

MARCO ANTÔNIO GRANJA BARBOSA

**AVALIAÇÃO CLÍNICA, HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA SÉRICA DE CÃES  
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE, POR VIA INTRAVENOSA, COM  
EXTRATO BRUTO DE *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)**

RECIFE - PE

2004

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA

**AVALIAÇÃO CLÍNICA, HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA SÉRICA DE CÃES  
INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE, POR VIA INTRAVENOSA, COM  
EXTRATO BRUTO DE *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)**

Dissertação apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em  
Ciência Veterinária da Universidade  
Federal Rural de Pernambuco, como  
requisito para obtenção do grau de  
mestre.

Mestrando: Marco Antônio Granja Barbosa

Orientador: Prof. Dr. Leucio Câmara Alves

Recife - Pernambuco  
2004

**Catálogo na Fonte**  
**Setor de Processos Técnicos da Biblioteca Central – UFRPE**

B238a	<p>Barbosa, Marco Antônio Granja Avaliação clínica, hematológica e bioquímica sérica de cães inoculados experimentalmente com extrato bruto de <i>Dirofilaria immitis</i> (Leidy, 1856) / Marco Antônio Granja Barbosa -2004. f.:49il.</p> <p>Orientador: Leucio Câmara Alves Dissertação (Mestrado em Ciência Veterinária) – Universidade Federal Rural de Pernambuco. Departamento de Medicina Veterinária. Inclui bibliografia e anexo.</p>
-------	--

CDD 636.708 96

1. Choque
2. Dirofilariose
3. Caninos
4. Clínica Médica
5. Hematologia
6. Bioquímica

- I. Alves, Leucio Câmara
- II. Título

AVALIAÇÃO CLÍNICA, HEMATOLÓGICA E BIOQUÍMICA SÉRICA  
DE CÃES INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE, POR  
VIA INTRAVENOSA COM EXTRATO BRUTO DE  
*Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)

·  
·

Dissertação de Mestrado elaborada por

MARCO ANTÔNIO GRANJA BARBOSA

Aprovada pela  
BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Leucio Câmara Alves - UFRPE

---

Prof. Dr. Frederico Celso Lyra Maia - UFRPE

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Miriam Nogueira Teixeira - UFRPE

---

Prof. Dr<sup>a</sup>. Silvana Suely de Assis Rabelo - UFRPE

Recife-2004

# SUMÁRIO

	Página
1. <b>INTRODUÇÃO</b>	01
2. <b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	03
2.1 O parasito	03
2.2 Distribuição geográfica	03
2.3 Sinais clínicos e tratamento	03
2.4 Alterações nos parâmetros hematológicos e bioquímicos em animais submetidos ao tratamento	05
3 <b>MATERIAL E MÉTODOS</b>	06
3.1 Primeira etapa.	06
3.2 Segunda etapa	07
3.2.1 Local do experimento	06
3.2.2 Animais	07
3.2.3 Formação dos grupos experimentais	07
3.2.4 Preparação do extrato bruto (EB) de <i>Dirofilaria immitis</i>	08
3.2.4.1 Obtenção dos nematóides	08
3.2.4.1 Classificação e sexagem dos nematóides	08
3.2.4.2 Preparo do extrato bruto (EB) de <i>Dirofilaria immitis</i>	08
3.2.5 Inoculação dos grupos GE e GC	09
3.2.6 Avaliação dos parâmetros clínico, hematológico e bioquímico	09
3.2.7 Avaliação clínica	10
3.2.8 Coleta de sangue para hemograma	10
3.2.9 Coleta de sangue para bioquímica sérica	10
3.2.10 Processamento das amostras	11
3.2.10.1 Hemograma	11
3.2.10.2 Bioquímica sérica	11
3.2.11 Análise estatística	11
4 <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	12
4.1 Achados clínicos	12
4.2 Eletrocardiograma	17
4.3 Hemograma	19

4.4	Bioquímica sérica	22
5	<b>CONCLUSÃO</b>	23
6	<b>REFERÊNCIAS BIBILOGRÁFICAS</b>	24
7	<b>ANEXOS</b>	31

À minha mãe, a quem peço a Deus...  
que me dê o privilégio de viver mais tempo a seu lado...  
perdão pelos meus erros como filho,  
e mais do que nunca, agradeço todos os dias pela minha  
vida!

À meu pai, *in memoriam*, exemplo de pessoa, caráter e  
força, obrigado pai, por me ter preparado para a vida.

DEDICO

Aos meus avós maternos, Elísio e  
Dorinha, *in memoriam*, a quem  
sempre amei, e sempre depositaram  
esperanças em mim.

DEDICO



A Neide Magnata, *in memoriam*,  
nossa grande amiga que nos deixou  
este ano, que tanto me apoiou em  
todos os sentidos, tenho certeza que  
você iria gostar de compartilhar  
nossa felicidade hoje.

DEDICO

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus acima de tudo, pois ele, fonte da minha vida, sempre esteve ao meu lado nas horas que mais precisei, iluminando meu caminho e das pessoas que estão ao meu lado.

Agradeço a minha mãe e meu pai, pois eles, me deram uma formação cristã e educacional, sempre fizeram o possível e o impossível para que eu um dia fosse alguém. Infelizmente meu pai não está entre nós para presenciar este momento e ver o quanto seu esforço valeu. Mas mãe, te dedico este momento, pelo teu sonho que nunca se concretizou, pela força que tens, e por tudo que fez e ainda faz por mim. Muito obrigado.

A minha tia Neide Granja, pela ajuda e apoio em muitos momentos deste curso de pós-graduação.

Ao meu amigo, professor e orientador Rinaldo Aparecido Mota, exemplo de pessoa, que sempre esteve pronto a me ajudar, despertando-me o interesse pela pesquisa durante o ESO, onde tanto aprendi. Recebeu-me como seu orientado de mestrado, onde tive a imensa satisfação de trabalhar com ele. Gostaria que você soubesse o quanto isso foi importante na minha vida e sempre vou ser-lhe grato por tantas coisas que fizeste por mim, na minha formação e carreira profissional. Que Deus continue iluminando seu caminho e fazendo com que você seja a pessoa simples, humilde, honesto, dedicado, amigo e um grande orientador.

Não teria palavras para agradecer a um grande mestre, que tantos orientou, inclusive outros grandes mestres. Na condição de orientador, nada é impossível, uma frase que aprendi a ouvir e ter isso como lição, querer é poder, sempre. Nunca faltou-me qualquer coisa a qual precisasse, fosse ajuda nas burocracias do experimento, ajuda profissional e muitas vezes, pessoal. Sua dedicação a uma vida toda a educar, orientar e ver frutos inúmeros deste trabalho. Sua cobrança é diretamente proporcional a sua capacidade como orientador, mas percebamos o quanto isto nos faz melhores, e o quanto isto um dia nos servirá de exemplo. Como amigo, é aquele que podemos contar a qualquer hora, nunca deixou de nos receber em quaisquer ocasiões, sempre extrovertido e receptivo, acessível a todos. Professor Leucio Câmara Alves, muito obrigado por ter

conduzido minha orientação no final do meu mestrado, de coração muito obrigado, por ser um grande mestre, e um grande amigo.

Agradeço a professora Miriam Nogueira Teixeira, quem primeiro me acolheu como orientado, mesmo sem me conhecer. Sem você não teria começado.

Aos amigos do Laboratório de Bacterioses dos Animais Domésticos, José Wilton Junior, David Rubem, Sineide, Paulo César, José Sérgio e Manuela, obrigado pelos bons momentos durante a nossa convivência no laboratório, amizade e força.

Aos amigos do Laboratório de Doenças Parasitárias: Marilene, Vânia, Alessandra Ribeiro, Alessandra D'Alencar, Rafael e Wagner todos que fazem parte deste, em especial as minhas grandes amigas, Bárbara Novaes, Fabiane Aragão, Nair Lira, que durante a minha estada no Laboratório de Doenças Parasitárias me ajudaram tanto e estiveram sempre prontas a me ajudar. Meu muito obrigado pela atenção e carinho que sempre tiveram por mim.

A minha amiga inseparável Éricka Albuquerque, que desde os tempos de Pibic esteve ao meu lado, e que esteve também presente nos momentos deste experimento.

Agradeço a todos os funcionários do departamento, em especial a Guiomar, que sempre me ajudou quando ninguém podia ajudar.

Ao meu amigo Fábio Brito, grande amigo desde o início dos tempos de faculdade, o qual aprendi a respeitar, e gostar.

À minha amiga Andréa Paiva, pela grande ajuda em todos os momentos deste trabalho.

À professora Maria Aparecida Faustino, que sempre esteve pronta a ajudar em todos os momentos em que fui aluno da pós graduação e pela sua receptividade no laboratório.

Aos professores da Área de Anatomia Patológica por ceder o espaço para a realização do experimento, obrigado pela amizade e consideração.

Aos Professores, co-orientadores Leonildo Bento e Silvana Sueli, que tanto fizeram por mim, e que me deram oportunidades no estágio docência.

Ao Dr. Gustavo Gouveia, Dra. Ana Paula e ao Dr. Bruce Lins, grandes amigos, que entenderam a importância deste trabalho para mim e me acolheram tão bem, como pessoa e profissional.

A Dra. Michele Moreira que ajudou na preparação do extrato, uma valiosa ajuda na realização deste estudo.

Aos amigos Júlio e Flávia que me ajudaram no processamento das amostras, vocês fizeram parte disso tudo também.

À Denisson, que esteve presente em todos os momentos do experimento, no tratamento dos cães, transporte, e nunca se ausentou um minuto. Você se tornou um grande amigo.

À Dra. Ana Paula, da empresa Socil, que gentilmente nos cedeu a ração para os cães do experimento.

À Dra. Ana Elisabeth Gurgel, da empresa Bayer, pela doação dos vermífugos utilizados no trabalho de preparação dos cães.

A uma pessoa muito especial, Késia Pontual, que sempre me deu apoio desde o ESO e sempre esteve presente nos momentos felizes e tristes, durante a minha caminhada na universidade.

À CAPES, pela bolsa concedida que foi de grande ajuda na realização deste trabalho.

## RESUMO

Foram realizados estudos em dois grupos de caninos, machos, sem raça definida, sendo um grupo experimental composto de seis animais e dois animais no grupo controle, os quais foram inoculados com extrato bruto de fêmeas de *Dirofilaria immitis* e solução salina respectivamente, com objetivo de avaliar as alterações clínicas, hematológicas e bioquímico séricas. A frequência dos sinais clínicos apresentados durante o choque foram monitoradas, assim como as modificações nos parâmetros eletrocardiográficos, hematológicos, bioquímico séricos no período compreendido entre cinco minutos a 24 horas após o início do experimento. Os resultados foram analisados através dos testes de Wilcoxon e Mann-Witney para as alterações clínicas, hematológicas e bioquímicas, e o teste de Fischer para os valores do eletrocardiograma. Sinais clínicos compatíveis com choque como palidez das membranas mucosas visíveis e distúrbios respiratórios, foram observados em todos os animais inoculados com extrato bruto de *Dirofilaria immitis*. Diferença significativa foi observada não apenas entre a contagem de linfócitos e os valores de CK, mas também na contagem total de hemácias e na contagem absoluta de eosinófilos. Os resultados indicam que substâncias presentes nos nematóides fêmeas foram responsáveis pelo aparecimento de choque.

## ABSTRACT

Studies were performed in two groups of mixed-breed male dogs containing six (Experimental Group) and two (Control Group) animals which were administered IV a crude, whole-body extract of female heartworms or saline solution respectively. The frequency of clinical signs and shock-like reaction as well as changes in clinical parameters such as electrocardiographic record, RBC and WBC counts, serum alanine amino transferase, aspartate amino transferase, creatine phosphokinase and also urea were monitored. The results had been analyzed by the test of Wilcoxon e Mann-Whitney for Clinical hematological, clinical chemistry and by the test of Fischer to electrocardiographic values respectively. Shock with clinical signs such as the pale color of the visible mucous membranes, respiratory disorders, developed in all crude, whole-body extract inoculated dogs. It was observed a significative difference not only between the lynfocytes count and CPK values but also with RBC and eosinophil count absolute. These results indicated that some products present on whole-body extract of female heartworms might be responsible for the onset of shock in dogs.

