendidos pela Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde (DIVAL) no Distrito Federal e entorno, coletadas nos meses de agosto e novembro do ano de 2019. Buscou-se associar as características clínicas dos animais com as condições de tropismo que o *Aedes aegypti* apresenta para realização do repasto sanguíneo e transmissão do parasito. Para obtenção dos resultados foram utilizados soros que avaliam por meio do ensaio imunocromatográfico a detecção qualitativa in vitro do anticorpo contra *Dirofilaria immitis*. Cerca de 17,65% dos animais residentes em áreas de risco para *Aedes aegypti* testaram positivo para a presença do anticorpo contra dirofilária, enquanto 19,23% testaram positivo em áreas em que o risco não era considerado relevante. Além disso, foi estudada uma relação entre os resultados positivos e as características clínicas – para sexo, tipo de pelagem, idade, raça, região administrativa em que é residente e tipo de lugar em que o cão é mantido – dos animais dos quais as amostras foram coletadas. Com base nessa avaliação, a literatura corroborou com a maior parte das informações, diferindo apenas quanto aos resultados relacionados ao sexo, tipo de pelagem e o local em que o animal passa a maior parte do dia, uma vez que houve maior incidência em animais do sexo feminino, de animais com faixa etária entre 1 e 3 anos, de animais considerados de pelagem de tamanho médio e em animais mantidos em canis. As regiões administrativas contempladas com animais com resultados positivos para presença de anticorpos antidirofilaria foram Asa Sul, Brazlândia, Jardim Botânico, Samambaia, Sobradinho, Vale do Amanhecer e Valparaíso.

Palavras-chave: Dengue; *Canis lupus familiaris*; Dirofilariose; Doença do verme do coração; *Dirofilaria immitis*

LISTAS DE FIGURAS

Figura 01. Insumos utilizados para a testagem de dirofilariose em cães residentes do Distrito Federal e entorno.....	22
Figura 02. Teste de Dirofilariose Ag ECO Vet utilizado.....	23
Figura 03. Testagem da amostra 19080096.....	24

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 01. Relação de resultados positivos e negativos referentes às áreas de risco satisfatório e de alerta.....	25
Gráfico 02. Número de animais em % por local de permanência.....	28
Gráfico 03. Número de animais contemplados na pesquisa por sexo.....	29
Gráfico 04. Relação de resultados positivos e negativos por faixa etária dos animais contemplados na pesquisa em %.....	30
Gráfico 05. Relação de resultados positivos e negativos por pelagem dos animais contemplados na pesquisa.....	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 01. Relação de resultados positivos e negativos em % por região administrativa em que foram detectados animais infectados.....	26
Tabela 02. Relação de animais por raça cujo resultados deram positivo.....	27

LISTA DE SÍMBOLOS

% - Porcentagem

LISTA DE ABREVIações

CEUA/CEUB – Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário de Brasília;

DIVAL – Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde;

LIRAA – Levantamento Rápido de Índices para *Aedes aegypti*

MAC – Complexo de Ataque a Membrana;

RA – Região Administrativa.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
3. MÉTODO	21
3.1. <i>Crítérios de inclusão de áreas para a seleção de amostras sanguíneas</i>	21
3.2. <i>Tipo de estudo</i>	21
3.3. <i>Amostras biológicas</i>	21
3.4. <i>Exame sorológico</i>	22
3.5. <i>Metodologia de testagem</i>	22
3.6. <i>Análise de dados</i>	23
3.7. <i>Comitê de Ética</i>	23
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
4.1. <i>Distribuição de amostras por Região Administrativa (RA)</i>	26
4.2. <i>Perfil clínico dos animais</i>	27
4.2.1. <i>Animais positivados segundo a raça</i>	27
4.2.2. <i>Animais positivados segundo seu local de permanência</i>	28
4.2.3. <i>Animais positivados segundo o sexo</i>	29
4.2.4. <i>Animais positivados segundo a faixa etária</i>	30
4.2.5. <i>Animais positivados segundo a pelagem</i>	30
4.3. <i>Limitações</i>	31
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	32
6. REFERÊNCIAS	33

1. INTRODUÇÃO

A introdução da dirofilariose no Brasil se deve em principal à importação de cães domésticos infectados no passado. Esse parasito, por conseguinte, encontrou uma alta adaptabilidade ao clima e à alta presença de vetores, além de condições geográficas associadas às condições de saneamento básico, índice pluviométrico, desmatamento e aumento desordenado da população de cães e gatos, que permitem a ocorrência de surtos e epidemias (SILVA *et al*, 2009). A dirofilariose é uma doença causada por nematóides do gênero *Dirofilaria*, da família *Onchocercidae*, que são transmitidos por diversos gêneros de mosquitos, como o *Aedes*, *Anopheles*, *Culex* e *Ochlerotatus*. Nas Américas, diversas espécies de *Dirofilaria* foram detectadas, sendo a *D. immitis* o principal agente no continente (DANTAS TORRES *et al*, 2013).

A transmissão ocorre quando um mosquito ingere larvas no primeiro estágio (L1) que vão migrar para a probóscide como larvas infecciosas de terceiro estágio (L3). (TORRES-CHABLE *et al*, 2018). Quando uma das fêmeas da família *Culicidae* se alimenta de forma hematófaga no hospedeiro definitivo, a hemolinfa é depositada na ferida, onde irá transportar a forma infectante do agente. Ao atingirem a maturidade sexual, as fêmeas realizam uma fertilização interna que é dependente do macho, ocorrendo dentro das artérias pulmonares. Essa reprodução dará origem às microfilárias, que continuarão o ciclo de transmissão ao serem ingeridas pelo vetor, durante o repasto sanguíneo, uma vez que circulam na corrente sanguínea (CRUZ, 2012). Cerca de dez a dose microfilárias podem ser transmitidas através da picada de um só mosquito (SILVA *et al*, 2009).

Os sinais clínicos mais comuns incluem lesão vascular progressiva induzida pelos vermes adultos. À medida que as lesões se agravam, o ventrículo direito aumenta e o sistema circulatório perde a capacidade de compensar, instalando-se uma insuficiência cardíaca. Nos cães, os nematódeos residentes no ventrículo direito e na artéria pulmonar levam a hipertensão, insuficiência cardíaca congestiva e, em muitos casos, a morte. Em humanos, a dirofilariose causa comprometimento do parênquima pulmonar, uma vez que o parasita não completa seu ciclo de vida e suas formas morrem nos ramos

das artérias pulmonares, formando lesões (TRANCOSO *et al*, 2020) ao desencadearem uma resposta inflamatória que resulta em nódulos pulmonares (CRUZ, 2012).

A distribuição dessa doença é mundial, com casos registrados na África, Ásia, Austrália, Europa e nas Américas (SILVA *et al*, 2009). Entretanto, essa patogenia apresenta-se mais comum em regiões tropicais e subtropicais, além de regiões temperadas (TORRES-CHABLE *et al*, 2018). Na Europa, a *D. immitis* está presente no Mediterrâneo, onde há alta prevalência de cães. Já foram relatados 33 casos de dirofilariose humana até 2012, mas estima-se que o número seja consideravelmente maior (FUEHRER *et al*, 2016). No Brasil, a dirofilariose canina é considerada uma endemia, com prevalência significativa. Um estudo nacional revela uma média de 10,2% de animais infectados, sendo que no Centro Oeste essa prevalência é de 17,2%. De todos os casos registrados na literatura em humanos, tem-se o registro de somente 17 no Brasil, apesar das condições altamente favoráveis (SILVA *et al*, 2009).

