

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA CAMPUS II – AREIA-PB CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

JULIETE MARTINHA RODRIGUES CARNEIRO

PESQUISA DE *DIROFILARIA IMMITIS* EM CÃES COM FILAREMIA NO BREJO PARAIBANO

JULIETE MARTINHA RODRIGUES CARNEIRO

PESQUISA DE *DIROFILARIA IMMITIS* EM CÃES COM FILAREMIA NO BREJO PARAIBANO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Paraíba.

Orientador: Prof. Dra. Valeska Shelda Pessoa de Melo

Catalogação na publicação Seção de Catalogação e Classificação

C289p Carneiro, Juliete Martinha Rodrigues.

Pesquisa de *Dirofilaria immitis* em cães com filaremia no Brejo Paraibano / Juliete Martinha Rodrigues Carneiro. - Areia, 2020.

22 f. : il.

Orientação: Valeska Shelda Pessoa de Melo.

1. Dirofilariose. 2. Filarídeo 3. Canídeo 4. Paraíba.

Monografia (Graduação) - UFPB/CCA - Campus II.

I. Melo, Valeska Shelda Pessoa de. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

JULIETE MARTINHA RODRIGUES CARNEIRO

PESQUISA DE *DIROFILARIA IMMITIS* EM CÃES COM FILAREMIA NO BREJO PARAIBANO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Paraíba.

Aprovado em: 24/04/2020.

BANCA EXAMINADORA

Prof Dra. Valeska Shelda Pessoa de Melo (Orientadora) Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Dra. Tereza Emmanuelle de Farias Rotondano UFPB

Tenza Emmonuelle de faiso Robondono

Ma. Monalisa Valesca Soares de Farias Guerra UFPB

Monalisa Valenca Sover de Fariar Guerra



AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre me sustentar ao longo dessa caminhada cheia de tribulações.

A minha amada filha Laura, por ser minha dose diária de motivação e vontade de chegar longe. Você me fez conhecer o amor mais forte que existe.

Ao meu pai, José Carneiro e minha avó Maria das Dores (*in memorian*), por terem sido simplesmente os melhores do mundo.

A minha incrível mãe, Janete, que, com muito carinho, dedicação e eterno apoio, não mediu esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida. Ela sempre foi o meu espelho. Obrigada por todas as vezes que clamei nos momentos de dificuldades e, mesmo de longe, você me acalmava.

A minha irmã Jaqueline, por sempre me ajudar quando preciso e também pelos momentos de felicidade compartilhada.

Ao meu padrasto Severino e minha madrinha Janeide, que me dera todo apoio no decorrer do curso.

A querida professora e minha orientadora Valeska Shelda, pela atenção, apoio, encorajamento e paciência no desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço também à coordenadora doutora Danila Barreiro Campos por toda a presteza durante este processo.

A Tereza e Monalisa por terem aceitado gentilmente participar da banca deste trabalho.

A todos os professores do curso de Medicina Veterinária da UFPB e da UFCG, pois sem eles, eu não teria chegado até aqui.

Aos meus colegas de trabalho do Hospital Veterinário, que estão comigo na luta diária e me incentivam a crescer, que me falam palavras de ânimo quando preciso e enchem meu coração com muito apoio e carinho. Em especial, Tereza, Fabíola, Antônio, Lívia, Ivana, Valdênio, Manuela, Gilma e Betânia.

A colega Maria Bernardino, pela grande inspiração e auxílio neste trabalho.

E por fim, agradeço aos meus animais queridos, inclusive os que já se foram, por serem os incentivos maiores na escolha desta bela profissão.

Enfim, a cada um que contribuiu, ao seu modo, para o meu sucesso deste trabalho.