## LISTA DE TABELA

Tabela 1	Sinais Clínicos observados em cães submetidos à inoculação de Extrato Bruto de <i>Dirofilaria immitis</i> Recife, 2004.	13
----------	---	----

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1	Tabela 2- Sinais clínicos em cães inoculados experimentalmente com EB de <i>Dirofilaria immitis</i>	32
Anexo 2	Tabela 3- Sinais clínicos em cães cinco minutos após inoculação experimental com EB de <i>Dirofilaria immitis</i>	33
Anexo 3	Tabela 4- Sinais clínicos em cães 15 minutos após inoculação experimental com EB de <i>Dirofilaria immitis</i> .	34
Anexo 4	Tabela 5- Sinais clínicos em cães 30 minutos após inoculação experimental com EB de <i>Dirofilaria immitis</i> .	35
Anexo 5	Tabela 6- Sinais clínicos em cães 60 minutos após inoculação experimental com de <i>Dirofilaria immitis</i> .	36
Anexo 6	Tabela 7- Sinais clínicos em cães 120 minutos após inoculação experimental com EB de <i>Dirofilaria immitis</i>	37
Anexo 7	Tabela 8- Sinais clínicos em cães 24 horas após inoculação experimental com EB de <i>Dirofilaria immitis</i>	38
Anexo 8	Tabela 9- Variáveis do eletrocardiograma observadas em cães submetidos a inoculação de Extrato Bruto de <i>Dirofilaria immitis</i> . Recife, 2004.	39
Anexo 9	Tabela 10- Variáveis do eletrocardiograma de caninos após 5 minutos da inoculação experimental, por via intravenosa de extrato de <i>Dirofilaria immitis</i> .	40
Anexo 9	Tabela 11- Variáveis do eletrocardiograma de caninos após 15 minutos da inoculação experimental, por via intravenosa de extrato de <i>Dirofilaria immitis</i> .	40
Anexo 10	Tabela 12- Variáveis do eletrocardiograma de caninos após 30 minutos da inoculação experimental, por via intravenosa de extrato de <i>Dirofilaria immitis</i>	41
Anexo 10	Tabela 13- Variáveis do eletrocardiograma de caninos após 60 minutos da inoculação experimental, por via intravenosa de extrato de <i>Dirofilaria immitis</i>	41
Anexo 11	Tabela 14- Variáveis do eletrocardiograma de caninos após 120 minutos da inoculação experimental, por via intravenosa de extrato de <i>Dirofilaria immitis</i>	42
Anexo 11	Tabela 15- Variáveis do eletrocardiograma de caninos após 24 horas da	42

inoculação experimental, por via intravenosa de extrato de *Dirofilaria immitis*.

Anexo 12	Tabela 16- Variáveis hematológicas de caninos observados em cães submetidos a inoculação de Extrato Bruto de <i>Dirofilaria immitis</i> . Recife, 2004.	43
Anexo 12	Tabela 17- Variáveis hematológicas de animais após 5 minutos da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de <i>Dirofilaria immitis</i>	43
Anexo 13	Tabela 18- Variáveis hematológicas de animais 15 minutos horas da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de <i>Dirofilaria immitis</i>	44
Anexo 13	Tabela 19- Variáveis hematológicas de animais após 30 minutos da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de <i>Dirofilaria immitis</i>	44
Anexo 14	Tabela 20- Variáveis hematológicas de animais após 60 minutos da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de <i>Dirofilaria immitis</i>	45
Anexo 14	Tabela 21- Variáveis hematológicas de animais após 120 minutos da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de <i>Dirofilaria immitis</i>	45
Anexo 15	Tabela 22- Variáveis hematológicas de animais após 24 horas da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de <i>Dirofilaria immitis</i>	46
Anexo 16	Tabela 23 Variáveis bioquímica séricas de caninos observados em cães submetidos à inoculação de Extrato Bruto de <i>Dirofilaria immitis</i> . Recife, 2004	47
Anexo 16	Tabela 24 Variáveis bioquímica séricas de animais após 5 minutos da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de <i>Dirofilaria immitis</i>	47
Anexo 16	Tabela 25 Variáveis bioquímica séricas de animais 15 minutos horas da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de <i>Dirofilaria immitis</i>	47
Anexo 17	Tabela 26 Variáveis bioquímica séricas de animais após 30 minutos da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de <i>Dirofilaria immitis</i>	48
Anexo 17	Tabela 27 Variáveis bioquímica séricas de animais após 1 hora da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de <i>Dirofilaria immitis</i>	48
Anexo 17	Tabela 28 Variáveis bioquímica séricas de animais após 2 horas da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de <i>Dirofilaria immitis</i>	48
Anexo 18	Tabela 29 Variáveis bioquímica séricas de animais após 24 horas da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de <i>Dirofilaria immitis</i>	49
Anexo 19	Ficha clínica	50



## 1. INTRODUÇÃO

A dirofilariose destaca-se entre as helmintoses que acometem os canídeos por ser apontada como uma das principais causas de cardiopatia parasitaria adquirida nesses animais. Canídeos domésticos e silvestres são considerados os hospedeiros naturais e principais reservatórios desta parasitose, embora outros mamíferos possam ser acometidos inclusive o homem, constituindo-se em uma zoonose emergente (SCHOLOTTANER et al, 1969; ALVES et al., 1998; ALVES et al., 1999).

Apesar de vários filarídeos infectaram os cães, somente a *Dirofilaria immitis* tem sido relatada produzindo alterações patológicas, incluindo lesões cardiovasculares, pulmonares, hepáticas e renais (PACHECO & TULLOCH, 1970; SCHACHER, 1973).

Sua transmissão se dá através de mosquitos que infectam os cães com larvas infectantes as quais penetram pelo tecido subcutâneo e atingem o coração 90 a 100 dias após a infecção, causando lesões obstrutivas na artéria pulmonar (RAWLINGS et al., 1978; ETTINGER & FELDMAN, 1997; BICHARD & SHERDING, 1998; DUNN, 2001) lesões endoteliais, infarto pulmonar com conseqüente hipertensão pulmonar e pós-carga ventricular direta, insuficiência ventricular e insuficiência cardíaca congestiva direita (RAWLINGS et al., 1978; ETTINGER & FELDMAN, 1997; BICHARD & SHERDING, 1998 KAISER & WILLIAMS, 1998; SLATER, 1998; McTIER et al., 2000; DUNN, 2001; FAN et al., 2001; TILLEY & GOODWIN, 2002).

Na dependência da evolução da doença, os sinais clínicos podem comprometer o estado geral do paciente (DI SACCO & VEZZONI, 1992) podendo levar o paciente a uma insuficiência cardíaca congestiva direita e morte (TILLEY E GODWIN, 2002). Contudo, medidas terapêuticas e cirúrgicas (MORINI et al, 1998) podem ser utilizadas com sucesso no tratamento adulticida e microfilaricida, embora

reações anafiláticas durante o tratamento de cães com dirofilariose tenham sido relatadas por Sasaki et al. (1989) em pacientes que apresentavam síndrome da veia cava.

Catcoot (1968) relatou que o contato com substâncias ou antígenos diferentes à constituição do hospedeiro vertebrado, podem induzir o cão ao choque anafilático, sendo seus principais sinais clínicos: profunda letargia, êmese, diarreia, perda de equilíbrio, palidez de mucosas, baixa pressão, dispnéia e ocasionalmente morte.

Apesar da eficácia das drogas utilizadas na terapêutica de cães com dirofilariose, Kitoh et al. (1994a) e Kitoh et al. (2000) relataram a ocorrência de quadro clínico de choque em animais submetidos ao tratamento profilático ou adulticida com dietilcarbamazina (DEC), milbemicina e ivermectina. Suspeita-se que substâncias presentes no corpo do helminto podem ser responsáveis por este quadro. Contudo, poucos são os trabalhos encontrados na literatura que demonstram o papel isolado dos produtos de desintegração dos helmintos mortos por ocasião do tratamento na patogênese do choque em cães submetidos a tratamento.

Por este motivo, o objetivo deste estudo foi avaliar as alterações clínicas, hematológicas e bioquímico séricas em cães submetidos à inoculação intravenosa de extrato bruto de *Dirofilaria immitis*.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O parasito

A *Dirofilaria immitis* é um nematóide fino com acentuado dimorfismo sexual, medindo de 12 a 31 centímetros. São vivíparos, ou seja, eliminam microfírias (LOK, 1988) e é transmitido entre os hospedeiros susceptíveis principalmente por mosquitos culicídeos dos gêneros *Culex*, *Aedes* e *Anopheles*. A classificação do helminto esta bem documentada por Anderson & Bain (1976).

Ordem: Spirurida

Superfamília: Filarioidea,

Família: Onchocercidae

Subfamília: Dirofilarinae

Gênero: Dirofilaria

Espécie: *Dirofilaria immitis* (Leidy, 1856)

### 2.2 Distribuição Geográfica

A dirofilariose possui distribuição mundial, sendo endêmica na maioria das zonas de clima tropical, subtropical e temperado (ZUR & BARK, 1992), áreas favoráveis ao desenvolvimento dos hospedeiros intermediários (GENCHI et al., 1988). No Brasil, a prevalência da infecção varia de 0,9% em Botucatu, São Paulo (YADA et al., 1994) a 52,46% na região dos lagos, Rio de Janeiro (LABARTHE et al., 1997) com uma média nacional de 10,17% (LEITE & ALVES, 2004).

### 2.3 Sinais Clínicos e Tratamento

Os sinais clínicos observados na dirofilariose canina são variados, e geralmente estão associados à gravidade das lesões causadas pelos parasitos (RAWLINGNS et al., 1978; RAWLINGS & CALVERT, 1994), os quais comumente

envolvem os sistemas respiratórios, cardiovascular e renal. Os mais freqüentemente observados são tosse, hemoptise, dispnéia e diminuição da tolerância a exercícios, perda de condição corporal, insuficiência cardíaca congestiva direita e morte (RAWLINGS et al., 1978; ETTINGER & FELDMAN, 1997; BICHARD & SHERDING, 1998; SLATER, 1998; DUNN, 2001; TILLEY & GOODWIN, 2002).

Segundo Rawlings & Calvert, (1994) os sintomas ocorrem em proporção direta ao número de parasitos presentes, duração da infecção e a resposta do animal frente à infecção (WARE, 1994; RAWLINGS & CALVERT, 1994).

Em casos raros, os parasitos podem migrar para a veia cava caudal e átrio direito provocando grave insuficiência cardíaca, coagulação intravascular disseminada (CID) o choque, podendo-se observar ainda sinais como astenia, colapso e rápida hemólise resultando em anemia e hemoglobinúria (SLATER, 1998; TILLEY & GOODWIN, 2002).

O tratamento de cães com dirofilariose é composto de três etapas, ou seja, tratamento adulticida, microfilaricida e preventivo. O tratamento do estágio adulto de *D. immitis* tem sido realizado desde a introdução de tiacetarsamida sódica na metade da década de 40. Contudo, a toxicidade e desuniformidade da eficácia levaram ao aparecimento de novos compostos (FREEMAN et al.,1998).

A melarsomina então foi introduzida no mercado como terapêutica adulticida apresentando excelente eficácia. Contudo, antes da administração do produto os cães necessitavam ser classificados quanto a severidade da doença em função da posologia utilizada (DI SACCO & VEZZONI, 1992).

A eliminação da microfilária circulante após o tratamento adulticida e o início do tratamento preventivo têm sido realizado através da utilização de ivermectina, milbemicina oxima, moxidectina e selamectina (HADDOCK, 1987).

Apesar da eficácia das drogas utilizadas na terapêutica de cães com dirofilariose, a ocorrência de quadro clínico de choque em animais submetidos ao tratamento profilático ou adulticida com dietilcarbamazina (DEC), milbemicina e ivermectina, tem sido reportada por Kitoh et al., (1994a) e Kitoh et al., (2000).

Segundo Kitoh et al., (1994a) e Kitoh et al., (2000) a utilização de DEC, milbemicina e ivermectina como terapêutica adulticida na dirofilariose canina pode induzir o animal a um quadro clínico de choque, assim como foi observado em pacientes humanos submetidos ao tratamento filaricida com a DEC e ivermectina (KITOH et al., 1994a; KITOH et al., 2001).

Em estudos realizados por Boreham et al., (1985) a dietilcarbamazina leva o animal a choque devido a constrição da veia hepática, ocorrendo aumento do volume do vaso e hepatomegalia, resultando em choque hipovolêmico, sem entretanto o envolvimento da histamina. Por outro lado, Kitoh et al., (2001) demonstraram que a histamina participa no desenvolvimento do quadro de choque em cães inoculados com extrato bruto de *D. immitis*.

Segundo Kitoh et al.,(1994a), Kitoh et al., (2000) e Kitoh et al., (2001), os principais achados clínicos patológicos durante o choque são congestão hepática e hemorragia gastrointestinal.

Estudos realizados por Kitoh et al., (1985), Kitoh et al., (1994b), Kitoh et al., (1998), Kitoh et al., (2000) e Kitoh et al., (2001), constataram ser alta a frequência de animais com quadro clínico de choque, de cinco até 30 minutos após serem inoculados experimentalmente por via intravenosa, com extrato bruto de *D. immitis*. Entre os sintomas apresentados por cães submetidos a choque experimental por

inoculação de extrato de *D. immitis*, destacaram-se a letargia, hiperemia das membranas mucosas, palpitação, taquipnéia, colapso, além de diarreia hemorrágica (Kitoh et al., 1994a ; Kitoh et al., 2000).

Kitoh et al., (2001) observaram que animais após serem submetidos a inoculação experimental com extrato bruto de *Dirofilaria immitis* apresentaram alterações eletrocardiográficas como depressão do segmento ST, prolongamento do segmento QT e bloqueio átrio ventricular MOBILZ tipo II. Tilley & Burtnick, (2004) citam que é possível observar a presença de arritmias como taquicardia sinusal e fibrilação ventricular em animais apresentando choque.

#### **2.4 Alterações nos parâmetros hematológicos e bioquímicos em animais submetidos a tratamento**

Escassos são os relatos referentes às alterações hematológicas e bioquímicas em animais submetidos à terapêutica adulticida. Kitoh et al., (1994a) e Kitoh et al., (1994b) relataram aumento na contagem total de eritrócitos, diminuição na contagem total de leucócitos, neutrófilos, eosinófilos, plaquetas e proteína plasmática total (PPT) em cães inoculados com extrato de *D. immitis*.