No Brasil, existem cerca de 15 focos hiperendêmicos dessa doença, e o agente está presente em todas as regiões do país (TRANCOSO *et al*, 2020). Estudos demonstram que há maior percentual positivo em animais de 6 a 10 anos, o que indica que o risco aumenta conforme a idade. Há maior prevalência em cães de pelo curto e de grande porte pelo fato de serem utilizados como cães de guarda e pelo tamanho do pelo facilitar aproximação e picada do mosquito (SARQUIS, 2012). Por ainda ser uma zoonose pouco conhecida e, pela relação íntima que existe entre os animais domésticos e seres humanos, é uma doença negligenciada, sendo a exposição humana a *D. immitis* mais recorrente do que o que se tem registro (SILVA *et al*, 2009).

A intenção do presente estudo é identificar a presença de anticorpos anti-dirofilária em amostras sanguíneas de cães do Distrito Federal e entorno, e para tal fim submeter as amostras de soro de cães ao teste rápido para detecção de anticorpos anti-dirofilária, realizando análise descritiva dos animais positivos e negativos.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Dirofilaria immitis é um helminto do filo *Nematoda*, classe *Secernentea*, ordem *Spirurida*, superfamília *Filarioidea*, pertencente à família *Onchocercidae* e subfamília *Dirofilarinae*, cujo desenvolvimento depende de um hospedeiro invertebrado intermediário e de um hospedeiro vertebrado definitivo. O parasita é transmitido por vetores que englobam uma grande parcela de mosquitos hematófagos, esses atuando como hospedeiros intermediários obrigatórios, e possui um ciclo de vida de aproximadamente 7 e 9 meses (SALGUEIRO, 2016; SILVA *et al*, 2009). Morfologicamente, as microfilárias medem aproximadamente 285 a 325 µm de comprimento, e 5 a 7,5µm de diâmetro. Além disso, possuem extremidade cefálica afilada e a extremidade caudal estendida. Na fase adulta, esse verme apresenta o corpo filiforme, longo e com a extremidade anterior arredondada, com a cor cinza e esbranquiçada e uma camada transparente revestindo-o; nessa fase, ela mede de 15 a 30 cm, as fêmeas geralmente com o dobro do comprimento dos machos. A característica morfológica que difere o macho e a fêmea é o formato da cauda, que no caso dos machos é em forma espiral e nas fêmeas é em forma arredondada (HOLANDA *et al*, 2020).

A *Dirofilaria immitis* é responsável por causar a zoonose parasitária não contagiosa complexa e de evolução crônica denominada dirofilariose. A dirofilariose pode apresentar-se de forma clínica ou subclínica, acometendo em principal o cão doméstico, mas também pode acometer o gato e animais silvestres. A gravidade da doença é determinada pela quantidade de vermes adultos e pela interação do hospedeiro e do parasita. A maioria dos animais que se acometem com a doença não apresentam sintomas da doença até que esta atinja um estágio avançado, se tornando uma fonte de contágio difícil de ser identificada (SANTOS, 2011).

É seguro assumir que animais que passam por uma transfusão de sangue contaminado por microfilárias não desenvolve a doença, uma vez que necessariamente, a microfilária (L1) deve ser ingerida pelo vetor durante o repasto sanguíneo em um animal infectado, no qual migrará para os túbulos de Malpighi e se desenvolverá para a fase L2 e, posteriormente, para a fase infectante (L3). Essa larva migra então para as cavidades bucais do mosquito por meio da cavidade corporal, em que será passada, a

partir do rompimento da epiderme, para o próximo mamífero propício do qual o mosquito se alimentará. Uma vez no hospedeiro definitivo, o parasita se desloca por via subcutânea, mudando para a fase L4 após, aproximadamente, 9 a 12 dias de infecção. Após cerca de dois meses a larva L4 se desenvolverá para L5, sua fase adulta, se alocando nos vasos sanguíneos após cerca de 100 dias, em que as fêmeas atingirão a maturidade sexual após aproximadamente 20 dias (SALGUEIRO, 2016). As fêmeas, que são vivíparas, liberam larvas L1 no sangue circulante, possibilitando que sejam, posteriormente, ingeridas pelo mosquito e deem continuidade ao ciclo (CRUZ, 2012).

Cerca de 70% dos animais infectados pela *Dirofilaria immitis* não apresentam sintomatologia clínica específica, o que dificulta o diagnóstico dessa enfermidade. Os sinais clínicos e a gravidade das lesões podem variar de acordo com o número de dirofilárias presentes, a duração da infecção e da resposta do hospedeiro ao agente infeccioso. A tosse e dispneia são sinais comuns que geralmente são associados à afecção do parênquima do lobo pulmonar caudal, o que pode gerar episódios de estresse respiratório agudo durante os quais pode ter a presença de sangue e vermes precedentes dos vasos rompidos que podem ser tossidos para fora. Os animais infectados podem ainda apresentar desde um quadro assintomático e alterações clínicas caracterizadas por tosse crônica, perda de peso, palidez das mucosas e anemia, além da caquexia, ascite, dispneia e intolerância ao exercício. Essas alterações podem se desenvolver em complicações e conseqüentemente causar a morte dos animais que foram infectados, em conseqüência da insuficiência cardíaca congestiva direita. Na ausculta clínica, pode-se ainda verificar sons pulmonares alterados, como sibilos e estertores, e apresentar sopro sobre a base esquerda, sopro de insuficiência de tricúspide ou arritmias cardíacas. Com a insuficiência cardíaca direita, pode-se ter um quadro de distensão da veia jugular e pulso jugular, acompanhados de hepatomegalia, esplenomegalia e ascite (ALMEIDA, 2014).

Essa doença pode ser classificada em quatro categorias, de acordo com o progresso da patogenia e o aparecimento dos sinais clínicos. Animais de categoria 1 são geralmente os assintomáticos, porém com ligeira intolerância ao exercício e tosse. Já a categoria 2 caracteriza-se pelo aparecimento de tosse mais frequente, intolerância ao exercício mais evidente e febre. A categoria 3 é associada a doença severa e pode

ocorrer ascite, dificuldades respiratórias sem atividade física, tosse frequente, inapetência, perda de peso e letargia. Por último, a categoria 4 corresponde a síndrome da veia cava e inclui todos os sinais da classe três adicionados a fraqueza ou colapso devido a choque (SILVEIRA, 2018)

A sintomatologia clínica varia conforme a resposta imune desencadeada pelo parasita, podendo ser inata ou adaptativa a depender do hospedeiro e carga parasitária. A resposta imune do animal é dificultada pela complexidade do ciclo biológico dos parasitas, desfavorecendo a sua eliminação: a ativação do sistema complemento é uma das primeiras linhas de defesa quando se tratando de agentes extracelulares, e uma vez que um helminto é reconhecido, a cascata é ativada, resultando na formação do complexo de ataque a membrana (MAC) e, conseqüentemente, causando a liberação de fatores quimiotáticos e opsoninas culmina para lise do agente infeccioso. Uma vez que helmintos são grandes demais para sofrerem fagocitose, a ação dos macrófagos se limita à liberação de substâncias tóxicas, enquanto os eosinófilos liberam agentes microbicidas, envolvendo anticorpos da classe IgE (COELHOCASTELO *et al*, 2009).