RESUMO

O parasito do coração do cão, Dirofilaria immitis, é o filarídeo de maior importância na medi-

cina veterinária sendo considerado um dos mais patogênicos e a causa mais comum de hiper-

tensão pulmonar nesta espécie. Objetivando conhecer a frequência de Dirofilaria immitis em

cães atendidos no Hospital Veterinário da UFPB, na microrregião do Brejo da Paraíba, Nor-

deste do Brasil, foram testados 10 cães, sendo 9 machos e 1 fêmea, ambos de raças variadas e

idades superiores a 6 meses, os quais apresentaram microfilaremia em avaliação citológica de

esfregaços sanguíneos dentre um total de 719 cães. A técnica utilizada para diagnóstico soro-

lógico foi o Ensaio de Imunoadsorção ligado à Enzima - ELISA (kit comercial) para detecção

do antígeno do parasito. Nenhum cão obteve resultado positivo na sorologia, o que pode suge-

rir que animais com microfilaremia na região estudada não estejam infectados por D. immitis,

mas possivelmente por outro filarídeo.

Palavras-chaves: Dirofilariose. Filarídeo. Canídeo. Paraíba.

ABSTRACT

The heartworm of the dog, Dirofilaria immitis, is the most important filarid in veterinary med-

icine and is considered one of the most pathogenic parasites and the most common cause of

pulmonary hypertension in this species. In order to find out the frequency of Dirofilaria im-

mitis in dogs attended at the Veterinary Hospital of UFPB, in the Brejo micro-region of Paraí-

ba state, Northeast Brazil, 10 dogs were tested, 9 males and 1 female, both of differ-ent races

and ages, older than 6 months, who presented microfilaremia detected in cytological evalua-

tion of blood smears out of a total of 719 dogs. The technique used for serological diagnosis

was the Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA- comercial kit) that detect the parasite

antigen. No dogs tested positive in serology, which may suggest that animals with microfila-

remia at the region studied are not infected with D. immitis, but possibly with another filarid.

Keywords: Dirofilariosis. Filarid. Canid. Paraíba.

RESUMEN

El parásito del corazón de perro, Dirofilaria immitis, es el filarid más importante en medicina

veterinaria y se considera una de las causas más patógenas y más comunes de hipertensión

pulmonar en esta especie. Con el objetivo de conocer la frecuencia de Dirofilaria immitis en

perros tratados en el hospital veterinario de UFPB, en la micro región de brejo da Paraíba,

Nordeste de Brasil, fueron probados, 10 perros, 9 machos y 1 hembra, de diferentes razas y

edades mayores de 6 meses, que presetaron microfilaremia en evaluación citológica de frotis

de sangre de un total de 719 perros. La técnica utilizada para el diagnóstico serologico fue el

ensayo de immunoadsorción vinculado a la enzima Eliza (kit comercial) para detectar el antí-

geno del parásito. Ningún perro dio positivo en la serología, lo que puede sugerir que los ani-

males con microfilaremia en la región estudiada no están infectados con D. immitis,, pero po-

siblemente por otro filarid.

Palabras clave: Dirofilariasis. Filárido. Cánido, Paraíba

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Ciclo de vida da Dirofilaria immitis.	13
Figura 2- Microfilária em lâmina de esfregaço sanguíneo corada com panótico rápido	15
Figura 3 - Teste IDEXX SNAP 4Dx Plus® de imunoadsorção ligado à enzima (ELISA)	que
detecta antígenos de <i>Dirofilaria immitis</i> .	16

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Pesquisa de antígeno de Dirofilaria immitis e de anticorpos contra Ehrlichia can	ris
Anaplasma platys e Borrelia burgdorferi, em ensaio imunoenzimático SNAP 4I	ΟX
(IDEXX)® em amostras de soro canino de animais atendidos no Hospital Veterinário	da
Universidade Federal da Paraíba (UFPB), campus de Areia, Brejo Paraibano, Nordeste	do
Brasil, entre os meses de maio a outubro de 2017	18

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	MATERIAL E MÉTODOS	14
3	~	
4	CONCLUSÃO	19
5		20

1 INTRODUÇÃO

Dirofilaria immitis e Dipetalonema reconditum são helmintos causadores da filariose em cães e gatos, e produzem microfilárias que circulam no sangue dos hospedeiros naturais (PATTON e FAULKNER, 1992). O parasito do coração do cão, Dirofilaria immitis, é o filarideo de maior importância na medicina veterinária (BOWMAN,2010), sendo considerado um dos parasitas mais patogênicos de cães e a causa mais comum de hipertensão pulmonar nesta espécie.