Aumento da atividade sérica da alanina transaminase (ALT), fosfatase alcalina (ALP), lactato desidrogenase (LD), creatina quinase (CK) foram também observados (KITOH et al., 1994a).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

A pesquisa foi realizada em duas etapas. Na primeira etapa, foram realizadas a aquisição e preparação dos animais para o experimento. Na segunda etapa os animais foram divididos em: grupo experimental (GE), os quais foram inoculados com extrato bruto de *Dirofilaria immitis* e, grupo controle (GC), os quais foram

submetidos à inoculação com solução salina a 0,9%<sup>1</sup> . Em ambos os grupos foram realizadas avaliações clínicas, testes hematológicos e bioquímicos.

### 3.1 Primeira etapa

Foram adquiridos oito caninos, machos, sem raça definida, clinicamente saudáveis, provenientes do Centro de Vigilância Ambiental de Jaboatão dos Guararapes, Região Metropolitana do Recife. Após a chegada dos animais, estes foram submetidos à quarentena, para verificar a possibilidade da existência de doenças infecciosas e/ou parasitárias. Em seguida foram realizados, testes hematológicos e pesquisas de microfilarias circulantes pelo método de Knott (KNOTT, 1939; ALVES et al., 1999). Como parte do manejo sanitário, os animais receberam dosificação anti-helmíntica<sup>2</sup>, terapêutica preventiva para *Babesia* spp<sup>3</sup>, assim como medicação ectoparasiticida<sup>4</sup> para o controle de ácaros, pulgas e carrapatos. Apenas os animais com resultado negativo ao teste de Knott foram utilizados neste experimento. Os animais foram mantidos em canis com capacidade para dois animais durante o período de 90 dias e receberam diariamente alimento industrializado para cães<sup>5</sup> e água *ad libitum*.

### 3.2 Segunda etapa

#### 3.2.1 Local do experimento

---

<sup>1</sup> Soro Fisiológico – Química farmacêutica Gaspar Viana

<sup>2</sup> Drontol Plus, Bayer

<sup>3</sup> Diazeg- Schering Plough

<sup>4</sup> Frontline Spot – Merial Saúde

<sup>5</sup> Crock Dog – Soccil Guiomarch

O estudo foi realizado nas dependências do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE.

### **3.2.2 Animais**

Os animais foram classificados na categoria D de acordo com princípios internacionais para a pesquisa biomédica envolvendo animais, adaptado do International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals (CIOMS) - Genebra, 1985 e todos os procedimentos realizados foram de acordo com o "Consensus Recommendations on Effective Institutional Animal Care and Use Committees - NIH and USDA – publicados pelo Laboratório de Ciência Animal, Edição especial Janeiro de 1987. Para a realização desta pesquisa, a Comissão de Ética da Universidade Federal Rural de Pernambuco levou em consideração, para que este fosse aprovado, a importância do trabalho para a clínica médica de cães e gatos. Recomendou-se ainda o sacrifício dos mesmos, visto que eram provenientes do Centro de Vigilância Ambiental.

### **3.2.3 Formação dos Grupos Experimentais**

Após o período de quarentena os animais foram divididos em dois grupos, a saber:

A - Grupo Experimental (GE)

Foram utilizados seis animais com diagnóstico parasitológico negativo para microfilária, os quais foram submetidos à inoculação intravenosa de extrato bruto de *D. immitis*.

B - Grupo Controle (GC)

Foram utilizados dois animais com diagnóstico parasitológico negativo para microfilária, os quais foram submetidos à inoculação intravenosa de solução salina (SS) à 0,9%.



### **3.2.4 Preparação do Extrato Bruto (EB) de *Dirofilária immitis***

#### **3.2.4.1 Obtenção dos nematóides**

Os parasitos adultos foram recuperados por ocasião da necropsia de cães com infecção natural por *D. immitis*, na área de patologia do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE. Após a obtenção dos nematóides estes foram lavados em solução salina a 0.9% e congelados à -20 °C até o momento de sua utilização.

#### **3.2.4.1 Classificação e sexagem dos nematóides**

Inicialmente os nematóides foram classificados de acordo com Cheng, (1986) e os exemplares machos e fêmeas foram diferenciados segundo os aspectos morfológicos, dentre os quais podemos citar o tamanho, e a presença de extremidade caudal espiralada, sendo esta última, característica comum apenas aos machos filarídeos de acordo com Urquhart et al., (1996).

#### **3.2.4.2 Preparo do Extrato Bruto (EB) de *Dirofilaria immitis***

Para obtenção do material a ser utilizado no EB, seis helmintos adultos fêmeas foram colocados individualmente em cadinho de porcelana estéril, aos quais foram adicionados 10 ml de nitrogênio líquido, e com ajuda do pistilo os helmintos foram macerados até a obtenção de um pó.

Após esta etapa, o material desidratado foi suspenso em água destilada e submetido a congelamento e descongelamento rápido por três vezes, com a finalidade de promover lise celular. A solução obtida foi então centrifugada a 7.900 rotações por minuto (rpm) por 20 minutos a 4°C, seguida da retirada do material sobrenadante para dosagem protéica, através de espectrofotometria<sup>6</sup>, segundo metodologia descrita por Bradford, (1976) e Lucarini & Kilikian, (1999).

O volume utilizado como dose padrão neste experimento foi o mesmo preconizado Kito et al., (2000). A quantidade de proteína mensurada foi de 1,74 miligramas por mililitro.

### **3.2.5 Inoculação dos Grupos GE e GC**

Independentemente dos grupos, alimento industrializado e água foram suspensos uma hora antes da inoculação. Nesta ocasião, foi realizado exame clínico, seguido de coleta de sangue através de venopunção da veia cefálica com utilização de seringas<sup>7</sup> e agulhas<sup>8</sup> estéreis para exames hematológicos e bioquímicos.

Após estes procedimentos, os animais foram colocados em decúbito lateral esquerdo em mesa para atendimento clínico e instalados os eletrodos para avaliação eletrocardiográfica durante o período pré e pós-experimental.

---

<sup>6</sup> Spectro UV Vis RS Labo Med

<sup>7</sup> Seringa estéril para três mililitros (ml) - BD Plastipak

<sup>8</sup> Agulhas 25 x 8 milímetros (mm) - BD Plastipak

Os animais pertencentes ao GE receberam um inóculo de dois mililitros de EB de *D. immitis* e aqueles pertencentes ao GC, dois mililitros de solução salina à 0.9%, e após este procedimento procedeu-se a monitoração dos animais para avaliação das alterações clínicas, e coleta de sangue para hematologia e bioquímica.

### **3.2.6 Avaliação dos Parâmetros Clínico, Hematológico e Bioquímico**

O monitoramento dos animais foi realizado nos tempos de cinco minutos, 15 minutos, 30 minutos, uma hora, duas horas e 24 horas após a inoculação, de acordo com metodologia descrita por Kitch et al., (2000).

### **3.2.7 Avaliação Clínica**

Após a inoculação, os animais, individualmente, foram submetidos à criteriosa avaliação clínica considerando todos os órgãos e sistemas, enfatizando-se aqueles potencialmente mais afetados pelo choque, conforme ficha de avaliação (Anexo 1). O exame constituía-se de avaliação do estado geral do animal, com exames das mucosas aparentes, bucal, ocular e temperatura retal. Durante a realização do exame do tórax, aferiu-se as frequências cardíaca e respiratória realizando-se auscultação detalhada nesta área. O exame do abdome teve como objetivo a avaliação da motilidade intestinal. As alterações foram comparadas com os parâmetros de normalidade baseados nas citações de Ware, (1994) e Cornelius, (1996).

Foram realizados eletrocardiogramas (ECG) utilizando-se eletrocardiógrafo<sup>9</sup> de 12 derivações de acordo com a metodologia descrita por Tilley, (1992) e Tilley & Goodwin, (2002), para avaliação da atividade elétrica cardíaca.

### **3.2.8 Coleta de sangue para hemograma**

De cada animal foi obtida amostra sanguínea, por meio de venopunção da veia cefálica com auxílio de seringas<sup>10</sup> e agulhas estéreis e logo após envasadas em frascos tipo penicilina contendo anti-coagulante<sup>11</sup>. As amostras foram levadas ao Laboratório de Patologia Clínica Veterinária do DMV/UFRPE, onde foram processadas.

### **3.2.9 Coleta de Sangue para as Dosagens Bioquímicas Séricas**

Do mesmo sangue anteriormente obtido, foram envasados em tubos de ensaio sem anti-coagulante 5 ml de sangue. As amostras foram colocadas em repouso para coagulação espontânea e separação dos soros. Posteriormente, estes foram acondicionados em frascos plásticos do tipo *ependorff* e mantidos à temperatura de -20 °C para processamento das dosagens bioquímicas, as quais foram realizados no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária do DMV/UFRPE.

### **3.2.10 Processamento das Amostras**

---

<sup>9</sup> EK- 51 Cardiotest HELLIGE

<sup>10</sup> Seringas descartáveis estéreis 10ml – BD Plastipak

<sup>11</sup> Acido Etleno diamino Tetracetato de Sódio - Reagen

### **3.2.10.1 Hemograma**

Os hemogramas foram realizados segundo metodologia descrita por Coles, (1984) e Jain, (1986), sendo as contagens de hemácias e de leucócitos realizadas em hemocitômetro de Neubauer. O volume globular foi estimado segundo o método do microhematócrito e a hemoglobina pelo método da cianohemoglobina. A contagem diferencial de leucócitos foi realizada mediante confecção de esfregaços sanguíneos corados pelo método Panótico.

### **3.2.10.2 Bioquímica Sérica**

Foram utilizados kits comerciais usando metodologia cinética para dosagens de aspartato aminotransferase (AST)<sup>12</sup>, alanino aminotransferase (ALT)<sup>13</sup>, uréia<sup>14</sup>, creatinina<sup>15</sup> e creatinina kinase (CPK)<sup>16</sup>. Utilizou-se analisador bioquímico semi-automático SB 190<sup>17</sup>. Os parâmetros bioquímicos normais utilizados como referência foram os obtidos do grupo controle após comparação com os valores citados por Kaneco, (1989) e Kaneco, (1997).

### **3.2.11 Análise Estatística**

---

<sup>12</sup> Kit para dosagem de Aspartato aminotransferase, marca Doles

<sup>13</sup> Kit para dosagem de Alanino aminotransferase, marca Doles

<sup>14</sup> Kit para dosagem de Ureia, marca Doles

<sup>15</sup> Kit para dosagem de Creatinina, marca Doles

<sup>16</sup> Kit para dosagem de creatinina kinase, marca Doles

<sup>17</sup> Analisador bioquímico semi-automático SB 190<sup>17</sup>, marca Selme.

Foram realizados os testes não paramétricos de Wilcoxon e Mann-Whitney para avaliar as alterações clínicas, variação das células do hemograma e parâmetros bioquímicos séricos em relação aos diversos momentos do experimento. Para as variáveis do eletrocardiograma foi utilizado o Teste Exato de Fischer (REIS, 2003).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Achados Clínicos

Os sinais clínicos observados nos animais inoculados encontram-se na Tabela 1. A análise estatística quando aplicada, revelou não existir diferenças estatisticamente significantes entre as variáveis clínicas estudadas.

Dos animais do GE 100% apresentaram choque num período compreendido entre cinco e trinta minutos após inoculação do EB de *D. immitis*.

Estes achados estão bastante aproximados dos obtidos por Kitoh et al., (1994a), Kitoh et al., (1994b) e Kitoh et al., (2001), que constataram no mesmo período que 91,7% dos animais inoculados com extrato bruto de *D.immitis* apresentavam quadro clínico de choque.

Segundo Mikal, (1967) e Spinelli & Enos, (1978) o choque pode ser definido como uma diminuição no volume efetivo de sangue circulante, causando uma perfusão inadequada aos órgãos e hipotensão, sendo classificado em choque hipovolêmico, traumático, cardiogênico e aquele denominado de distributivo (KING & HAMMOND, 1999).

O choque anafilático está inserido no choque distributivo e se caracteriza pela reação antígeno-anticorpo por ocasião do contato do hospedeiro vertebrado e a molécula invasora (KING & HAMMOND, 1999). Nestas condições o choque é o resultado da liberação de substâncias vasoativas de mastócitos e basófilos, estando sua severidade dependente do número e localização de mastócitos estimulados e a quantidade e via de administração do antígeno (TIZARD, 1997).

Dentre as aminas vasoativas importantes no desenvolvimento do choque em cães, Tizard, (1997) destaca a histamina com o principal mediador.

A existência de uma substância desconhecida, presente nas células do extrato de *D. immitis*, foi considerada por Kitoh et al., (2001) como importante no desencadeamento do quadro de choque, além de participar na patogênese da doença filarial. Para Kaiser & Williams, (1998) esta substância causa degranulação do centro das células, liberando histamina.

O nível de histamina não foi mensurado no presente experimento, mas em virtude do quadro de choque observado nos animais, acreditamos que pela rapidez do processo instalado, é provável a existência de fatores provenientes do extrato bruto, que em conjunto com a reação do hospedeiro vertebrado aumentem a degranulação dos mastócitos e conseqüentemente a liberação de histamina.