Ao se tratar da resposta imune adaptativa, composta tanto pela resposta humoral quanto celular, a infecção desencadeia a produção de anticorpos antígenos-específicos, em que haverá a liberação de Interleucina-4, que induz a produção de anticorpos IgE, Interleucina-5, que ativa a função microbicida dos eosinófilos, e Interleucina-13, bem como substâncias tóxicas. Helmintos induzem a resposta Th2, com mastócitos, eosinófilos e anticorpos IgE e IgA, porém possuem mecanismos de defesa que incluem a troca de tegumento quando rodeado por células de defesa e a inativação de anticorpos. É importante ressaltar que, ainda que os vermes causem um grande estrago por si só, a infecção causa conseqüências como a morte celular e danos teciduais através da resposta imune, adicionando uma sintomatologia generalizada que dependerá da genética, dose de infecção e memória imunológica (COELHOCASTELO *et al*, 2009). Durante a infecção, a própria dirofilária e o agente encontrado em seu interior, a bactéria Wolbachia, apresentam antígenos que interagem com o hospedeiro, participando no desenvolvimento da patologia e na sua regulação da resposta imune. Eosinófilos e neutrófilos apresentam quantidade aumentada ao serem estimulados pelo parasita, onde os neutrófilos se acumulam nas paredes das artérias pulmonares e rins.

Há, ainda, formação de uma reação granulomatosa desencadeada pela presença do verme nos ramos arteriais pulmonares, bem como a secreção de Interleucina-10 como mecanismo de defesa do agente, inibindo a patologia imunomediada (SILVA *et al*, 2009).

As microfilárias são responsáveis por causar lesões primariamente nas paredes das artérias pulmonares, provocando endarterites, aumento dos espaços intercelulares e deformidades nas células endoteliais da túnica íntima, resultando na perda de elasticidade arterial e à passagem de albumina, células e de plasma para o espaço perivascular. A patologia no pulmão se desenvolve como consequência a essas alterações nos vasos, resultando em edema, inflamação do parênquima pulmonar e ruptura de vasos. Caso as microfilárias venham a morrer naturalmente ou em decorrência de tratamentos larvicidas, seus corpos irão induzir tromboembolismo, obstrução arterial e vasoconstrição. Além de todas essas problemáticas, há ainda o surgimento de reação granulomatosa e a formação de vilosidades em locais onde ocorreu trombose. À medida que a doença progride, as artérias se tornarão mais largas e tortuosas, enquanto suas paredes mais espessas e irregulares, comprometendo o aporte sanguíneo. Por conta disso, a resposta a situações de exigência de oxigênio, o corpo não consegue suportar e a capacidade de exercício é diminuída (SILVEIRA, 2018).

A dirofilariose tem como hospedeiro intermediário dípteros da família *Culicidae*, que possuem grande importância na transmissão desse agente patogênico. No Brasil, 500 espécies foram descritas até o momento, onde cerca de 20 estão envolvidas na transmissão de bioagentes patogênicos. Para atuar como transmissor, os culicídeos devem ser suscetíveis à infecção por microfilárias em estágio primário (L1) e conseguirem atuar como vetores. Cerca de 70 espécies de mosquitos já foram descritas como potenciais vetores da dirofilariose canina, entre eles os gêneros *Aedes*, *Culex*, *Anopheles*, *Mansonia*, *Psorophora*, *Ochlerotatus*, *Amigeres* e *Coquillettidia*. Esses insetos são holometábolos, e passam pelos três primeiros estágios biológicos – ovo, larva e pupa – sendo imprescindível que haja água para condicionar o desenvolvimento e manutenção do ciclo. As fêmeas são hematófagas e necessitam de nutrientes do sangue do hospedeiro para a maturação dos ovos, associado a sua longevidade que mantém a propagação do patógeno na região. Muitas vezes, também são condicionados

por influências no clima e alterações no habitat, que determinam a quantidade de insetos presentes (VIEIRA, 2019).

Embora seu habitat seja bem esclarecido, diversos artigos relatam a presença do parasito em localizações que não são usuais, como um verme imaturo na bolsa escrotal do cão, parasitos adultos na cavidade abdominal de uma cadela e um verme adulto coletado após o vômito de um cão (PEREIRA, 2016).

A *D. immitis* foi descrita pela primeira vez por Leidy em 1856, enquanto o primeiro caso registrado de infecção canina na América Latina foi publicado em 1878 por Silva Araujo. Desde essa data, vários estudos sobre a parasitologia dessa doença no cão foram publicados, porém ainda são escassos e qualquer informação adquirida é tratada com preciosidade. Nos últimos anos, nenhuma informação foi adquirida sobre a patogenia na Bolívia, Equador, Guiana Francesa e Uruguai, enquanto o Chile parece ser o único país livre da América Latina dessa doença. O Brasil é o país latino-americano com mais estudos publicados sobre a dirofilariose. Estudos locais indicam índices diferentes de prevalência de acordo com as condições climáticas e geográficas, densidade de mosquitos e de cães, assim como o cuidado veterinário oferecido à população. As áreas brasileiras variam de isentas a hiperendêmicas, com infecções registradas em todas as regiões geográficas do Brasil. Na região Centro-Oeste foi realizado um levantamento que mostra que 1% dos cães examinados estavam infectados. Na região Nordeste, onde o clima varia de semiárido a tropical, as cidades litorâneas variam entre 0% a 29,7%. Na maior região, a Norte, foram identificados cerca de 32,5% de cães infectados no estado do Pará. Na região sudeste, cuja topografia contribui para a diversidade climática, a prevalência chegou a cerca de 26,3%. A prevalência no estado de Niterói chegou a 58,6%. Na região mais fria do Brasil, a região Sul, a prevalência atingiu índices de 2,1% e 7,3% no estado de Santa Catarina (BENDAS, 2017).