A diferenciação entre as infecções é extremamente importante, uma vez que infecção por *D. immitis* em cães pode resultar em doença e morte, enquanto a infecção por *D. reconditum* é transitória e sem consequências patológicas (KNIGHT,1987). A dirofilariose manifestase como lesões no endotélio vascular e obstruções mecânicas causadas pelo parasito adulto, sendo encontrado principalmente no ventrículo direito do coração (ACHA,2003). Segundo Nelson e Couto (2015), quanto às manifestações, a infecção pode ser desde assintomática até uma doença grave, inclusive cursando com óbito.

Além disso, no caso de *D. immitis*, há riscos de transmissão ao homem, tendo como resultado a dirofilariose pulmonar, sendo considerada, portanto, zoonose. Neste último caso, caracteriza-se por comprometimento do parênquima pulmonar, na forma de nódulo, frequentemente confundido com neoplasia (RODRIGUES,1995).

A dirofilariose trata-se de uma enfermidade parasitária de distribuição mundial, sendo mais prevalente nas regiões tropicais e subtropicais, as quais possuem condições climáticas favoráveis para o desenvolvimento dos vetores transmissores. No Brasil, essa enfermidade tem uma maior prevalência em áreas costeiras, onde tais vetores são mais abundantes, no entanto, ela pode ser visualizada em áreas distantes do litoral (GARCEZ,2006). Alguns estudos epidemiológicos realizados no litoral do nordeste do Brasil demonstraram a existência de cães infetados por *D. immitis*, tais como, Maceió (AL), prevalência de 1,3% de animais positivos (BRITO,2001) e João Pessoa (PB), prevalência de 0,33% (VIDAL,2014). Ainda na Paraíba, na mesorregião do Sertão, Arcoverde et al. (1994) relataram a ocorrência da infecção em 12,4% de cães no município de Patos, sugerindo que tal helminto pode estar presente em todo estado paraibano. Entretanto, não existem estudos relatados sobre a ocorrência desse parasita em outras mesorregiões paraibanas.

As microfilárias de *D. immitis* são transmitidas por insetos hematófagos da família Culicidae, dos gêneros *Aedes*, *Culex* e *Anopheles*, hospedeiros intermediários, nos quais se completam os estágios larvais (AMERICAN HEARTWORM SOCIETY, 2012). O mosquito he-

matófago fêmea infecta-se quando realiza o repasto sanguíneo num cão microfilarêmico. As microfilárias obtidas desenvolvem-se até o estádio infectante (L3) nos túbulos de Malpighi e depois migram para a cabeça e aparelho bucal do vetor e quando injetadas no cão, tornam-se vermes adultos (BOWMAN,2010). Um esquema de todo o ciclo de vida está relacionado abaixo na Figura 1.

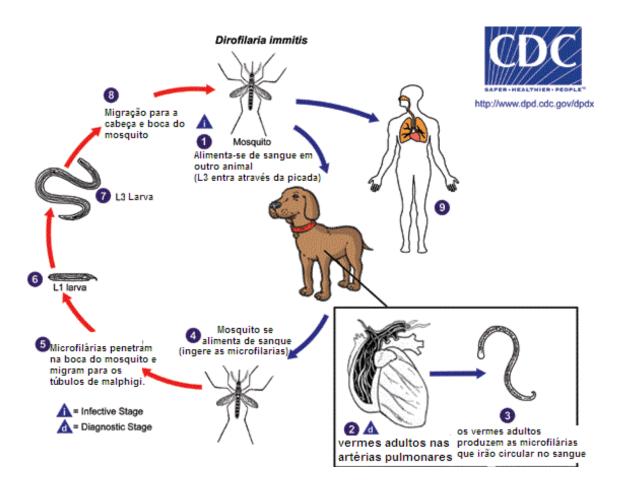


Figura 1 - Ciclo de vida da Dirofilaria immitis.