Tabela 1 – Sinais clínicos observados em cães submetidos à inoculação de extrato bruto de *Dirofilaria immitis*. Recife, 2004.

Sinais clínicos	tempos					
	0-5 min	6-15 min	16-30 min	31-60 min	61-120 min	24 h
letargia	5/6	6/6	6/6	6/6	3/6	0/6
mucosa hiperêmica	3/6	1/6	1/6	1/6	2/6	0/6
taquipnéia	3/6	2/6	0/6	0/6	0/6	0/6
palpitação	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
vômito	1/6	2/6	1/6	0/6	1/6	2/6
colapso	4/6	3/6	0/6	0/6	0/6	0/0
palidez de mucosa	2/6	6/6	5/6	5/6	2/6	0/6
sons cardíacos fracos	2/6	2/6	0/6	0/6	0/6	0/6
dispnéia	3/6	3/6	3/6	3/6	0/6	0/6
hipotermia	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
hipertermia	2/6	2/6	2/6	2/6	2/6	2/6
sinais de defecação	1/6	1/6	2/6	2/6	1/6	0/6
miose	1/6	0/6	1/6	1/6	1/6	0/6
sinais de micção	3/6	0/6	0/6	0/6	1/6	0/6
diarréia com sangue	0/6	0/6	0/6	0/6	1/6	1/6
morte	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
batimentos cardíacos (3ª bulha)	0/6	0/6	2/6	2/6	0/6	0/6
vocalização	3/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
midríase	2/6	2/6	3/6	3/6	0/6	0/6

aumento de peristaltismo	3/6	1/6	1/6	1/6	1/6	0/6
nistágmo	2/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
extremidades frias	0/6	2/6	4/6	2/6	0/6	0/6
recuperação do colapso	3/6	0/6	1/6	0/6	2/6	0/6

Dentre os sinais clínicos observados, a presença de letargia, vômito, midríase e principalmente colapso, estão compatíveis com quadro clínico de choque observado por Kitoh et al., (1985), Kitoh et al., (1994 a), Kitoh et al., (1998), Kitoh et al., (2000) e Kitoh et al.,(2001).

Segundo Pinto, (1949) o colapso é definido como uma condição no qual o débito cardíaco encontra-se diminuído. É provável que a administração intravenosa do EB tenha provocado uma resposta sistêmica por vasoconstricção hepática com aumento da pressão portal seguida de diminuição do débito cardíaco e pressão sanguínea, ocasionando o colapso.

Letargia ocorreu em 100% dos animais com variação entre início e término, perdurando ou estando presente até duas horas pós-inoculação. De acordo com King & Hammond, (1999) e Slater, (1998), a baixa perfusão cerebral pode ser responsável pelo aparecimento de letargia, o que está de acordo com os achados de Kitoh et al., (1994a), Kitoh et al.,(2000) e Kitoh et al., (2001), que também observaram letargia após inoculação experimental de extrato bruto de *D. immitis*.

Mucosas hiperêmicas ou pálidas foram observadas nos cães inoculados, imediatamente ou em até um período máximo duas horas.

Segundo Ettinger & Feldman, (1997) e Slater, (1998), a presença de mucosas hiperêmicas pode ser observada em animais apresentando choque. Este sinal clínico também foi evidenciado por Kitoh et al., (1994a), Kitoh et al., (2000) e Kitoh et al., (2001) minutos após a inoculação com extrato de *D. immitis*.

Segundo Kitoh et al., (2000), a explicação para palidez das mucosas tem origem na falha circulatória sistêmica devido à redução do retorno venoso. Este achado também foi relatado por Tizard, (1997) como sendo um dos sinais característicos da reação de hipersensibilidade do Tipo I.

A falência circulatória foi observada através de taquipnéia e dispnéia nos animais inoculados, variando o período e a duração, sendo que em 100 % dos animais foi observado quadro clínico de dispnéia.



Estes achados são compatíveis com os de Kitoh et al. (1994a), Kitoh et al., (2000), que observaram taquipnéia logo após a inoculação do extrato e dispnéia entre cinco e trinta minutos após o início do experimento.

Catcoot, (1968), afirma que a dispnéia pode estar presente no choque anafilático, concordando também com Dunn, (2001) que cita que este sinal pode ser devido a uma diminuição da saturação de oxigênio no sangue ou desequilíbrio entre ventilação e perfusão sanguínea (RAWLINGS et al., 1978; LORENZ et al., 1996; ETTINGER & FELDMAN, 1997; BICHARD & SHERDING, 1998; KITOHO et al., 2000; DUNN, 2001). É possível ocorrer hipoventilação pulmonar devido à diminuição das trocas gasosas, por ação vasoconstrictora resultando na diminuição da perfusão dos vasos coronarianos (MIKAL, 1967).

Segundo King & Hammond, (1999) a dispnéia também pode estar associada à hipotensão, presente no choque (MIKAL, 1967), e lesões pulmonares agudas podem ocorrer durante o choque, mediadas por uma reação inflamatória que causa danos aos capilares resultando em produção de exudação e acúmulo de secreção nos alvéolos.

No que concerne à auscultação, 66,66% (4/6) dos animais apresentaram bulhas cardíacas de baixa intensidade.

O aparecimento de sinais clínicos como sons cardíacos de baixa intensidade, dispnéia e taquipnéia, e presença de extremidades frias, podem estar presente no quadro de choque (KITOH et al., 1994 a ; KITOH et al., 2000).

A êmese foi observada em 83,33% (5/6) dos animais inoculados, o que corrobora com os achados de Kitoh et al., (1994a) e Kitoh et al., (2000) que também observaram este sinal em cães submetidos à inoculação intravenosa de extrato de *D. immitis*. Segundo Catcoot, (1968), Ettinger & Feldman, (1997), Bichard & Sherding, (1998), Slater, (1998), King & Hammond, (1999) e Dunn, (2001) a êmese, é um sinal clínico que pode estar presente durante o choque, e Catcoot, (1968), ainda afirma que o aparecimento desta alteração é devido a contrações da musculatura lisa do intestino delgado e aumento da permeabilidade capilar durante o choque.

Sinais clínicos como extremidades frias podem estar relacionados à falha na circulação, e segundo Catcoot, (1968), Ettinger & Feldman, (1997), Bichard &

Sherding, (1998), Slater, (1998), King & Hammond, (1999) e Dunn, (2001) podem estar associadas ao quadro clínico de choque. Kitoh et al., (2000) afirmam que este sintoma está associado a uma reação inflamatória mediada por substâncias como histamina, fator quimiotático para eosinófilos e ácido aracdônico.

Neste estudo foi observado presença de extremidades frias em 83,33% (5/6) permanecendo este sinal até 60 minutos após a inoculação do extrato. Este achado é compatível com aqueles observados por Kitoh et al., (1994a) e Kitoh et al., (2000), que constataram a presença de hipotermia de extremidades nos animais imediatamente ou até 30 minutos após a inoculação do extrato.

Mikal, (1967), Slater, (1998) e King & Hammond, (1999), afirmam que aparecimento deste sinal deve-se a uma vasoconstrição que causa diminuição do fluxo sanguíneo. Esta vasoconstrição pode estar associada à ação de substâncias mediadoras do choque como vasopressina e angiotensina (KING & HAMMOND, 1999).

Sinais sugestivos do aumento de peristaltismo foram observados em 83,33% dos animais (5/6), sendo que apenas um apresentou defecação após 15 minutos do início do experimento. Apenas um animal apresentou gastroenterite hemorrágica tendo seu primeiro episódio ocorrido aos 120 minutos e perdurado até 24 horas após a inoculação do extrato. De acordo com Catcoot, (1968), pode haver um aumento de peristaltismo devido à estimulação da musculatura lisa do intestino delgado, o qual reage durante a instalação do choque.

Estes achados estão em concordância com os estudos realizados por Kitoh et al., (1994a), Kitoh et al., (2000), que constataram aumento de peristaltismo e gastroenterite hemorrágica em animais submetidos à inoculação experimental com extrato de *D. immitis*. Segundo este mesmo autor a gastroenterite hemorrágica pode ser devido a grande concentração de sangue no trato intestinal por ocasião do choque.

Dos animais do GE, 100% apresentaram midríase até 2 horas após o início do experimento, enquanto que dois animais apenas apresentaram miose. Kitoh et al. (2000) observaram em estudos realizados com EB, que a miose observada poderia ser em decorrência da estimulação de nervos parassimpáticos, também

concordando com Kitoh et al., (2000) que cita ser devido a estímulo parassimpático.

Sinais de micção foram observados em 66,66% dos animais (4/6) durante o experimento nos cães do grupo experimental, concordando com Kitoh et al., (1994a) que constataram a presença de sinais de micção em cães inoculados com EB de *D. immitis* e que admitem ser esta alteração consequência de estímulo de nervos parassimpáticos.

## 4.2 Eletrocardiograma

Os resultados do eletrocardiograma dos animais estudados encontram-se nas tabelas 9, 10,11,12,13,14,e 15 (anexos 8 a 11).

Foram observadas alterações no eletrocardiograma dos animais inoculados experimentalmente, com extrato de *D. immitis*, até cinco minutos após a inoculação, e em alguns animais as alterações perduraram até duas horas após o início do experimento.

Alterações no tempo da onda P ocorreram em 66.66% (4/6) dos animais após a inoculação assim como o prolongamento do tempo do complexo QRS foi observado em 33,33% (2/6) dos animais aos cinco minutos, e um animal estava com o complexo QRS aumentado em tempo. Foi ainda possível observar supradesnível de segmento ST em um animal após 15 minutos da inoculação.

Em estudo realizado por Kitoh et al. (2000) foram relatadas alterações no segmento ST, porém em infradesnível.

A presença de segmentos ST, abaixo da linha de base, no eletrocardiograma, pode ser explicada por hipóxia (TILLEY e GOODWIN, 2002), como resultante de uma circulação inadequada (KITOH et al., 2000).

Com relação à frequência cardíaca, 100% dos animais apresentaram bradicardia sinusal em diferentes momentos. King & Hammond, (1999) afirmam que bradicardia sinusal pode está presente em animais apresentando choque, estando ou não presente um bloqueio átrio-ventricular associado. De acordo com Tilley & Smith, (1997) a bradicardia sinusal pode ser devido a hipotermia, e quando

associadas a êmese, pode ser resultado de estimulação vagal (TILLEY & SMITH, 1997).

Neste experimento, apenas um animal apresentou taquicardia, permanecendo com a frequência alterada até 120 minutos após a inoculação.

Segundo Mikal, (1967) a taquicardia se deve a uma vasoconstricção, que resulta em diminuição do retorno venoso ao átrio direito, estando comumente presente em pacientes apresentando choque, concordando com Tilley & Burtnick, (2004) que relaram o aparecimento da taquicardia sinusal em animais com síndrome do choque.

Dos animais que apresentaram alterações no eixo elétrico, 33,33% apresentaram desvio à esquerda e direita.

Segundo Tilley, (1992) e Tilley & Goodwin, (2002) e a diminuição do débito cardíaco devido a uma sobrecarga cardíaca, pode causar alterações no eixo elétrico, contudo outros estudos devem ser realizados para melhor elucidar as alterações.

O prolongamento do segmento PR em tempo, ou bloqueio atrioventricular (BAV) de primeiro grau, foi observado em 66,66% (4/6) nos animais inoculados, sendo que um animal apresentou aumento do tempo do segmento PR após 24 horas da inoculação.

Este achado está em concordância com Kitoh et al., (2000) que citam que o segmento PR do eletrocardiograma pode estar presente até cinco minutos após a inoculação do extrato apesar de somente ter sido observado 15 minutos após o início do experimento.

Segundo King & Hammond, (1999), pacientes em choque podem apresentar BAV de segundo grau, porém Slater, (1998) menciona que este prolongamento pode estar também associado à presença de bradicardia. Estes achados estão em discordância com Kitoh et al., (2000) que relataram a presença de BAV de segundo grau.

A análise estatística revelou não existir diferenças estatisticamente significantes entre as variáveis eletrocardiográficas estudadas.

### 4.3 Hemograma

A análise estatística dos resultados do hemograma revelou não existirem diferenças estatisticamente significantes entre as variáveis hematológicas estudadas .

Em relação à contagem total de hemácias pode-se observar nas tabelas 16, 17, 18, 19, 10, 21 e 22 (anexos 12,13,14 e 15) que 66.66% (4/6) dos animais apresentaram aumento na contagem destas células independentemente do tempo de análise.

A diminuição do número de hemácias foi também observada em 66,66% (4/6) dos animais. Este achado provavelmente deve-se a uma vasoconstrição hepática e esplênica que diminui o retorno venoso sendo responsável pelo decréscimo destas células (KITOH et al.,2000). A diminuição do número de hemácias também foi citada por Kitoh et al., (1994a) nos caninos apresentando choque após administração experimental de dietil carbamazina e milbemicina.

Fatores como idade, raça, sexo e alimentação podem influir na variação da contagem destas células (JAIN, 1986; JAIN, 1993; COLES, 1994), porém, neste estudo estes fatores não foram levados em consideração, devido a utilização de cães machos, sem raça definida e submetidos a um mesmo manejo alimentar, além de que os mesmos, antes da inoculação, apresentavam-se dentro dos parâmetros normais para a espécie.