A população canina que apresenta maior risco apresenta ser aquela mais submetida a exposição dos vetores, como cães que não são controlados sanitariamente e vivem em zonas rurais, os que vivem nas ruas, os de caça, pastoreio, competição ao ar livre e os que são transportados para áreas que são endêmicas. Estudos demonstram que animais do sexo masculino apresentaram maior probabilidade de infecção do que as fêmeas, além da idade ser um fator de risco, determinando o tempo de exposição em

áreas onde a patogenia é endêmica. Sendo assim, cães idosos tem maior prevalência do que cães novos (PITZER, 2011)

A prevenção da doença é realizada por meio do uso de dietilcarbamazina, uma substância administrada em canídeos amicrofilarémicos de janela terapêutica reduzida, e agentes da família lactonas macrocíclicas. A dietilcarbamazina representa um método seguro e eficaz que elimina larvas L3 e L4, devendo ser administrado diariamente durante e até dois meses após a época propícia para os vetores. Já as lactonas macrocíclicas (ivermectina, moxidectina, milbemicina e selamectina) possuem uma grande janela terapêutica e agem interrompendo o desenvolvimento de parasitas cerca de dois meses pós-infecção, devendo ser administradas mensalmente (MEIRELES *et al*, 2014). A utilização mensal dessas drogas promove o desaparecimento gradual, ao longo de 5 a 9 meses, de microfilárias em cães com vermes adultos. A evidência sugere que a redução de populações reservatório, aumentando o número de cães que recebem a quimioprofilaxia pode fazer uma enorme diferença na prevalência da infecção em cães desprotegidos (SALGUEIRO, 2016).

3. MÉTODO

Este estudo foi realizado através da disponibilização de amostras sanguíneas doadas pela Secretária de Saúde do Governo do Distrito Federal. Essas amostras são oriundas de inquéritos realizados pelo Diretório de Vigilância Ambiental em Saúde (DIVAL) que, no momento da coleta do material, realizou o registro dos dados desses cães – região administrativa, nome, idade, raça, sexo, pelagem e local de permanência – em fichas de controle. Essas foram posteriormente disponibilizadas para a confecção deste estudo, cujo dados foram utilizados como variáveis para a análise das hipóteses abordadas neste trabalho.

3.1. *Critérios de inclusão de áreas para a seleção de amostras sanguíneas*

Para fins de aumento da sensibilidade na identificação de cães com anticorpos antidirofilaria, optou-se por incluir regiões administrativas com alta densidade vetorial do *Aedes aegypti*. Para tanto, foram utilizados boletins epidemiológicos adquiridos pelo Levantamento Rápido de Índices para *Aedes aegypti* (LIRAA) cujo as informações, quando cruzadas com as amostras disponíveis, sugeriram os meses de agosto e novembro de 2019 como as melhores opções de investigação.

3.2. *Tipo de estudo*

Foi realizado um estudo retrospectivo do tipo transversal de cães positivos para anticorpos antidirofilariose no Distrito Federal e entorno. Toda a parte experimental do presente trabalho foi realizada nas dependências do Centro Universitário de Brasília (CEUB), no LABOCIEN.

3.3. *Amostras biológicas*

As amostras de soro que foram utilizadas na pesquisa haviam sido coletadas previamente pelo professor Lucas Edel Donato, que gentilmente nos forneceu para que fossem armazenadas e refrigeradas nas dependências do LABOCIEN. As amostras foram coletadas de cães residentes em regiões administrativas diferentes. A Diretoria de Vigilância Ambiental em Saúde (DIVAL) dispõe do cadastro desses cães, os quais consta com a identificação do tutor e os dados do animal, ainda com a sintomatologia destes.

3.4. Exame sorológico

As amostras foram submetidas a exames sorológicos do tipo ensaio imunocromatográfico para detecção qualitativa de antígeno de *Dirofilaria immitis*, cujo teste detecta de forma qualitativa os anticorpos anti-*Dirofilaria immitis* em amostras de soro, plasma e sangue. Os testes foram mantidos em temperatura ambiente e em embalagem selada até o momento do uso. Segundo informação contida na embalagem, o desempenho clínico do teste utilizado foi de sensibilidade e especificidade maiores do que 99,9%.

A interpretação dos resultados foi realizada através do comprimento das instruções contidas no manual disponibilizado nos kits, em que uma linha rosa deve aparecer na linha controle (C), sendo reagente quando houver o aparecimento de uma linha de teste (T), e não reagente quando não houver. Testes cuja linha controle (C) não apareceram foram considerados inválidos e descartados.

Figura 01: Insumos utilizados para a testagem de dirofilariose em cães residentes do Distrito Federal e entorno.



3.5. Metodologia de testagem

Para a realização da testagem fez-se o uso de 10 kits de Dirofilariose Ag ECO Vet, onde cada kit continha 10 unidades de suporte de teste, uma solução do tipo tampão de

corrida e 10 pipetas de plástico; bem como uma instrução de uso e uma porção de cartões resultado.

O processo iniciou-se com a identificação do número da amostra a seu respectivo teste e, através de pipetas plásticas descartáveis, para cada teste foi adicionada uma gota de soro no poço amostra e, quando completamente absorvidas, adicionou-se duas gotas de solução diluente. Passado 5-10 minutos, os resultados foram lidos e registrados, em que, conforme instruído pelo manual disponibilizado em cada kit, os resultados não foram interpretados passados os 10 minutos limites.

Figura 02: Teste de Dirofilariose Ag ECO Vet utilizado.



3.6. *Análise de dados*

Após avaliação dos resultados, foram computadas as análises estatísticas descritivas básicas das variáveis de raça, sexo, região administrativa, tipo de pelagem, local de permanência e se o paciente foi testado positivo ou não para Dirofilariose em plataforma Excel.

3.7. *Comitê de Ética*

Cabe destacar que o professor obteve a aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade de Brasília (CEUA/CEUB – sob o número: 04/2018).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre as amostras disponibilizadas, inicialmente pretendia-se a seleção e testagem de 100 animais, porém, em detrimento dos dados obtidos no LIRAA e das informações adquiridas sobre os animais, foram selecionadas amostras de áreas consideradas de alto risco e amostras de áreas consideradas de risco satisfatório dos meses de agosto e novembro de 2019, em que a densidade vetorial de *Aedes aegypti* foi maior.

Portanto, para este estudo foram utilizadas 60 amostras de soro de cães distribuídos pelo Distrito Federal e entorno, especificamente nas regiões administrativas da Asa Norte, Asa Sul, Brazlândia, Ceilândia, Cruzeiro Novo, Guará II, Jardim Botânico, Lago Norte, Park Way, Recanto das Emas, Samambaia, São Sebastião, Sobradinho, Taguatinga, Vale do Amanhecer, Valparaíso, Varjão e Vicente Pires, das quais 25 foram coletadas de animais residentes das áreas de alerta para mosquitos *Aedes aegypti* – conhecido popularmente como mosquito da dengue – e 35 de áreas consideradas de risco satisfatório. Dos 60 animais testados, 49 (81,6%) foram negativados, sendo que destes, 21 foram de áreas dadas como risco satisfatório e 29 de áreas dadas como risco em alerta. Dos 11 animais positivados, 5 são de área de risco satisfatório e 6 de área de risco em alerta (Gráfico 01).

Figura 03: Testagem da amostra 19080096.