Fonte: www.prezi.comlqt76 yrqeior propensoes-fisio patogenicas-da-dirofilariose-canina-dirofilaria-immitis-dmvufrpe-2014.

D. reconditum é transmitida por carrapatos, piolhos e pulgas tem como principais vetores as pulgas Ctenocephalides canis, Ctenocephalides felis e Pulex irritans e os piolhos malófagos Trichodectes canis, Heterodoxus spiniger e Linognathus setosus (TAYLOR, 2007).

A presença desses filarídeos circulantes no animal pode ser determinada por meio de diversas técnicas laboratoriais parasitológicas microscópicas, imunológicas e moleculares. As técnicas parasitológicas mais utilizadas são o exame direto do sangue a fresco, técnica de Knott modificada, concentração em filtro com membrana de milipore ou nucleopore, gradiente de densidade por centrifugação e ou gota espessa. As diferentes técnicas apresentam sensibilidades variadas e limitações (BATISTA et al., 2008).

Conforme Nelson e Couto (2015) os testes que pesquisam antígenos (Ag) do parasito na circulação são de extrema importância para um correto diagnóstico em casos de infecções ocultas. Os kits de testes de Ag atualmente disponíveis são altamente precisos e rápidos e o Ag circulante é geralmente detectável com cerca de 6,5 a 7 meses após a infecção. Este método imunológico é indicado para triagem da doença em cães de acordo com a American Heartworm Society (AHS), apresentando elevada precisão, especificidade e maior sensibilidade que os testes de pesquisa de microfilárias. Em comparação à técnica de Knott, ele permite um diagnóstico mais eficiente, uma vez que as microfilárias podem estar ausentes, caracterizando a infecção oculta (FERNANDES,2000).

Diante do exposto, o presente estudo objetivou determinar se *D. immitis* é o principal agente responsável pela filaremia observada em cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), Brejo Paraibano, Nordeste do Brasil.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A área de estudo foi constituída pela microrregião do Brejo Paraibano, que faz parte da mesorregião do Agreste paraibano, Nordeste do Brasil. De acordo com a classificação de Köppen, apresenta clima definido como As: quente e úmido. A temperatura média anual da região é de 24°C e a umidade relativa do ar tem média anual em torno de 80% de acordo, Instituto Nacional de Meteorologia A vegetação é intermediária e contrasta entre mata úmida (floresta) e algumas espécies de caatinga.

Durante o período de maio a outubro de 2017 foram coletadas e analisadas amostras de sangue oriundas de 719 cães domiciliados, machos e fêmeas, de raças e idades variadas, atendidos na rotina médica do Hospital Veterinário da UFPB. Foi realizada avaliação citológica de esfregaços de sangue circulante e periférico, este obtido em ponta de orelha, corados por meio de panótico rápido e observados em microscopia óptica (Figura 2). Dentre estes, os soros dos animais microfilarêmicos foram testados utilizando-se o Snap® 4Dx Plus (IDEXX® Laboratories, EUA) para pesquisa de antígeno de *D. immitis*, seguindo as instruções do fabricante (Figura 3). O teste consiste em um ensaio de imunoadsorção ligado à enzima (ELISA) e possui 99% de sensibilidade e 99,3% de especificidade na detecção de antígenos do parasita (27). Além de detectar antígeno do parasito em questão, o teste identifica anticorpos contra *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* e *Borrelia burgdorferi*, em uma única amostra de sangue (Tabela 1).