O aumento do número de hemácias também foi observado em estudo realizado por Miyamoto et al., (1996), após induzir choque endotóxico em cães. Da mesma forma, Kitoh et al., (1994a), em estudos realizados com inoculação de extrato de *D. immitis* em caninos constataram aumento da contagem total de hemácias logo após a inoculação, sendo este aumento devido a hemoconcentração atribuída à elevação da permeabilidade vascular.

Com relação ao volume globular (VG), foi observado aumento em 50% (3/6) dos animais após a inoculação com EB, concordando com Miyamoto et al., (1996) que também observaram esta alteração em animais induzidos a choque com lipopolissacarídeos de *Escherichia coli*.

O aumento da permeabilidade vascular pode segundo KITOY et al., (1994<sup>a</sup>) justificar este aumento evidenciado no presente estudo.

Foi observado aumento da hemoglobina de três animais inoculados, o que corresponde a 50%, e dois animais apresentaram diminuição desta variável correspondendo a 33,33%. Ficou evidente que a variação ocorrida neste parâmetro acompanhou a variação ocorrida na variável contagem total de hemácias.

A contagem total de leucócitos esteve diminuída inicialmente em 66,66% (4/6) dos animais. Estes achados são concordantes com Coles, (1984), que relata que a leucopenia pode ser um achado presente em animais com choque anafilático, e com os relatos de Kitoh et al., (1994a) quando afirmam que animais inoculados com extrato de *D. immitis* apresentaram decréscimo no número de leucócitos, como também em animais com choque endotóxico ou anafilático, sendo que a relevância desta alteração ainda permanece inexplicada.

Miyamoto et al., (1996) também observaram diminuição dos leucócitos em estudos com indução de choque através da inoculação de lipopolissacarídeo extraído de *Escherichia coli*, e afirmam ainda que esta diminuição deve-se ao fato de uma rápida aderência dos neutrófilos ao antígeno.

Vinte e quatro horas pós-inoculação do EB, a contagem total de leucócitos esteve aumentada em 50% (3/6). Miyamoto et al., (1996) que afirmaram ser possível o aumento destas células após 24 horas de uma indução de choque experimental em caninos, resultante de uma resposta inflamatória.

Porém, 5 animais apresentaram diminuição do número de neutrófilos até 120, sendo, esta alteração mais freqüente neste experimento, estando de acordo com os relatos de KITOY et al., (1994) quando afirma que animais inoculados com extrato de *Dirofilaria immitis* apresentam decréscimo no número de leucócitos, sendo os neutrófilos os principais responsáveis pela diminuição da contagem total destas células, este autor afirma que a diminuição destas células pode ser observada em animais apresentando choque endotóxico ou anafilático e que a

relevância desta alteração ainda permanece inexplicada, podendo ser resultado da ação de mediadores químicos como lecotrienos, leucotoxina, fator de ativação plaquetária e tromboxano que causam vasodilatação, vasoconstrição ou hiperpermeabilidade. Miyamoto et al, (1996) também observou em estudos com indução de choque através da inoculação de lipopolissacarídeo extraído de *Escherichia coli* que pode ocorrer diminuição dos leucócitos em animais apresentando choque, afirmando ainda que esta diminuição deve-se ao fato de uma rápida aderência dos neutrófilos ao antígeno.

Na contagem diferencial dos leucócitos, o aumento do número de eosinófilos, foi observado em 66,66% (4/6) dos animais inoculados. Segundo Kaneko, (1989), os eosinófilos podem participar na resposta inflamatória através da liberação de substâncias capazes de neutralizar mediadores da anafilaxia tais como: lecotrienos, histamina e fator de ativação plaquetária.

A explicação para a eosinofilia pode ser decorrente do estresse durante a manipulação destes animais, de acordo com Jain, (1993), e da liberação de substâncias mediadoras, como histamina, e fator quimiotático de eosinófilos, que ocorre segundo Tilley & Smith, (1997), durante o quadro de choque. De acordo com Kitoh et al., (2001), a inoculação do extrato bruto de *D. immitis* pode causar degranulação de mastócitos e liberação de histamina.

Por outro lado, o aumento da concentração de glicocorticóides poderia explicar o aparecimento de eosinopenia (KITOH et al., 1994a).

Linfocitopenia e linfocitose, em tempos diferentes, foram observadas em 66,66% (4/6) dos animais durante o decorrer do experimento, com intermitência de aumento e diminuição desta célula. A variação destas células, observada neste estudo, pode estar diretamente relacionado com a variação dos neutrófilos, sendo esta associação possível de acordo com Coles, (1984) e Jain, (1993).

Entretanto, estes resultados divergem dos obtidos por Kitoh et al., (1994a) que observaram que os animais inoculados com EB sofreram pouca variação na contagem de linfócitos.

Dos animais que sofreram inoculação com o EB, 100% apresentaram monocitose até 24 horas pós-inoculação. Segundo Tilley & Smith, (1997), o

aumento na contagem de monócitos pode ser devido à resposta inflamatória (COLES, 1984) que promova aumento do número de neutrófilos.

#### 4.4 Bioquímica Sérica

Dentre as alterações na bioquímica sérica dos animais submetidos à inoculação de EB de *D. immitis*, aumento da uréia foi observado em 83,33% (5/6) dos animais.

De acordo com Coles (1984) e Kaneco, (1989), é possível observar-se aumento da uréia pré-renal em pacientes com choque, devido à diminuição do fluxo sanguíneo para os rins.

Em relação a variável creatinina foi possível observar aumento em apenas 13,88% (1/6) dos animais. Segundo Coles, (1984) e Kaneko, (1989), o aumento de creatinina pode ser devido a danos na função dos néfrons.

Foram observadas ainda alterações de 66,66% (4/6) e 33,33% (2/6) nos valores da aspartato aminotransferase (AST) e alanino aminotransferase (ALT) respectivamente nos animais do grupo GE até 24 horas da inoculação.

Coles, (1984), Kaneco, (1989) e Kito et al., (1994a), afirmaram ainda que o aumento destas variáveis na bioquímica sérica pode ser indício de lesões nos hepatócitos ou aumento de permeabilidade da membrana das células do fígado.

Só foi possível a observação de alterações estatisticamente significativas através do teste de Wilcoxon e Mann-Whitney, na variável CK aos 30 minutos da inoculação do extrato de *D. immitis* em apenas um animal.

Kito et al., (1994a) observaram que, em um dos grupos de animais inoculados em seu estudo, houve variação significativa da creatinina kinase. Em contraste com o outro grupo de animais do mesmo estudo, que também foram submetidos à inoculação, não foi observado aumento desta variável, em concordância com nosso estudo.

Quando aplicadas às análises estatísticas através dos testes não paramétricos de Wilcoxon e Mann-Whitney, foi possível observar-se diferenças



significativas nas variáveis linfócitos absolutos e creatinina, as quais apresentaram menor valor entre os animais do GE. Estes mesmos testes evidenciaram que o número de hemácias, eosinófilos e monócitos apresentaram-se significativamente aumentados após 24 horas nos animais do grupo experimental.

## 5. CONCLUSÃO

A síndrome observada em cães após a inoculação experimental de extrato bruto de *D. immitis* deve estar ligada a substâncias presentes no corpo dos nematóides, que em conjunto com a reação do hospedeiro vertebrado estimula a liberação de aminas vasoativas com conseqüente desenvolvimento de choque.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, L. C., SILVA, L., A., FAUSTINO, M. A. G. Survey of canine heartworm in the city of Recife - Pernambuco – Brazil. In: CONGRESS WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY ASSOCIATION, XXIII, Buenos Aires [s.n.] **Anais**, 1998.
- ALVES, L. C., SILVA, L., A., FAUSTINO, M. A. G. Survey of canine heartworm in the city of Recife - Pernambuco - Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 94, n.5, p.587-590,1999.
- BICHARD, S. J. SHERDING, R. G. Manual Saunders: Clínica de Pequenos Animais. Tradução São Paulo: Roca,1998.
- BOREHAN, P. F. L., ATWELL, R. B., EUCLID, J. M. Studies on the Mechanism of the Reaction in Dogs Infected with *Dirofilaria immitis*. **International Journal for Parasitology**. v.15, n.5, p.543-549, 1985.
- BRADFORD, M. M. A Rapide and Sensitive Method fot the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248-254, 1976.
- CATCOOT, E. J. Canine Reference: a text and reference work. 1. Ed. Santa Bárbara: Americam Veterinary Publications, 1968, p.859.
- CHENG, T. C. General Parasitology. 2. Ed. Orlando: Academic Press, 1986, p. 827.

COLES, E. H. Patologia Clínica Veterinária. 3. ed., São Paulo: Manole, 1984, p.566.

CONSENSUS RECOMMENDATIONS ON EFFECTIVE INSTITUTIONAL ANIMAL CARE AND USE COMMITTEES - NIH and USDA.  
[http://www.hospitalheliopolis.org.br/cep\\_2.htm](http://www.hospitalheliopolis.org.br/cep_2.htm) acessado em 27 de julho de 2004.

CORNELIUS, L. Distúrbios Respiratórios. In: LORENS, M., CORNELIUS, L. Diagnóstico Clínico em Pequenos Animais. 2. Ed. Rio de Janeiro: Interlivros, v.7, 1996 p.168.

Di SACCO, B. & VEZZONI, A. Clinical classification of heartworm disease for the purpose of adding objectivity to the assessment of therapeutic efficacy of adulticidal drugs in the field. In: OTTO, G.F. ed. Proceedings of the heartworm Symposium `92. Batavia, IL: American Heartworm Society, 1992, p. 209-214.

DUNN, J. K. Tratado de Medicina Interna de Pequenos Animais. São Paulo: Roca, 2001,1074p.

ETTINGER, S.J. & FELDMAN, E.C. Tratado de Medicina Interna Veterinária. 4. Ed. vol. 1. São Paulo: Manole, 1997, 2969 p.

FAN, C.K., SU, K.E., LIN, Y.H., LIAO, C.W., DU, W.Y., CHIOU, H.Y. Seroepidemiologic survey of *Dirofilaria immitis* infection among domestic dogs in Taipei City and mountain aboriginal districts in Taiwan (1998–1999). **Veterinary Parasitology** , v.102, p.113–120, 2001.

FREEMAN, J. R.; KEISTER, D. M.; GONZALEZ, C. M. Postmarketing of pharmacovigilance of adverse reactions associated with the use of immiticide. et al.1998. **Recent Advances in heartworm Disease: Symposium `98**. Batavia, IL: American Heartworm Society, 1998, p. 229-233.

GENCHI, C. et al. Epidemiological aspects of canine heartworm disease in Italy. **Seminário: Filariosi IV**, 1998, Itália, Atti, p. 53-64.

JAIN, N. C. Schalm's Veterinary Hematology. 4. Ed. Lea & Febiger, Philadelphia, p. 1221p, 1986.

JAIN, N. C. Essentials of Veterinary Hematology. 5. Ed., Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, p. 54-71.

KAISER, L., WILLIAMS, J. F. *Dirofilaria immitis*: Heartworm Infection Converts Histamine-Induced Constriction to Endothelium-Dependent Relaxation in Canine. **Experimental Parasitology**, v. 88, p.146-153, 1998.

KANECO, J. J. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 4. Ed. New York: Academic press. 1989, p.832 .

KANECO, J. J. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. 4. Ed. New York: Academic press. 1997, p.832.

HADDOCK, K. C. Canine Heartworm disease: A review and a pilot study. **Society Science Medicine**. V. 24, p. 225-246. 1987.

KING, L., HAMMOND, R. Manual of Canine and Feline Emergency and Critical Care [s.l.]. **British Small Animal Veterinary Association**. 1999, p.366.

KITOH, K. WATOH, K., CHAYA, K., KITAGAWA, H., SASAKI, Y. Clinical, Haematologic and Biochemical Findings in Dogs After Induction of Shock by Injection of Heartworm Extract. **American Journal of Veterinary Research**, v. 55, n.11, p.1535-1541, 1994a.

KITOH, K. WATOH, K., KITAGAWA, H., SASAKI, Y. Blood Coagulopathy in Dogs with Shock Induced by Injection of Heartworm Extract. **American Journal of Veterinary Research**, v.55, n.11, 1542-1547p, 1994 b.

KITOH, K., KITAGAWA, H., SASAKI, Y. Pathologic Findings in Dogs with a Shock Induced by Intravenous Administration of Heartworm Injection. **American Journal of Veterinary Research**, v.59, n.11, 1417-1422 p, 1998.

KITOH, K., MIKAMI, C., KITAGAWA, H., SASAKI, Y. Hemodynamic Alterations in Dogs with Shock Induced by Intravenous Injection of Heartworm Extract. **Journal of Veterinary Medicine Science**, v.63, n.2, 179-182 p, 2000.

KITOH, K., KATOH, H., KITAGAWA, H., NAGASE, M., SASAKI, N., SASAKI, Y. Role of Histamine in Heartworm Extract Induced Shock in Dogs. **American Journal of Veterinary Research**. v.62, n.5, p.770-774, 2001.

KITOH, K., KATOH, H., KITAGAWA, H., SASAKI, Y. Comparison of Heartworm Extract-induced Shock and Endotoxin-induced Shock in Dog by Determination of Serum Tumor of Necrosis Factor Concentrations. **International Journal of Immunopharmacology**. v.7 , n.4, p. 525-531, 1985.