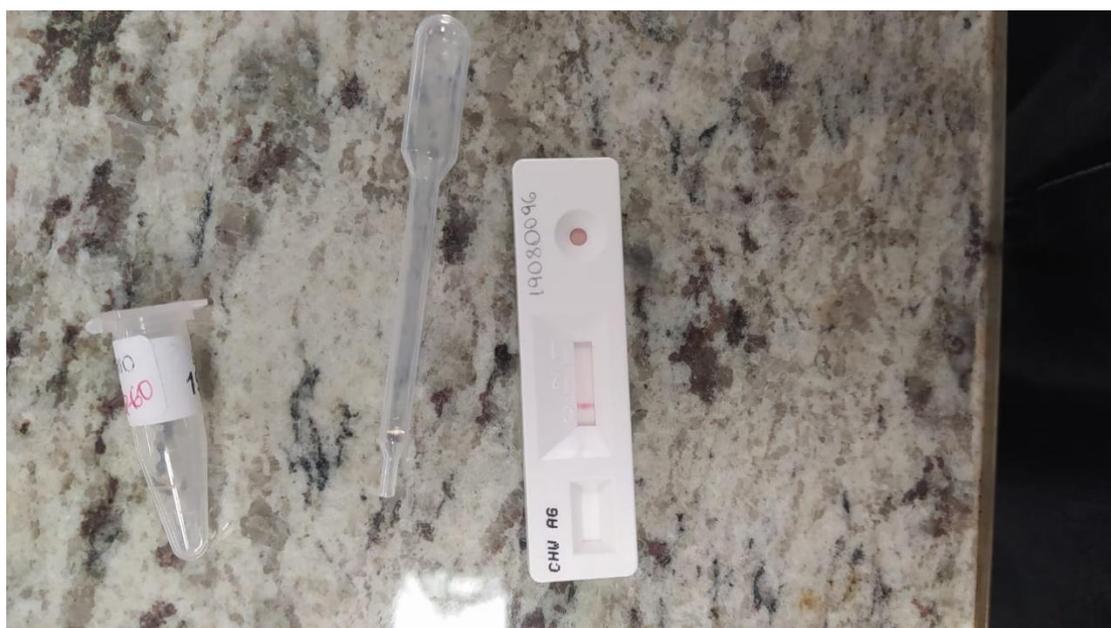
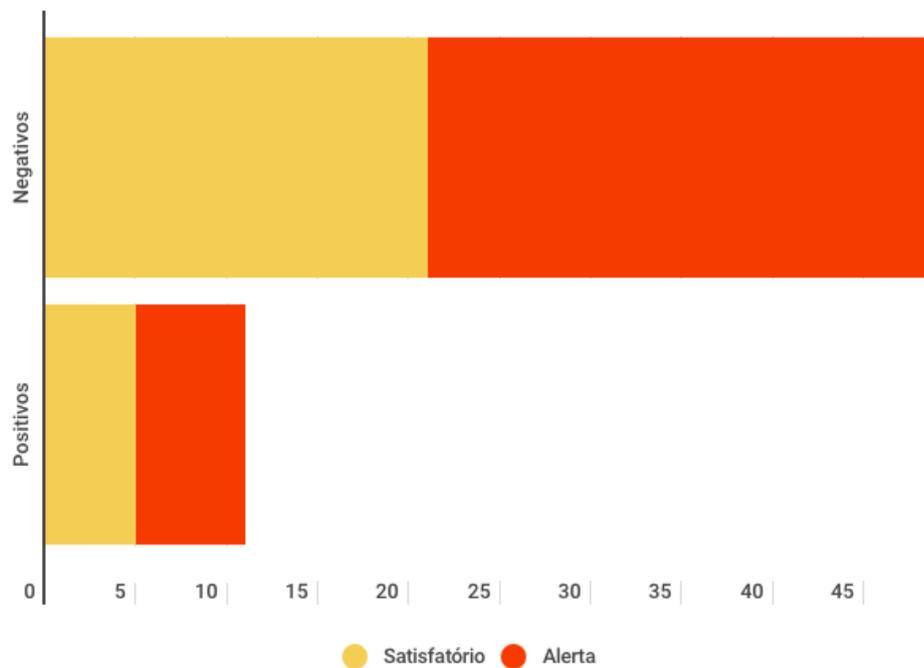


Gráfico 01: Relação de resultados positivos e negativos referentes às áreas de risco satisfatório e de alerta.



Segundo Barbosa e Alvez (apud SARQUIS, 2012), a prevalência de animais com antígenos circulantes variou de 9,1% a 10,2% em território nacional, enquanto a prevalência na região Centro-Oeste foi de 5,8%. Apesar de a prevalência ter diminuído por conta das campanhas de controle dirigidos contra enfermidades transmitidas por insetos causadores de arboviroses no início dos anos 2000, a incidência de testes positivos se mostrou alta. A presença dos anticorpos contra a dirofilária ser mais alta do que o esperado deve-se à fatores como a campanha das arboviroses ter se concentrado mais no *Aedes aegypti* e não em outros vetores relacionados à *Dirofilaria immitis* e à presença do vírus estar mais alta nos dias atuais (SARQUIS, 2012).

É importante ressaltar que, apesar da alta densidade vetorial, não necessariamente haverá uma alta densidade da doença, uma vez que para tanto é necessária a presença e circulação do parasito – dependendo da infecção dos animais, cuja afecção está sujeita aos fatores mencionados anteriormente neste estudo.

4.1. Distribuição de amostras por Região Administrativa (RA).

Segundo os dados obtidos, 3 (5,0%) dos animais selecionados são residentes da Asa Norte, dos quais nenhum testou positivo para a dirofilariose; 13 (21,7%) residentes da Asa Sul, dos quais 1 (7,69%) testou positivo; 4 (6,6%) residentes de Brazlândia, dos quais 2 (50%) testaram positivo; 2 (3,3%) residentes de Ceilândia, dos quais nenhum testou positivo; 2 (3,3%) residentes do Cruzeiro Novo, dos quais nenhum testou positivo; 2 (3,3%) residentes do Guará II, dos quais nenhum testou positivo; 4 (6,6%) residentes do Jardim Botânico, dos quais 2 (50%) testaram positivo; 2 (3,3%) residentes do Lago Norte, dos quais nenhum testou positivo; 3 (5,0%) residentes do Paranoá, dos quais nenhum testou positivo; 1 (1,7%) residente do Park Way, o qual testou negativo; 1 (1,7%) residente do Recanto das Emas, que testou negativo; 6 (10,0%) residentes de Samambaia, dos quais 3 (50%) testaram positivo; 3 (5,0%) residentes de São Sebastião, dos quais nenhum testou positivo; 8 (13,3%) residentes de Sobradinho, dos quais 2 (25%) testaram positivo; 1 (1,7%) residente de Taguatinga, que testou negativo; 2 (3,3%) residentes do Vale do Amanhecer, dos quais 1 (50%) testou positivo; 1 (1,7%) residentes de Valparaíso que testou positivo; 1 (1,7%) residente do Varjão, o qual testou negativo; e 1 (1,7%) residente de Vicente Pires, dos quais nenhum testou positivo (Tabela 01).

Tabela 01: Relação de resultados positivos e negativos em % por região administrativa em que foram detectados animais infectados.