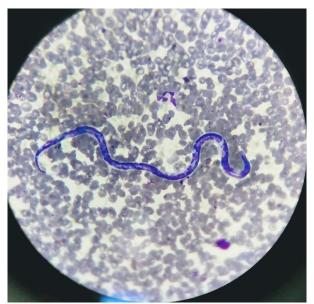


Figura 2- Microfilária em lâmina de esfregaço sanguíneo corada com panótico rápido

Imagem cedida pelo Laboratório de Medicina Veterinária Preventiva do CCA - UFPB

Figura 3 – Teste IDEXX SNAP SNAP 4Dx Plus® de imunoadsorção ligado à enzima (ELISA) que detecta antígenos de *Dirofilaria immitis*.



 $Fonte: \underline{https://www.idexx.com.br/pt-br/veterinary/support/documents-resources/snap-4dx-plus-test-resources/}\\$

A execução, leitura e interpretação dos testes foram realizadas no Laboratório de Patologia Cínica do Hospital Veterinário da UFPB/Centro de Ciências Agrárias (CCA)- CAMPUS II- Areia- PB.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os fatores demográficos, em conjunto com os climáticos e sazonais, influenciam na prevalência da dirofilariose, que tem ocorrido mais frequentemente em cidades litorâneas de clima quente, entretanto, muitos casos têm sido relatados em regiões de interior, portanto, longe da área costeira (CICARINO,2009)). Na região investigada no presente trabalho, nenhum estudo foi realizado anteriormente, sendo esta investigação da zoonose de extrema importância para o desenvolvimento de estratégias de controle eficientes.

O inquérito hemoscópico do presente estudo revelou, nas 719 amostras sanguíneas coletadas no período de maio a outubro de 2017, a presença de microfilárias circulantes em 10 amostras (1,2%). Destes, nove eram machos e um era fêmea e apenas um animal tinha raça definida. Conforme suas fichas clínicas, os animais não apresentavam sinais de comprometimento cardiopulmonar, sugestivos de dirofilariose.

Entre as amostras testadas, nenhum animal foi positivo para *D. immitis* (tabela 1), o que pode referir infecção por outro filarídeo. Um estudo de prevalência realizado em 2014 por Vidal, na cidade de João Pessoa, neste mesmo estado, verificou baixa frequência de cães infectados, apesar de se tratar de uma região litorânea com condições favoráveis ao desenvolvimento do parasito. As técnicas utilizadas para o diagnóstico foram o método de Knott modificado para pesquisa de microfilárias e o teste ELISA para pesquisa do antígeno do parasita. Dentre 301 cães examinados, apenas um animal obteve resultado positivo no teste parasitológico e sorológico, o que refere uma prevalência de 0,33% para a dirofilariose canina nesta área.

Pode-se considerar, pelos resultados obtidos no presente trabalho e por Vidal (2014), a possibilidade do Estado da Paraíba estar passando por um declínio dessa modalidade de infeção após altos índices registrados na década de 90. Nesta época, um estudo realizado por Arcoverde et al. em (1994), no Sertão da Paraíba, apresentou uma prevalência de 12,4% para *D. immitis* em pesquisa realizada pela técnica de Knott. Essa diminuição da prevalência foi constatada em diversos estados do Brasil após o ano 2000, como observado por Carlos et al. (2007), que obtiveram uma prevalência de 0% em Ilhéus e Itabuna no Estado da Bahia. No estado do Rio de Janeiro, Labarthe e Guerrero (2005) também relataram uma redução de 21,34% em 1990 para 3,8% em 2003, e da mesma forma, de 37% para 15% em Itacoatiara e de 43,4% para apenas 0,6% em Niterói. No Paraná, Cirio (2005) e Leite (2007) também encontraram baixas prevalências de *D. immitis* em cães semi-domiciliados (1,0% e 0,9%) e domiciliados (4,2% e 3,0%), respectivamente. No entanto, alguns anos depois, novas evidências

indicaram que o parasito ainda estava presente e que as taxas de infecção canina pareciam estar aumentando. Usando teste de imunocromatografia para detecção de antígeno, foram testados cães de 15 cidades localizadas em diversas áreas litorâneas do Brasil e obteve-se uma prevalência geral de infecção de 23,1%. No Nordeste, a prevalência combinada das 4 cidades investigadas foi de 29,7% (LABARTHE, 2014). Isso demonstrou que a redução observada no início do novo milênio foi substituída por um aumento da presença do parasito em todo o Brasil.