KNOTT, J. A method for Marking Microfilarial Surveys on Day Blood. **Transaction of Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v.33, p.191-196, 1939

LABARTHE, N. V. et al. Description of the occurrence dirofilariasis in the state of Rio de Janeiro, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 92, p. 47-51, 1997.

LEITE, C.B. & ALVES, L. A. Canine Dirofilariasis: Current situation in Brasil. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, 2004. No prelo.

LOK, J. B. *Dirofilaria sp.*: Taxonomy and distribution. In: BOREHAM, P. F. & ATWELL, R. B. **Dirofilariasis**. Florida: CRC Press, 1988, 149 p, cap. 1, p. 1-28.

LORENZ, M.D., CORNELIUS, L.M., FERGUSON, D.C. Terapêutica Clínica em Pequenos Animais. Rio de Janeiro: Interlivros, 1996, p. 465.

LUCARINE A. C., KILIKIAN, B. V. Comparative of Lowry and Bradford Methods: interfering substances. **Biotechnology Techniques**, v.13, p.149-154, 1999.

MCTIER, T.L., SHANKS, D.J., WATSON, P., MCCALL, J.W., GENCHI, C., SIX, R.H., THOMAS, C.A., DICKIN, S.K., PENGO, G., ROWAN, T.G., JERNIGAN, A.D. Prevention of Experimentally Induced Heartworm (*Dirofilaria immitis*) Infections in Dogs and Cats with a Single Topical Application of Selamectin. **Veterinary Parasitology**. v. 23; n.91, p. 3-4, 259-68 p, 2000.

MIKAL, M. D. S. Homeostase no Homem: Fluidos, eletrólitos, proteínas e minerais em clínica médica. São Paulo: Edart, 1967, p.432.

MORINI S. et al. Surgical Removal of heartworms versus melarsomine treatment of naturally-infected dogs with high risk of tromboembolism. **Recent Advances in Heartworm Disease: Symposium `98**. Batavia, IL: American Heartworm Society, 1998, p. 235-244.

MIYAMOTO, T., FUNGINAGA, T., KAZUTO, Y. Changes of Serum Cytokine Activities and Other Parameters in Dogs with Experimentally Induced Endotoxic Shock. **Journal of Veterinary Research**, v.44. n.2, p.107-118, 1996.

PACHECO, G.; TULLOCH, G. S. Microfilariae of *Dirofilaria striata* in a dog. **Journal of Parasitology**, v. 56, p. 248, 1970.

PINTO, P. A. Dicionário de Termos Médicos. 5. Ed. Rio de Janeiro: Editora Científica, 1949, 422 p.

RAWLINGS, C. A., McCALL, J. W., LEWIS, R. E. The Response of the Canine's Heart and Lungs to *Dirofilaria immitis*. **Journal of American Hospital Association**, v.14, p.17-32, 1978.

RAWLINGS , C. A., CALVERT, C. A. Dirofilariose. In ETTINGER, S. J. Tratado de Medicina Interna do Cão e do Gato, 3. Ed. São Paulo: Manole, v. 4, p.1222-1244, 1994.

REIS, J. C. Estatística aplicada à pesquisa em ciência veterinária. Olinda, 2003, 651p.

SASAKI, Y., KITAGAWA, H., ISHIHARA, K., SHIBATA, M. Prevention of Adverse Reactions Following Milbemycin D Administration to Microfilaremic Dogs Infected with *Dirofilaria immitis*. **Nippon Juigaku Zasshi**. v.51, n.4, p.711-715, 1989.

SCHACHER, J. F. Laboratory models in filariasis. A review of filarial life cycle patterns. **Southeast Asian Journal Tropical Medicine Public Health**. v. 4, p. 336-339, 1973.

SCHOLOTTANER, J, C.; HARRISON, E. G.; THOMPSON, J. H. Dirofilariasis na emergin zoonosis? **Archieve Enviromental Health**. v. 19, n. 6, p. 897-900, 1969.

SLATER, P. Manual de Cirurgia de Pequenos Animais. 2. Ed. São Paulo:Manole, 1998 p.2789.

SPINELLI, J. S., ENOS, L. R. Drugs in Veterinary Praticce. Saint Louis: The C.V. Mosby Company, 1978, p. 438.

TILLEY, L. P. Essential of Canine and Feline Eletrocardiography. 3. Ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1992.

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

TILLEY, L. P., SMITH Jr, F. W. K. The 5 Minute Veterinary Consult: Canine and Feline. Baltimore: Lea & Fabiger, 1997, p.1287.

TIZARD, I. Veterinary Immunology: An introduction. 4. Ed., W. B. Saunders Company, 1997, p.498.

URQUHART, G. M. et al. Parasitologia Veterinária. 2. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1996, 273 p.

YADA, R. S. et al. Incidência de *Dirofilaria immitis* na região de Botucatu, São Paulo. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA**, 23, 1994, Olinda-PE.

WARE, W. A . In: NELSON, R. W. & COUTO, C. G. Fundamentos de Medicina Interna Veterinária, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1994, 92-102 p.

ZUR, G.; BARK, H. *Dirofilaria immitis* in dogs: first report in Israel. **Israel Journal of Veterinary Medicine**, v. 47, n. 1, p. 24-30, 1992.





## 7. ANEXOS

## ANEXO 1

Tabela 2 - Sinais clínicos em cães inoculados experimentalmente com EB de *Dirofilaria immitis*

Sinais clínicos	A1	A2	A3	A4	A5	A6	C1	c2
letargia	a	a	a	a	a	a	a	a
mucosa hiperêmica	a	a	a	a	a	a	a	a
taquipnéia	a	a	a	a	a	a	a	a
palpitação	a	a	a	a	a	a	a	a
vômito	a	a	a	a	a	a	a	a
colapso	a	a	a	a	a	a	a	a
palidez de mucosa	a	a	a	a	a	a	a	a
sons cardíacos fracos	a	a	a	a	a	a	a	a
dispnéia	a	a	a	a	a	a	a	a
hipotermia	a	a	a	a	a	a	a	a
sinais de defecação	a	a	a	a	a	a	a	a
miose	a	a	a	a	a	a	a	a
sinais de micção	a	a	a	a	a	a	a	a
diarréia com sangue	a	a	a	a	a	a	a	a
morte	a	a	a	a	a	a	a	a
temperatura	38,8	38,4	39,6	39	39,3	38,6	40,2	38,6
batimentos cardíacos	a	a	a	a	a	a	a	a
vocalização	a	a	a	a	a	a	a	a
midríase	a	a	a	a	a	a	a	a
aumento de peristaltismo	a	a	a	a	a	a	a	a
opistótono	a	a	a	a	a	a	a	a
extremidades frias	a	a	a	a	a	a	a	a
recuperação do colapso	a	a	a	a	a	a	a	a

a: ausência

p: presença

## ANEXO 2

Tabela 3 - Sinais clínicos em cães cinco minutos após inoculação experimental com EB de *Dirofilaria immitis*.

Sinais clínicos	A1	A2	A3	A4	A5	A6	C1	C2
letargia	p	p	p	p	a	p	a	a
mucosa hiperêmica	p	a	a	p	a	p	a	a
taquipnéia	a	a	p	p	a	p	a	a
palpitação	a	a	a	a	a	a	a	a
vômito	a	p	a	a	a	a	a	a
colapso	p	p	a	p	a	p	a	a
palidez de mucosa	a	p	a	a	p	a	a	a
sons cardíacos fracos	a	a	a	p	a	p	a	a
dispnéia	a	p	a	p	a	p	a	a
hipotermia	a	a	a	a	a	a	a	a
sinais de defecação	a	p	a	a	a	a	a	a
miose	p	a	a	a	a	a	a	a
sinais de micção	a	p	a	p	a	p	a	a
diarréia com sangue	a	a	a	a	a	a	a	a
morte	a	a	a	a	a	a	a	a
temperatura	38,6	39,1	39,7	39	38,6	39	40,2	38,5
batimentos cardíacos	a	a	a	a	a	a	a	a
vocalização	a	a	a	a	a	a	a	a
midríase	a	a	a	p	a	p	a	a
aumento de peristaltismo	a	p	a	p	a	p	a	a
opistótono	a	a	a	p	a	p	a	a
extremidades frias	a	a	a	a	a		a	a
recuperação do colapso	a	p	a	p	a	p	a	a

a: ausência

p: presença

## ANEXO 3

Tabela 4 - Sinais clínicos em cães 15 minutos após inoculação experimental com EB de *Dirofilaria immitis*.

Sinais clínicos	A1	A2	A3	A4	A5	A6	C1	C2
letargia	p	p	p	p	p	p	a	a
mucosa hiperêmica	a	p	a	a	a	a	a	a
taquipnéia	a	a	a	p	a	p	a	a
palpitação	a	a	a	a	a	a	a	a
vômito	a	a	a	p	a	p	a	a
colapso	p	p	a	a	p	a	a	a
palidez de mucosa	p	p	p	p	p	p	a	a
sons cardíacos fracos	a	p	a	a	a	a	a	a
dispnéia	a	p	a	p	a	p	a	a
hipotermia	a	a	a	p	a	p	a	a
sinais de defecação	a	p	a	a	a	a	a	a
miose	a	a	a	a	a	a	a	a
sinais de micção	a	a	a	a	a	a	a	a
diarréia com sangue	a	a	a	a	a	a	a	a
morte	a	a	a	a	a	a	a	a
temperatura	38,5	39,2	39,5	38,9	38,7	38,9	40,2	38,3
batimentos cardíacos	a	a	a	a	a	a	a	a
vocalização	a	a	a	a	a	a	a	a
midríase	p	a	a	a	p	a	a	a
aumento de peristaltismo	a	p	a	a	a	a	a	a
opistótono	a	a	a	a	a	a	a	a
extremidades frias	a	a	a	p	a	p	a	a
recuperação do colapso	a	a	a	a	a	a	a	a

a: ausência

p: presença

## ANEXO 4

Tabela 5 - Sinais clínicos em cães 30 minutos após inoculação experimental com EB de *Dirofilaria immitis*.

Sinais clínicos	A1	A2	A3	A4	A5	A6	C1	C2
letargia	p	p	p	p	p	p	a	a
mucosa hiperêmica	a	p	a	a	a	a	a	a
taquipnéia	a	a	a	a	a	a	a	a
palpitação	a	a	a	a	a	a	a	a
vômito	a	a	a	a	a	a	a	a
colapso	a	a	a	a	a	a	a	a
palidez de mucosa	p	a	p	p	p	p	a	a
sons cardíacos fracos	a	a	a	a	a	a	a	a
dispnéia	a	p	a	p	a	p	a	a
hipotermia	a	a	a	a	a	a	a	a
sinais de defecação	p	p	a	a	a	a	a	a
miose	p	a	a	a	a	a	a	a
sinais de micção	a	a	a	a	a	a	a	a
diarréia com sangue	a	a	a	a	a	a	a	a
morte	a	a	a	a	a	a	a	a
temperatura	38,6	39,4	39,7	38,6	38,9	38,6	40,3	38,6
batimentos cardíacos	a	a	a	3 bulha	a	3 bulha	a	a
vocalização	a	a	a	a	a	a	a	a
midríase	a	a	a	p	p	p	a	a
aumento de peristaltismo	a	p	a	a	a	a	a	a
opistótono	a	a	a	a	a	a	a	a
extremidades frias	a	a	a	p	a	p	a	a
recuperação do colapso	a	a	a	a	a	a	a	a

a: ausência

p: presença

## ANEXO 5

Tabela 6 - Sinais clínicos em cães 60 minutos após inoculação experimental com EB de *Dirofilaria immitis*.

Sinais clínicos	A1	A2	A3	A4	A5	A6	C1	C2
letargia	p	p	p	p	p	p	a	a
mucosa hiperêmica	a	p	a	a	a	a	a	a
taquipnéia	a	a	a	a	a	a	a	a
palpitação	a	a	a	a	a	a	a	a
vômito	a	a	a	a	a	a	a	a
colapso	a	a	a	a	a	a	a	a
palidez de mucosa	p	a	p	p	p	p	a	a
sons cardíacos fracos	a	a	a	a	a	a	a	a
dispnéia	a	p	a	p	a	p	a	a
hipotermia	a	a	a	a	a	a	a	a
sinais de defecação	p	p	a	a	a	a	a	a
miose	p	a	a	a	a	a	a	a
sinais de micção	a	a	a	a	a	a	a	a
diarréia com sangue	a	a	a	a	a	a	a	a
morte	a	a	a	a	a	a	a	a
temperatura	38,6	39,4	39,7	38,6	38,9	38,6	40,3	38,6
batimentos cardíacos	a	a	a	3 bulha	a	3 bulha	a	a
vocalização	a	a	a	a	a	a	a	a
midríase	a	a	a	p	p	p	a	a
aumento de peristaltismo	a	p	a	a	a	a	a	a
opistótono	a	a	a	a	a	a	a	a
extremidades frias	a	a	a	p	a	p	a	a
recuperação do colapso	a	a	a	a	a	a	a	a

a: ausência

p: presença

## ANEXO 6

Tabela 7 - Sinais clínicos em cães 120 minutos após inoculação experimental com EB de *Dirofilaria immitis*.