	RA	Animais total	Positivos	Negativos
Área de risco para Aedes	Jardim Botânico	4	2 (50%)	2 (50%)
	Sobradinho	8	2 (25%)	6 (75%)
Área sem risco para Aedes	Asa Sul	13	1 (7%)	12 (92%)
	Brazlândia	4	2 (50%)	2 (50%)
	Samambaia	6	3 (50%)	3 (50%)
	Vale do amanhecer	2	1 (50%)	1 (50%)
	Valparaíso	1	1 (100%)	

4.2. Perfil clínico dos animais.

4.2.1. Animais positivados segundo a raça.

Dentre os animais englobados na pesquisa, 2 (3,3%) são da raça Pastor Alemão, em que 1 (50%) testaram positivo; 15 (25%) são da raça Pastor Belga, em que 2 (13,3%) testaram positivo; 28 (46,7%) são animais Sem Raça Definida (SRD), em que 7 (25%) testaram positivo para a dirofilariose; e os cães das demais raças contempladas – Basset Hound (1), Border Collie (2), Golden Retriever (2), Labrador (1), Pinscher (1), Pitbull (1), Poodle (1), Rottweiler (3), Shar-pei (1), Shitzu (1), Terrier Brasileiro (1) – testaram negativo para a dirofilariose.

Gráfico 03: Relação de animais por raça cujo resultados deram positivo.

RAÇA	TOTAL	POSITIVOS
Pastor Alemão	2	1 (50%)
Pastor Belga	15	2 (13%)
SRD	28	7 (25%)

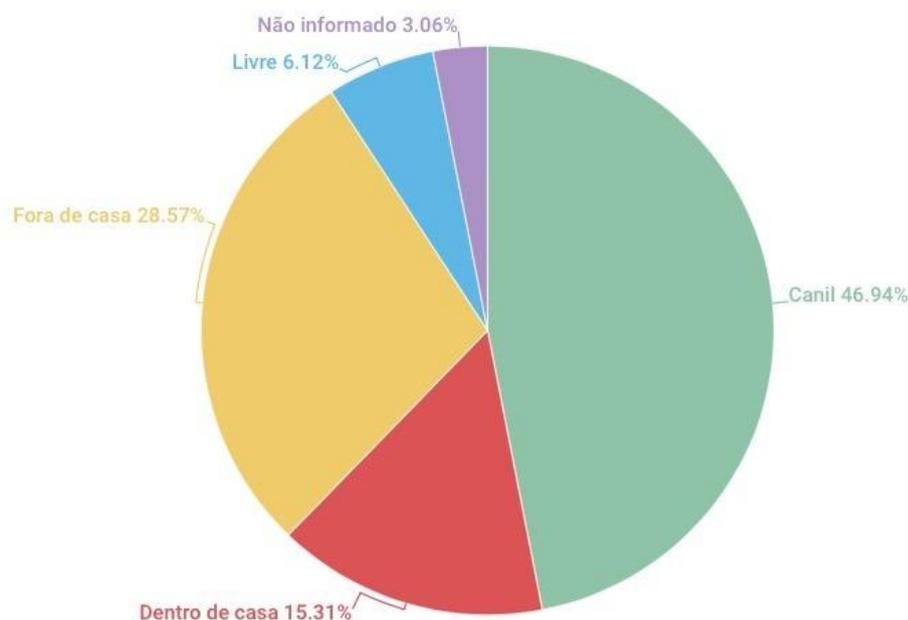
Segundo Salgueiro (2016), os animais que não possuem abrigo permanente, como os cães de caça, pastoreio e competições ao ar livre, são aqueles que apresentam o maior risco de infecção em detrimento de estarem mais expostos ao vetor. Apesar de não existir diferença no processo infeccioso do cão de raça ou sem raça definida, prevê-se que animais de raça são mais susceptíveis a serem tratados por seus proprietários do que os chamados “vira-latas”, sendo um fator relativo ao tutor e não a características intrínsecas do animal em si (CRUZ, 2012) Estudos realizados por pesquisadores da área sugerem uma maior prevalência em cães de pelo curto e de grande porte, podendo ser justificado pelo uso desses animais como cães de guarda e pela maior facilidade de exposição que esses fatores parecem oferecer ao vetor (SARQUIS, 2012). Esse dado também pode ser justificado por serem animais geralmente mantidos com maior frequência fora de casa pela falta de espaço para um cão de porte grande e por estes

possuírem uma maior área útil para o alojamento de vermes em suas câmaras cardíacas (CICARINO, 2009).

4.2.2. Animais positivados segundo seu local de permanência.

De acordo com a avaliação, dentre os animais testados: dos 28 (46,94%) animais que permanecem no canil, 5 (17,85%) testaram como reagentes para os anti-corpos antidirofilaria; dos 9 (15,31%) animais que são mantidos dentro de casa, 1 (11,11%) testaram como reagentes para os anticorpos antidirofilaria; dos 17 (28,57%) animais que ficam fora de casa, 2 (14,28%) testaram como reagentes; dos 4 (6,12%) animais que são livres para ir e vir, 1 (25%) testaram como reagentes para os anticorpos antidirofilaria; e dos 2 (3,06%) animais que não continham informação disponibilizada nas fichas, todos testaram como reagentes para os anticorpos antidirofilaria.

Gráfico 02: Número de animais em % por local de permanência.



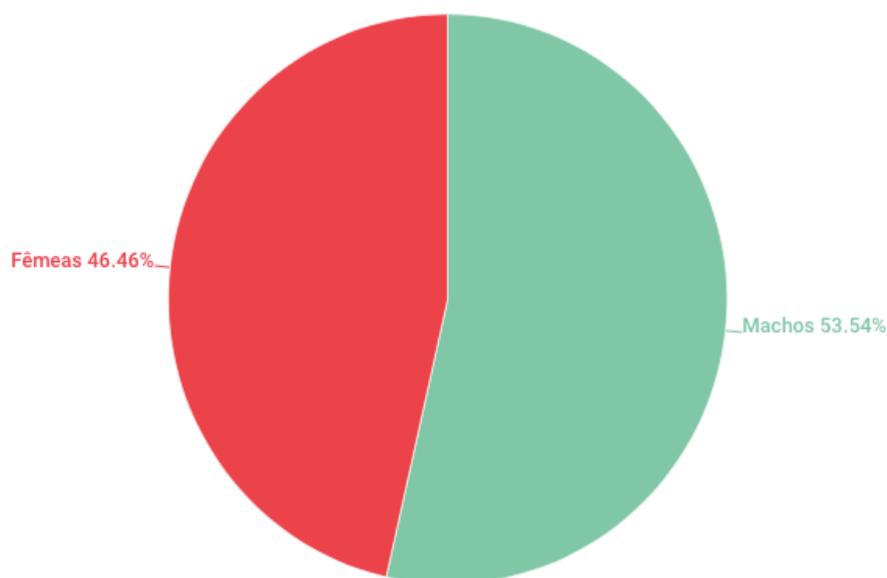
Além de idade, sexo e raça, os fatores de risco de infecção incluem o local de permanência do animal (domiciliados, de rua, abrigados e de permanência em ambientes externos). Estudos apontam que a prevalência da doença pode ser até 50% maior em animais que residem em abrigos do que naqueles domiciliados. É importante

ressaltar que cães cuja permanência em ambientes de área externa ultrapassam a metade de um dia possuem maiores chances de serem diagnosticados com dirofilariose (SARQUIS, 2012).