Com relação ao método sorológico de diagnóstico utilizado neste trabalho, o ELISA, as vantagens do seu uso foram reafirmadas por um estudo comparativo de técnicas para o diagnóstico de filariose onde houve, através desta técnica, detecção de dirofilariose oculta em 30,7% dos animais. Assim, o teste configurou-se como de extrema importância para captura de antígenos no diagnóstico clínico e em estudos epidemiológicos da dirofilariose canina (TRANCOSO, 2017). Uma vez que menos de 1% das infecções são sintomáticas, a pesquisa de antígeno irá detectar maior número de infecções do que as técnicas que identificam apenas microfilárias (MCCAL, 2024).

No tocante à possibilidade da microfilaremia ocorrer por outro filarídeo, em entrevista realizada com os proprietários nesse estudo, observou-se que a totalidade deles (100%) afirmou que seus cães apresentavam ou já apresentaram pulgas e/ou carrapatos como ectoparasitas e ainda se constatou que metade deles não utilizava nenhum método para controle destes artrópodes. Considerando o fato dos mesmos serem vetores do *D. reconditum* (TAYLOR, 2007), pode-se constatar, na amostra obtida, a grande probabilidade da infecção ocorrer por este helminto.

Um outro ponto importante a ser considerado é que 7 dos 10 animais (70%) nunca tinham passado por nenhuma avaliação médica veterinária, o que pode ser explicado pelo fato das amostras serem oriundas, em sua maioria, de famílias de baixa renda, que recebiam até no máximo dois salários mínimos. Desta forma, o controle de ectoparasitas, o diagnóstico e prevenção de doenças não ocorrem, favorecendo, nestes animais, a ocorrência e transmissão de afecções como a filariose por *D. reconditum*.

É importante considerar que resultados negativos no teste ELISA não excluem a infecção, pois podem ocorrer resultados falsos-negativos em técnicas imunológicas, quando os cães apresentam carga parasitária muito baixa (GOODWIN, 1998). As técnicas para pesquisa de antígeno disponíveis no mercado para *D. immitis* podem identificar, de forma confiável, infecções pela presença de, no mínimo, 2 a 3 parasitos fêmeas adultos no cão (GENCHI et al., 2007).

Adicionalmente, estudos realizados recentemente relataram que um aquecimento prévio das amostras de soro promove aumento na positividade, embora o mecanismo ainda não tenha sido totalmente elucidado. Os autores sugeriram que esse aumento estaria associado à ruptura de complexos imunes após o aquecimento (LITTLE et al., 2014). Este método é referido como dissociação do imunocomplexo (ICD) e seu uso deve ser considerado quando os sinais clínicos, histórico, exame físico e/ou resultados laboratoriais não condizem com os resultados negativos. Há uma grande possibilidade desses complexos ocorrerem em animais com doenças inflamatórias crônicas que estimulam o sistema imunológico e nestes casos o ICD deve ser realizado para um diagnóstico mais seguro (IDEXX, 2017).

Um estudo posterior utilizando a técnica molecular de Reação em Cadeia da Polimerase PCR pode ser realizado, pois este método de diagnóstico tem demonstrado resultados específicos e sensíveis mesmo em situações de carga parasitária muito baixa (SIMSEK et al, 2011).