Sinais clínicos	A1	A2	A3	A4	A5	A6	C1	C2
letargia	a	p	p	a	p	a	a	a
mucosa hiperêmica	p	p	a	a	a	a	a	a
taquipnéia	a	a	a	a	a	a	a	a
palpitação	a	a	a	a	a	a	a	a
vômito	p	a	a	a	a	a	a	a
colapso	a	a	a	a	a	a	a	a
palidez de mucosa	p	a	p	a	a	a	a	a
sons cardíacos fracos	a	a	a	a	a	a	a	a
dispnéia	a	a	a	a	a	a	a	a
hipotermia	a	a	a	a	a	a	a	a
sinais de defecação	a	p	a	a	a	a	a	a
miose	a	a	a	a	a	a	a	a
sinais de micção	a	p	a	a	a	a	a	a
diarréia com sangue	a	p	a	a	a	a	a	a
morte	a	a	a	a	a	a	a	a
temperatura	38,6	39,4	39,9	38,1	38,8	38,1	40,2	38,5
batimentos cardíacos	a	a	a	a	a	a	a	a
vocalização	a	a	a	a	a	a	a	a
midríase	a	a	a	a	a	a	a	a
aumento de peristaltismo	a	p	a	a	a	a	a	a
opistótono	a	a	a	a	a	a	a	a
extremidades frias	a	a	a	a	a	a	a	a
recuperação do colapso	a	a	a	a	a	a	a	a

a: ausência

p: presença



## ANEXO 7

Tabela 8 - Sinais clínicos em cães 24 horas após inoculação experimental com EB de *Dirofilaria immitis*

Sinais clínicos	A1	A2	A3	A4	A5	A6	C1	C2
letargia	a	a	a	a	a	a	a	a
mucosa hiperêmica	a	a	a	a	a	a	a	a
taquipnéia	a	a	a	a	a	a	a	a
palpitação	a	a	a	a	a	a	a	a
vômito	p	p	a	a	a	a	a	a
colapso	a	a	a	a	a	a	a	a
palidez de mucosa	a	a	a	a	a	a	a	a
sons cardíacos fracos	a	a	a	a	a	a	a	a
dispnéia	a	a	a	a	a	a	a	a
hipotermia	a	a	a	a	a	a	a	a
sinais de defecação	a	a	a	a	a	a	a	a
miose	a	a	a	a	a	a	a	a
sinais de micção	a	a	a	a	a	a	a	a
diarréia com sangue	a	p	a	a	a	a	a	a
morte	a	a	a	a	a	a	a	a
temperatura	38,5	38,7	40	38,5	39,3	38,5	40,1	38,6
batimentos cardíacos	a	a	a	a	a	a	a	a
vocalização	a	a	a	a	a	a	a	a
midríase	a	a	a	a	a	a	a	a
aumento de peristaltismo	a	a	a	a	a	a	a	a
opistótono	a	a	a	a	a	a	a	a
extremidades frias	a	a	a	a	a	a	a	a

a: ausência

p: presença

## ANEXO 8

Tabela 9 – Variáveis do eletrocardiograma observadas em cães submetidos a inoculação de Extrato Bruto de *Dirofilaria immitis*. Recife, 2004.

ondas	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	Controle
p tempo	0.05	0.04	0.04	0.045	0.04	0.04	0.03	0,04
p altura	0.35	0.25	0.2	0,2	0.3	0.25	0.2	0.1
onda r	1,35	1.3	0.9	1,1	2.0	1,4	1.5	0.8
comp QRS	0.05	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.04
seg st	s.a	s.a	s.a	s.a	s.a	s.a	s.a	s.a
T cv5rl	+	+	+	+	+	+	+	+
R cv6ll	0.4	1.35	1.3	0.95	1.2	2.3	1.25	1.0
S cv6ll	0.5	0.4	0.5	0.7		0,1	0.2	0.1
R cv6lu	0.3	0,3	0.6	0.7	1.6	1.5	1.3	0.7
S cv6lu	0.7	0,1	0,3	0.3	0,3	0,1	0,15	0.1
ritmo	as	asmm	as	asmm	asmm	as	asmm	asmm
freqüência	120	80	80	80	100	80	80	160
eixo	60-90	60-90	60-90	60-90	60-90	60-90	60-90	30-60
seg pr	0.11	0,13	0.12	0.11	0.12	0.14	0.09	0.12
v 10	neg	neg	neg	neg	neg	+	neg	neg

## Legenda

as – arritmia sinusal.

asmm- arritmia sinusal com marcapasso migratório.

neg- negativo.

s.a – sem alteração.

p – onda P.

comp QRS- complexo formado entre as ondas Q, R e S.

seg ST- segmento correspondente entre as ondas S e T.

T cv5rl- onda T na derivação cv5rl.

R cv6ll- onda r na derivação cv6ll.

S cv6ll- onda S na derivação cv6ll.

R cv6lu- onda R na derivação cv6l.

S cv6lu- onda S na derivação cv6lu.

Eixo- Eixo elétrico médio.

Seg pr- Segmento correspondente entre as ondas P e R.

v-10- 4 derivação pré-cordial.

## ANEXO 9

Tabela 10– Variáveis do eletrocardiograma de caninos após 5 minutos da inoculação experimental, por via intravenosa de extrato de *Dirofilaria immitis*.

ondas	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
p tempo	0.045	0.05	0.05	0,06	0.04	0.05	0.03	0,04
p altura	0.25	0.2	0.2	0.2	0.2	0.25	0.2	0.1
onda r	1.0	0.7	1.0	0.8	1,75	1.4	1.3	1.2
comp QRS	0.06	0.06	0.045	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05
seg st	as	s.a	s.a	s.a	s.a	s.a	s.a	s.a
t cv5rl	+	+	+	+	+	+	+	+
R cv6ll	0.4	1.2	1.0	0.6	0.7	1.3	0.8	1.4
S cv6ll	0.5	0.4	0.4	0.5	0,5	0,1	0.21	0,1
R cv6lu	0.3	0.3	0.7	0.4	2.2	1.2	1.1	1.0
S cv6lu	0.45	0,2	0,25	0,3	0,3	0,1	0.1	0.2
ritmo	bs	asmm	as	asmm	asmm	rsn	asmm	asmm
freqüência	53	120	100	120	120	120	80	120
eixo	60-90	90-120	60-90	60-90	60-90	60-90	60-90	60
seg pr	0.13	0,1	0.11	0.12	0.11	0.09	0.12	0.12
v 10	neg	neg	neg	neg	neg	+	neg	neg

Tabela 11 - Variáveis do eletrocardiograma de caninos após 15 minutos da inoculação experimental, por via intravenosa de extrato de *Dirofilaria immitis*.

ondas / Tempo	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
p tempo	0.04	0.04	0.04	0.06	0.04	0.05	0.03	0,04
p altura	0.3	0.2	0.2	0.25	0.2	0,3	0.2	0.1
onda r	1.1	0.6	1.0	1.0	1.9	1.0	1.25	1.0
comp QRS	0.05	0.06	0.06	0.05	0.05	0.06	0.05	0.04
seg st	as	as	s.a	s.a	supra	s.a	s.a	s.a
t cv5rl	+	+	+	+	+	+	+	pos
R cv6ll	0.4	1.4	1.4	1.1	1.7	1,4	1.0	1.30
S cv6ll	0.5	0.4	0.4	0.6	0,4	0,4	0.2	0.1
R cv6lu	0.35	0.35	0.7	0.8	2,7	1.3	0.95	0.8
S cv6lu	0.8	0,1	0,3	0.05	0,05	0,1	0.1	0.1
ritmo	bsps	bs	bs	asmm	bsm	bs	asmm	asmm
frequencia	60	60	60	100	60	60	80	100
eixo	30-60	30-60	60-90	60-90	60-90	60-90	60-90	60-90
seg pr	0.15	0,1	0.11	0.11	0.11	0.09	0.09	0.12
v 10	neg	neg	neg	neg	neg	pos	neg	neg

## ANEXO 10

Tabela 12 - Variáveis do eletrocardiograma de caninos após 30 minutos da inoculação experimental, por via intravenosa de extrato de *Dirofilaria immitis*

ondas / Tempo	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
p tempo	0.06	0.04	0.04	0.05	0.03	0.05	0.03	0,04
p altura	0.25	0.25	0.1	0.3	0.2	0.25	0.15	0.1
onda r	1.2	0.7	0.3-0.8	1.0	1.9	1.3	1.25	0.8
comp QRS	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.04	0.04
seg st	as	as	s.a	s.a	s.a	s.a	s.a	s.a
t cv5rl	+	+	+	+	+	+	+	+
R cv6ll	0.4	1	0.9	1,3	1,7	1.6	1.0	1.2
S cv6ll	0.5	0.5	0.5	0.8		0.3	0.15	0.1
R cv6lu	0.2	0.3	0.6	0.55	2.7	1.3	0.9	1.0
S cv6lu	1.0	0,15	0,35	0,3	0,3	0,1	0.1	0.1
ritmo	bs	bs	bs	asmm	bsmm	bs	asmm	bsmm
frequencia	60	54	60	120	60	60	80	80
eixo	30-60	60-90	60-90	30-60	60-90	60-90	60	60-90
seg pr	0,14	0,1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.12
v 10	neg	pos	neg	neg	neg	+	neg	neg

Tabela 13 - Variáveis do eletrocardiograma de caninos após 60 minutos da inoculação experimental, por via intravenosa de extrato de *Dirofilaria immitis*

ondas / Tempo	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
p tempo	0.05	0.04	0.03	0.05	0.04	0.05	0.04	0,04
p altura	0.35	0.4	0.1	0.2	0.25	0.3	0.2	0.1
onda r	1.1	0.9	0.9	1.0	2.0	1.	1.1	0.8
comp QRS	0.05	0.05	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.04
seg st	as	as	s.a	s.a	supra	s.a	s.a	s.a
t cv5rl	+	+	+	+	+	+	+	+
R cv6ll	0.4	1.1	1.1	0.7	1.2	1.6	1.0	1.5
S cv6ll	0.5	0.6	0.6	0,6	0,6	0.2	0.2	0.1
R cv6lu	1.2	0.35	1.0	1.1	2.1	1.3	0.9	1.3
S cv6lu	0.35	0,3	0.25	0.5	0,4	0,1	0.1	0.15
ritmo	as	ts	bs	asmm	asmm	rsn	asmm	asmm
frequencia	80	200	60	120	80	100	100	100
eixo	60-90	60-90	60-90	30	60-90	60-90	60-90	60-90
seg pr	0,13	0,12	0.09	0.11	0.1	0.1	0.11	0.13
v 10	neg	pos	neg	neg	neg	+	neg	neg

## ANEXO 11

Tabela 14 - Variáveis do eletrocardiograma de caninos após 120 minutos da inoculação experimental, por via intravenosa de extrato de *Dirofilaria immitis*

ondas / Tempo	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
p tempo	0.05	0.05	0.04	0,05	0.05	0.05	0.03	0,04
p altura	0.25	0.3	0.2	0,2	0.3	0.3	0.2	0.1
onda r	1,3	0.7	0.6	0.8	2.6	1.2	1.6	0.8
comp QRS	0.05	0.05	0.06	0,05	0.05	0.05	0.05	0.04
seg st	s.a	s.a	s.a	s.a	s.a	s.a	s.a	s.a
t cv5rl	+	+	+	s.a	+	+	+	+
R cv6ll	0.6	0.8	0.8	1.0	1.5	1.6	1.9	1.4
S cv6ll	0.45	0,1	0,2	0.6	0,2	0.1	0.2	0,1
R cv6lu	0,15	0.4	0.9	0.4	2.7	1.1	1.75	1.0
S cv6lu	0.5	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0.2	0.2
ritmo	asmm	tmm	rs	asmm	asmm	rsn	asmm	asmm
frequencia	100	200	120	80	80	120	100	120
eixo	90-120	60-90	60-90	30	60-90	60	30-60*	60
seg pr	0,11	0,09	0.08	0.09	0.12	0.09	0.1	0.12
v 10	neg	pos	neg	neg	neg	+	neg	neg

Tabela 15 – Variáveis do eletrocardiograma de caninos após 24 horas da inoculação experimental, por via intravenosa de extrato de *Dirofilaria immitis*

variáveis	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
p tempo	0.05	0	0.04	0.05	0.04	0.04	0.03	0,04
p altura	0.3	0.04	0.2	0.2	0.35	0,3	0.15	0.1
onda r	1,2	0.25	0.9	1.1	2.0	1,4	1.3	0.8
comp QRS	0.05	0,05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.04	0.04
seg st	s.s	s.a	s.a	s.a	s.a	s.a	s.a	s.a
t cv5rl	+	0,05	+	+	+	+	+	+
R cv6ll	0.5	1,3	1.0	1.3	1.3	2.0	1.5	1.2
S cv6ll	0.5	0.4	0.5	0.8	0,5	0,4	0.2	0.1
R cv6lu	0.35	0.3	1	1,3	1.65	1.5	0.9	1.0
S cv6lu	0.6	0,2	0,3	0.25	0,1	0,1	0,1	0.1
ritmo	as	asmm	as	asmm	asmm	as	asmm	asmm
frequencia	100	120	100	60	120	120	80	80
eixo	60-90	60-90	60-90	60-90	60-90	60-90	60-90	60-90
seg pr	0.11	0,1	0.12	0.13	0,1	0.14	0.12	0.12
v 10	neg	pos	neg	neg	neg	+	neg	neg