4.2.3. Animais positivados segundo o sexo.

Dentre os animais selecionados, 32 (53,3%) são machos, dos quais 5 (15,62%) testaram positivo para a dirofilariose, e 28 (46,7%) são do sexo feminino, dos quais 6 (21,42%) testaram positivo.

Gráfico 03: Número de animais contemplados na pesquisa por sexo.

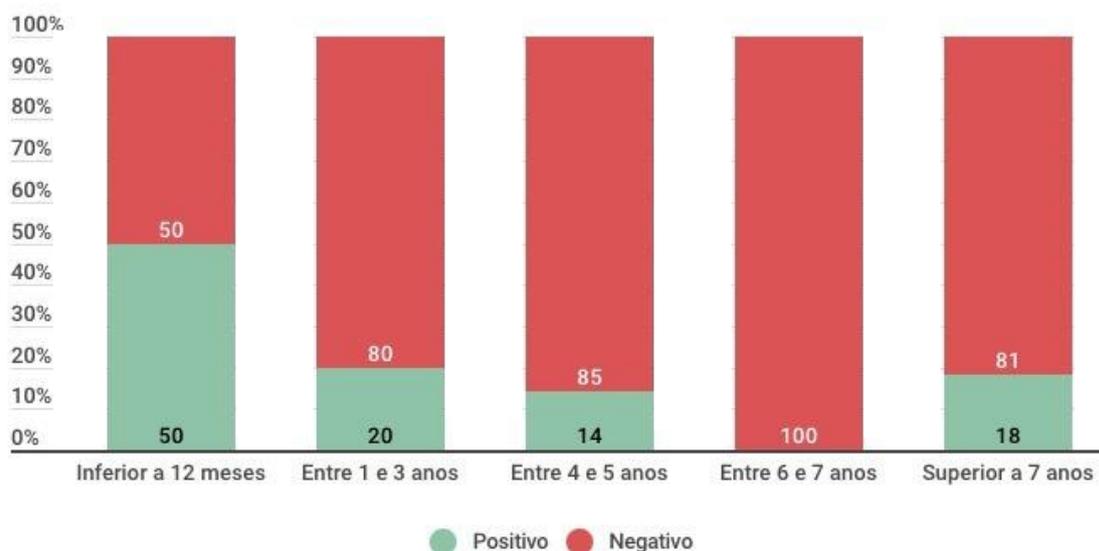


Embora pouco evidente, é verificada uma relativa ao sexo e raça dos animais acometidos pela doença, uma vez que condicionam a aptidão e exposição do animal ao vetor. Com a preferência de tutores por machos para a defesa de propriedades, que consequentemente passam uma maior quantidade de tempo na área externa, os animais do sexo masculino parecem ser os mais acometidos (CRUZ, 2012). Apesar disso, uma maior quantidade de números positivos para a dirofilariose foram encontrados em fêmeas, contradizendo o achado na literatura.

4.2.4. Animais positivados segundo a faixa etária.

Dentro da divisão de faixa etária apresentada no Gráfico 06, foi possível observar que, para a dirofilariose: dentre os 2 (3,4%) animais com idade inferior ou igual a 12 meses, (1) 50% testaram positivo; dentre os 30 (51,7%) animais com idades entre 1 e 3 anos, 6 (20%) testaram positivo; dentre os 7 (12,1%) animais com idades entre 4 e 5 anos, 1 (14,28%) testou positivo; dentre os 8 (13,8%) animais com idades entre 6 e 7 anos, nenhum testou positivo; e dentre os 11 (19%) animais com idade superior a 7 anos, 2 (18,18%) testaram positivo.

Gráfico 04: Relação de resultados positivos e negativos por faixa etária dos animais contemplados na pesquisa em %.



A prevalência se mostra maior em animais com idades entre 3 e 15 anos, especialmente naqueles com idade superior a 6 anos (CRUZ, 2012; SALGUEIRO, 2016). Esse dado pode ser justificado ao se considerar o maior período de exposição do animal ao vetor, com maior número de oportunidades para infecção, aferindo-se que quanto mais velho o cão, maior é a susceptibilidade de exposição à enfermidade (CRUZ, 2012).

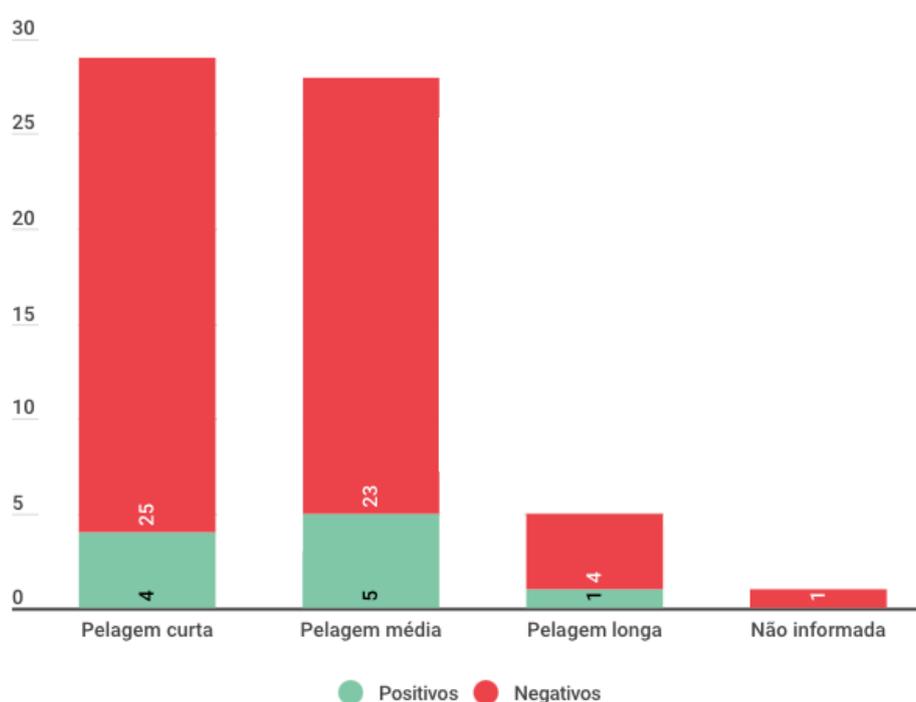
4.2.5. Animais positivados segundo a pelagem.

Dentre os animais cujas amostras foram analisadas, houve uma divisão entre cães de pelo curto, médio e longo, de forma a investigar uma possível relação com a facilidade de

transmissão da doença através do acesso facilitado ou dificultado do vetor à epiderme desses animais.

Segundo os dados obtidos, dos 25 (41,7%) animais de pelagem considerado curta, 4 (16%) testaram positivo para a dirofilariose; dentre os animais 28 (46,7%) considerados de pelagem média, 5 (17,85%) testaram positivo; dentre os 5 (8,3%) animais considerados de pelagem longa, 1 (20%) positivaram para a dirofilariose; e 2 (3,3%) dos animais não tiveram sua pelagem registrada entre os dados obtidos para a pesquisa.

Gráfico 05: Relação de resultados positivos e negativos por pelagem dos animais contemplados na pesquisa.