Além do antígeno *D. immitis*, o teste em questão detecta anticorpos contra outros patógenos, como sinal de doença presente ou passada. A maioria dos animais apresentou positividade para *Ehrlichia canis* (90%), enquanto 50% destes foram positivos para *Anaplasma platys*. Os resultados podem ser observados na tabela 1.

Tabela 1- Pesquisa de antígeno de *Dirofilaria immitis* e de anticorpos contra *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys* e *Borrelia burgdorferi*, em ensaio imunoenzimático SNAP 4DX (IDEXX)[®] em amostras de soro canino de animais atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), campus de Areia, Brejo paraibano, Nordeste do Brasil, entre os meses de maio a outubro de 2017.

	D. immitis	Ehrlichia canis/	Anaplasma	Borrelia
		E. ewingii	phagocytophilum/	burgdorferi
			A. platys	
Positivo	0/10	9/10 (90%)	5/10 (50%)	0/10
Negativo	10/10 (100%)	1/10 (10%)	5/10 (50%)	10/10 100%)

5 CONCLUSÃO

Não houve detecção de infecção por *D. immitis*, pela técnica imunoenzimática, para pesquisa de antígeno em cães com microfilaremia residentes no Brejo Paraibano.

Outros filarídeos podem ser responsáveis pela microfilaremia presente nos canídeos dessa região, necessitando da realização de estudos de prevalência, utilizando técnicas de diagnóstico mais específicas.

A detecção de microfilárias em esfregaços sanguíneos corados, muitas vezes leva os médicos veterinários a iniciarem protocolos terapêuticos para a dirofilariose. E, como observado nesse estudo, esse achado pode não estar associado à infecção por *D. immitis*, necessitando de outros métodos de diagnóstico antes da instituição de tratamentos.

REFERÊNCIAS

ACHA, P.N.; SZYFRES, B. Filariasis zoonóticas. In: ______. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales.** 3.ed. Washington: OPS, 2003. V.3, p.284-291.

AMERICAN HEARTWORM SOCIETY. Current Canine Guidelines for the Diagnosis, Prevention and Management of Heartworm Disease (*Dirofilaria immitis*) Infection in Dogs, jan. 2012. Disponível em:http://www.heartwormsociety.org/>. Acesso em: 05 de abril de 2020.

ARCOVERDE, M. et al. Prevalência de microfilárias em cães no município de Patos no Estado da Paraíba. In: **XXIII CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA**, 210, 1994, Olinda. Anais... Olinda: 1994.

BATISTA, N.C. et al. Utilização de Kit commercial Antigen Rapid *Dirofilaria immitis* AG® em comparação com a técnica de Knott modificada no diagnostic da incidencia em cães portadores da dirofilariose. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.2, n.3, p. 78-79, 2008.

BOWMAN, D. D. **Georgis – Parasitologia Veterinária.** Tradução de da 9ª Edição. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

BRITO, A.C. et al. Prevalência da filariose canina causada por *Dirofilaria immitis* e *Dipetalonema reconditum* em Maceió, Alagoas, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**. n. 17,p. 1497-1504, 2001.

CARLOS R.S.A., Neta E.S.M., Spagnol F.H., Oliveira L.L.S., Brito R.L.L., et al. Frequência de anticorpos anti-erhlichia canis, borrelia burgdorferi e antígenos de Dirofilaria immitis em cães na microrregião Ilhéus-Itabuna, Bahia, Brasil. Rev. Bras. Parasitol. Vet 2007; 16 (3): 117-120.

CICARINO, Carla., **Dirofilariose Canina**. São Paulo: Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas, 2009.

CIRIO S.M. Epidemiologia e clínica de cães portadores de dirofilariose em espaços urbanos de município dolitoral do Paraná e aspectos da histologia de Culexquinquefasciatus (Say, 1823) (Diptera, Culicidae). [Tese]. Curitiba: (Doutorado em Ciências Biológicas) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná; 2005

FERNANDES, C. G. N. et al. Aspectos epidemiológicos da dirofilariose canina no perímetro urbano de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil: emprego do "Immunoblot" e do teste de Knott modificado.**Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v. 37, n. 6, p.: 1-10, 2000.