Os mosquitos parecem mostrar seletividade por áreas com menor quantidade de pelo para realizar o repasse sanguíneo, podendo levar a indagação da possibilidade de os cães de pelagem curta serem mais susceptíveis à doença (CRUZ, 2012).

4.3. Limitações

Assim como qualquer técnica imunológica, o teste não é 100% sensível e 100% específico, podendo haver a ocorrência de resultados falso negativos e/ou falso positivos.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se que o estudo corrobora com outros achados na literatura no que concerne a circulação da dirofilária no território do Distrito Federal, no entanto sugere-se que sejam realizados estudos afim de mapear a prevalência da doença, bem como as áreas de maior risco de transmissão para a dirofilariose.

6. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, L. M. M. **Ocorrência de *Dirofilaria immitis* em cães no semiárido da Paraíba**. Campina Grande: Universidade Federal de Campina Grande, 2014. Disponível em:
http://www.cstroid.sti.ufcg.edu.br/grad_med_vet/mono_2014_1/mono_lucas_medeiros_morais_de_almeida.pdf
- BENDAS, A. J. R. *et al.* Atualização sobre a epidemiologia de *Dirofilaria immitis* na América do Sul e no México: revisão de literatura. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 2017. Disponível em
<https://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/132572>
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA DAS DOENÇAS TRANSMISSÍVEIS. **Levantamento rápido de índices para *Aedes aegypti* (LIRAA) para vigilância entomológica do *Aedes aegypti* no Brasil: metodologia para avaliação dos índices de Breteau e Predial e tipo de recipientes**. Brasília: Ministério da Saúde, 2013. Disponível em:
https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_liraa_2013.pdf Acesso em: 16 ago 2022.
- CICARINO, C. **Dirofilariose canina**. São Paulo: Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas, 2009. Disponível em:
<https://arquivo.fmu.br/prodisc/medvet/cci.pdf> Acesso em: 03 ago 2022.
- COELHO-CASTELO, A. A. M. **Resposta imune a doenças infecciosas**. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 42 (2): 127-42, 2009. Disponível em:
<https://doi.org/10.11606/issn.2176-7262.v42i2p127-142> Acesso em: 01 maio 2021.
- CRUZ, R. L. **Dirofilariose canina**. Évora: Universidade de Évora, 2012. Disponível em:
<http://hdl.handle.net/10174/9923>. Acesso em: 25 abril 2021.
- DANTAS-TORRES, F. *et al.* Dirofilariosis in the americas: a more virulent *Dirofilaria immitis*? **Parasites Vectors** 6, 288, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1756-3305-6-288> Acesso em: 27 abril 2021.
- FUEHRER, H. P.; AUER, H.; LESCHNIK, M.; SILBERMAYR, K.; DUSCHER, G.; JOACHIM, A. *Dirofilaria* in Humans, Dogs, and Vectors in Austria (1978-2014)-From Imported Pathogens to the Endemicity of *Dirofilaria repens*. **PLoS neglected tropical diseases**, 10(5), 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0>
- HOLANDA, L. *at al.* ***Dirofilaria immitis* em cães: revisão de literatura**. Capítulo 7, 2020. Disponível em: 10.47242/978-65-991243-2-7-72.
- MEIRELES, J.; PAULOS, F.; SERRÃO, I. Dirofilariose canina e felina. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, Lisboa, 109 (591-592), 70-78, 2014. Disponível em:
https://www.researchgate.net/profile/Jose-Meireles-3/publication/273100500_MEIRELESJ_PAULOS_F_SERRAOI_Dirofilariose_em_caes_e_gatos_Rev_Port_Cienc_Vet_Fev_RCPV_2014_109_591-592_70-

78_ http://www.fmvutlptspcvPDFpdf12_201470-78pdf/links/54f6eebd0cf21d8b8a5f04a1/MEIRELES-J-PAULOS-F-SERRAO-I-Dirofilariose-em-caes-e-gatos-Rev-Port-Cienc-Vet-Fev-RCPV-2014-109-591-592-70-78-http-wwwfmvutlpt-spcv-PDF-pdf12-2014-70-78pdf.pdf. Acesso em: 25 abril 2021

PEREIRA, B. B. N. **Estudo da *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856) Raillet & Henry, 1911 EM *Felis catus* (Linnaeus, 1758) na região oceânica de Niterói - RJ Brasil.** 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109112>

PITZER, L. B. **Filariose intra abdominal em cão no município de Cabo Frio - RJ: relato de caso.** 2011. Disponível em: <https://www.equalisveterinaria.com.br/wp-content/uploads/2019/01/Lorena-Badaro.pdf>

SALGUEIRO, J. M. **Dirofilariose Canina.** Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, 2016. Disponível em: <https://recil.grupolusofona.pt/bitstream/10437/7254/1/Dissertação%20Joana%20Salgueiro%20PDF.pdf>

SANTOS, L. A. C.; SILVA, F. C.; MONTANHA, F. P. Dirofilariose em pequenos animais - revisão de literatura. **REVISTA CIENTÍFICA ELETRÔNICA DE MEDICINA VETERINÁRIA** – ISSN: 1679-7353 Ano IX – Número 17 – Julho de 2011 – Periódicos Semestral. Disponível em http://faef.revista.inf.br/imagens_arquivos/arquivos_destaque/8vOsNx3Yff5Dez_2013-6-27-15-28-46.pdf

SARQUIS, J. G. **Dirofilariose (*Dirofilaria immitis*) em cães e gatos.** Brasília: Universidade de Brasília, 2012. Disponível em: https://bdm.unb.br/bitstream/10483/4109/1/2012_JulianaGuimaraesSarquis.pdf

SILVA, R. C.; LANGONI, H. Dirofilariose: zoonose emergente negligenciada. **Cienc. Rural**, Santa Maria, v. 39, n. 5, p. 1615-1624, ago. 2009. Disponível em <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782009000500051&lng=pt&nrm=iso>. acessos em 27 abr. 2021. Epub 03-Abr-2009. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782009005000062>.

SILVEIRA, A. R. M. **Dirofilariose canina - revisão bibliográfica.** EUGV - Dissertações do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. 2018. Disponível em: <https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/24446/1/Dissertação%20Ana%20Rira%20Silveira.pdf>

TORRES-CHABLE, O. *et al.* Molecular detection of *Dirofilaria immitis* in dogs and mosquitoes in Tabasco, Mexico. **Journal of vector borne diseases**, 55(2), 151–158, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.4103/0972-9062.242563>

TRANCOSO, T. *et al.* Detection of *Dirofilaria immitis* using microscopic, serological and molecular techniques among dogs in Cabo Frio, RJ, Brazil. **Revista brasileira de parasitologia veterinária** = Brazilian journal of veterinary parasitology : Órgão Oficial do Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 29(1), e017219, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-29612020009>

VIEIRA, V. M. A. **Potencial zoonótico por *Dirofilaria immitis* (LEIDY, 1856) Railliet & Henry, 1911 na Baixada Fluminense do Rio de Janeiro.** 2019. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/37288/2/viviane_vieira_ioc_mest_2019.pdf