FERREIRA A. F.; BARBOSA F. C.; MASTRANTONIO E. C. Ocorrência da dirofilariose canina na cidade de Uberlândia, MG, Brasil. **Vet Notícias.** v.5(1). p. 57-61, 1999.

GARCEZ. L. M et al. Focos de dirofilariose canina na Ilha do Marajó: um fator de risco para a saúde humana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.39, n.4,p.:333-336, 2006

GENCHI, C.; VENCO, L.; GENCHI, M. Guideline for the laboratory diagnosis of canine and feline Dirofilaria infections. In: GENCHI, C.; RINALDI, L.; CRINGOLI, G. **Mappe parassitologiche. Dirofilaria: Dirofilaria immitis and D. repens in dog and cat and human infections**. Naple: Rolando Editore, v. 8, p. 137-144, 2007.

GOODWIN, J.K. The Serologic diagnosis of heartworm Infection in dogs and cats. **Clinical Techniques Small Animal Practice**. v.13, n. 2, p. 83-87, 1998.

IDEXX. Using heat treatment for immune-complex dissociation in challenging heartworm cases., 2017. Disponível em: < https://www.idexx.com.br/files/heat-treatment-for-immune-complex.pdf>. Acesso em 19/04/2020.

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

LABARTHE N., GUERRERO, J. Epidemiology of heartworm: what is happening in South America and Mexico? Veterinary Parasitology 2005; 133: 149–156.

LABARTHE, N. V. et al. Updated canine infection rates for Dirofilaria immitis in areas of Brazil previously identified as having a high incidence of heartworm-infected dogs. Parasite & Vectors, 2014, Disponível em:

http://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-014-0493-7. Acesso em 17 de abril de 2020.

LEITE L.C., Navarro-Silva MA, Luz E. Prevalence of Dirofilaria immitis (Leidy,1856) in dogs of canil municipal Guaratuba, Paraná, Brazil. Estudo Biológico 2007; 29(66) 73-79.

LITTLE, S.E.; MUNZINGB, C.; HEISEA, S.R.; ALLENA, K.E.; STARKEYA, L.A.; JOHNSONA, E.M.; MEINKOTHA, J.; REICHARDA, M.V. Pre-treatment with heat facilitates detection of antigen of Dirofilaria immitis in canine samples. Veterinary Parasitology. v. 203, p. 250-252, 2014.

MCCALL, J.W.; et al. Recent advances in heartworm disease. **Veterinary Parasitology**. v.125, p.105-130, 2004.

NELSON, R. W; COUTO, C.G. **Tratado de Medicina Interna de Pequenos animais**. Tradução da 5ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2015.

PATTON, S.; FAULKNER, C. T. Prevalence of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum* infection in dogs: 805 cases (1980-1989). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.200, p.:1533-1534, 1992

RODRIGUES, S. et al. Human pulmonary dirofilariasis: A review. **Revista do Instituto de Medicina Tropical**, 35:523-530, 1995.

SIMSEK, S; OZKANLAR, Y; BALKAYA, I; AKTAS, M.S. Microscopic, serologic and molecular surveys on Dirofilaia immitis in stra dogs, Turkey. Veterinary Parasitology. v. 183, p. 109 – 113, 2011.

TAYLOR, M. A.; COOP, R. L.; WALL, R. **Parasitologia veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007VIDAL, I. F. **Dirofilariose canina no litoral da Paraíba**. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). UFCG, Patos, 2014.

TRANCOSO, T. A. L. Comparação de técnicas para o diagnóstico de filarioses caninas. Dissertação (Mestrado em Parasitologia). UFF, Niterói, 2017.

VIDAL, I. F. **Dirofilariose canina no litoral da Paraíba**. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária). UFCG, Patos, 2014.