## ANEXO 12

Tabela 16- Variáveis hematológicas de caninos observados em cães submetidos a inoculação de Extrato Bruto de *Dirofilaria immitis*. Recife, 2004

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
Hemácias (x10 <sup>6</sup> )	6,3	4.67	6,97	5.8	5,18	4,78	5,7	6.5
hemoglobina	14,75	13	11,47	19.3	15,51	13.08	14.99	17,37
VG (%)	49	43	41	45	44	40	42	40
Vcm (fl)	30,1	92.07	58,82	77,58	84.94	83.68	73,68	61,53
Chcm (%)	77,7	30.23	27,97	42.88	35,25	32,7	35.69	43,42
Proteínas totais (g/dl)	8	8	9.2	8,6	7.4	6.4	6,6	8.2
Leucócitos totais (x10 <sup>3</sup> )	12,1	10.95	15,35	26,50	9,9	8,75	9,75	17,8
eosinófilos	0	0	0	0	297	174	0	356
segmentados	8712	8829	11052	16695	7623	6612	7605	10680
linfócitos	3146	1417	2916	7685	1485	1566	1560	6052
monócitos	121	436	1228	1590	396	87	390	356
bastonetes	121	218	153	530	99	261	195	356
Eosinófilos (%)	0	0	0	0	3	1	0	2
Segmentados (%)	72	81	72	63	77	76	78	60
Linfócitos (%)	26	13	19	29	15	18	16	34
Monócitos (%)	1	4	8	6	4	1	4	2
Bastonetes (%)	1	2	1	1	1	3	2	2

Tabela 17 – Variáveis hematológicas de animais após 5 minutos da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de *Dirofilaria immitis*

animais	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
Hemácias (x10 <sup>6</sup> )	7.69	6.96	4,13	5,95	5.77	4,33	5,86	5,9
hemoglobina	13.63	12.24	10.85	15,5	13	12,71	13,28	14.45
VG (%)	47	43	33	34	45	38	38	37
Vcm (fl)	61.1	61,78	79.9	57,14	77.98	87,75	64.84	78,72
Chcm (%)	29	28,46	32,88	45.58	28,88	33.44	34,94	39.05
Proteínas totais (g/dl)	6.4	7.4	8.2	9	6.8	7	6.6	8,2
Leucócitos totais (x10 <sup>3</sup> )	4,25	4,05	13.5	23,7	13,0	8,7	10.05	16.5
eosinófilos	425	80	0	711	65	0	101	495
segmentados	3400	2040	10800	14457	9750	6699	7738	11880
linfócitos	765	1800	2025	7821	2340	1305	1708	3135
monócitos	425	80	405	711	260	174	402	660
bastonetes	0	0	270	0	0	522	101	330
Eosinófilos (%)	1	1	0	3	5	0	1	3
Segmentados (%)	80	51	80	61	75	77	77	72
Linfócitos (%)	18	45	15	33	18	15	17	19
Monócitos (%)	1	2	3	3	2	2	4	4
Bastonetes (%)	0	0	1	0	0	6	1	2

## ANEXO 13

Tabela 18 – Variáveis hematológicas de animais 15 minutos horas da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de *Dirofilaria immitis*

animais	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
Hemácias (x10 <sup>6</sup> )	8.15	7.8	8.92	6,6	4,97	3,73	7	4,7
hemoglobina	13.63	13.9	9.5	14,5	13.7	10.77	12.62	12,57
VG (%)	44	47	44	38	45	33	38	36
Vcm (fl)	53.98	60.25	49.33	42,42	4,97	88,47	54.28	76,59
Chcm (%)	30.97	29,57	21.59	38,1	30,44	32.63	33.21	34,91
Proteínas totais (g/dl)	5.8	8	8.6	8,4	6.8	6.8	6,8	8,2
eucócitos totais (x10 <sup>3</sup> )	5.35	3.45	10.25	17,9	10.05	5,05	10.05	19,3
eosinófilos	160	690	0	895	10050	0	0	386
segmentados	4440	169	9180	11456	7638	3950	7839	12738
linfócitos	535	166	718	5191	1407	650	1809	5597
monócitos	107	34	0	358	603	150	101	386
bastonetes	107	69	102	0	1	250	301	193
Eosinófilos (%)	3	2	0	5	3	0	0	2
Segmentados (%)	83	49	90	64	76	79	78	66
Linfócitos (%)	10	48	9	29	14	13	18	29
Monócitos (%)	2	1	0		6	3	1	2
Bastonetes (%)	2	2	1	0	1	5	3	1

Tabela 19 – Variáveis hematológicas de animais após 30 minutos da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de *Dirofilaria immitis*

animais	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
Hemácias (x10 <sup>6</sup> )	4.57	6.15	4,9	5,2	6,45	5,19	5,01	6,06
hemoglobina	13,85	15.87	8.2	14,4	13.3	13.92	13.68	12.07
VG (%)	44	58	29	53	43	42	38	36
Vcm (fl)	70.86	94.3	59,18	101.92	66.6	80.92	76	59,4
Chcm (%)	31,47	27.36	28,28	27,1	30.93	33,14	36	33.52
Proteínas totais (g/dl)	5.6	7.6	8.2	8,6	6.6	6.6	6,6	8,2
Leucócitos totais (x10 <sup>3</sup> )	4.3	4.85	10	22.8	11.65	7,90	12.6	18,8
eosinófilos	559	0	0	368	582	237	0	188
segmentados	3397	3120	1925	15960	10019	6399	9828	13912
linfócitos	301	1632	425	4332	815	948	2520	3572
monócitos	43	0	50	1140	233	237	0	752
bastonetes	0	0	100	0	0	0	252	376
Eosinófilos (%)	13	0	0	6	5	3	0	1
Segmentados (%)	79	65	77	70	86	82	78	74
Linfócitos (%)	7	34	17	19	7	12	20	19
Monócitos (%)	1	0	2	5	2	3	0	4
Bastonetes (%)	0	0	4	0	0	0	2	2

## ANEXO 14

Tabela 20 – Variáveis hematológicas de animais após 60 minutos da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de *Dirofilaria immitis*

animais	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
Hemácias (x10 <sup>6</sup> )	6.21	7.77	5,95	5,06	5.35	3,88	6,1	5,3
hemoglobina	13.49	17.48	10,17	15,7	10.9	14.03	13,63	14,99
VG (%)	45	57	32	36	45	43	37	40
Vcm (fl)	72.46	73.35	53,78	71,14	84.11	110.82	61.66	75,47
Chcm (%)	29,97	30.66	31,78	43.61	24.22	32.62	36.83	37.45
Proteínas totais (g/dl)	6	7.6	8,4	8,3	6.5	6.7	6,4	8,6
Leucócitos totais (x10 <sup>3</sup> )	3.9	3.10	2,5	13,7	7,45	8350	10,08	17,3
eosinófilos	702	62	25	685	447	0	0	519
segmentados	249	1302	1600	10138	5885	6972	7606	11764
linfócitos	546	1643	325	2055	7450	747	1701	4498
monócitos	156	62	25	822	223	83	660	0
bastonetes	78	31	0	0	149	498	101	564
Eosinófilos (%)	18	1	1	3	6	0	0	3
Segmentados (%)	64	42	64	74	79	84	76	68
Linfócitos (%)	14	53	33	15	10	9	17	26
Monócitos (%)	4	2	1	6	3	1	6	0
Bastonetes (%)	2	1	0	0	2	6	1	3

Tabela 21 – Variáveis hematológicas de animais após 120 minutos da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de *Dirofilaria immitis*

animais	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
Hemácias (x10 <sup>6</sup> )	4.43	10.3	12,32	5,09	4,89	4.2	6,5	5.02
hemoglobina	12.6	18.42	13,18	15,2	13,9	13.90	14,59	12,12
VG (%)	45	65	41	33	51	43	40	37
Vcm (fl)	101,58	63.1	33.38	64,83	104,29	102.38	61,53	73.7
Chcm (%)	28	28.33	32,15	46.06	27.25	32,32	36,47	32,75
Proteínas totais (g/dl)	6	7.8	8,6	8,2	7.2	6.8	6,6	8,4
Leucócitos totais (x10 <sup>3</sup> )	3.2	2.1	10,25	26,4	15,9	10,15	9	18,2
eosinófilos	352	0	0	792	636	406	0	182
segmentados	2200	1344	7752	20592	14310	8424	6750	10920
linfócitos	448	609	1326	3432	795	710	1980	6188
monócitos	128	84	102	1056	0	507	270	728
bastonetes	64	0	0	528-	159	101	00-00	182
Eosinófilos (%)	11	0	0	3	4	4	0	1
Segmentados (%)	69	64	76	78	90	83	75	60
Linfócitos (%)	14	29	13	13	5	7	22	34
Monócitos (%)	4	4	1	4	0	5	3	4
Bastonetes (%)	2	0	0	2	1	1	0	1



## ANEXO 15

Tabela 22 – Variáveis hematológicas de animais após 24 horas da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de *Dirofilaria immitis*

animais	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
Hemácias (x10 <sup>6</sup> )	7.8	6,34	8,1	6,5	5,69	6.97	6,18	5.5
hemoglobina	13.49	16.2	16.8	14,5	12,82	15,75	13,43	14,3
VG (%)	43	42	37	31	37	47	38	38
Vcm (fl)	55,12	66.24	75,24	47.69	65.02	67,43	61.48	69,09
Chcm (%)	31.37	38,57	36,4	46.77	34.64	33,51	35,34	37,63
Proteínas totais (g/dl)	6.6	8	8,6	8	7	8,4	6,4	8,1
Leucócitos totais (x10 <sup>3</sup> )	14.45	26.4	19,1	14,55	18,15	15,0	8,95	18,0
eosinófilos	289	264	0	1018	545	1650	0	180
segmentados	11415	19272	11640	8148	15246	9150	7249	12960
linfócitos	2023	6072	5539	4510	1452	1500	1433	4320
monócitos	578	792	1146	727	726	2250	89	360
bastonetes	144	0	955	145	181	450	179	180
Eosinófilos (%)	2	1	0	7	3	11	0	1
Segmentados (%)	79	73	60	56	84	61	81	72
Linfócitos (%)	14	23	29	31	8	10	16	24
Monócitos (%)	4	3	6	5	4	15	1	2
Bastonetes (%)	1	0	5	1	1	3	2	1

## ANEXO 16

Tabela 23- Variáveis bioquímica séricas de caninos observados em cães submetidos a inoculação de Extrato Bruto de *Dirofilaria immitis*. Recife, 2004

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
Uréia (g/dl)	21	25	22	22	25	23	25	32
Creatinina (g/dl)	0,97	0,86	0,86	1.01	1.1	1,26	0.86	0.94
AST (g/dl)	41	66	45	32	34	61	32	76
ALP (g/dl)	22	64	75	30	25	55	45	76
Cpk (g/dl)	63	80	110	26	46	48	78	129

Tabela 24 – Variáveis bioquímica séricas de animais após 5 minutos da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de *Dirofilaria immitis*

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
Uréia (g/dl)	21	33	27	29	29	58	22	38
Creatinina (g/dl)	0.98	1,15	0.53	1.17	1.17	0.93	0.63	0.96
AST (g/dl)	40	59	24	29	36	52	34	82
ALT (g/dl)	33	57	33	26	20	54	40	76
Cpk (g/dl)	57	82	129	26	50	48	70	125

Tabela 25 – Variáveis bioquímica séricas de animais 15 minutos horas da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de *Dirofilaria immitis*

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
Uréia (g/dl)	16	35	35	15	24	65	24	34
Creatinina (g/dl)	0.83	1,1	1,04	1,12	1.3	1.22	0.83	0.8
AST (g/dl)	64	68	36	26	34	59	34	79
ALT (g/dl)	20	64	13	20	20	57	43	82
Cpk (g/dl)	57	105	85	27	57	24	76	135

## ANEXO 17

Tabela 26 Variáveis bioquímica séricas de animais após 30 minutos da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de *Dirofilaria immitis*

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
Uréia (g/dl)	18	19	35	31	32	57	29	34
Creatinina (g/dl)	0.87	1,5	1.13	1.01	0.92	1,47	0.60	1.09
AST (g/dl)	40	71	38	21	32	33	36	76
ALT (g/dl)	29	70	13	15	33	76	40	73
Cpk (g/dl)	46	113	210	32	59	37	78	131

Tabela 27 – Variáveis bioquímica séricas de animais após 1 hora da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de *Dirofilaria immitis*

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
Uréia (g/dl)	20	17	29	36	29	52	26	32
Creatinina (g/dl)	0.80	1,3	1,1	1.05	0.92	1.42	0.72	1,03
AST(g/dl)	43	137	127	36	32	78	32	75
ALP(g/dl)	38	139	41	26	35	99	40	83
Cpk (g/dl)	57	128	150	28	57	67	76	120

Tabela 28– Variáveis bioquímica séricas de animais após 2 horas da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de *Dirofilaria immitis*

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
Uréia (g/dl)	21	60	35	33	28	55	26	33
Creatinina (g/dl)	0.79	1.66	0.98	0.92	1.01	1,43	0,77	0.92
AST (g/dl)	41	161	32	26	33	104	36	76
ALP(g/dl)	38	136	29	24	38	111	45	66
Cpk (g/dl)	42	157	156	40	89	65	97	141

## ANEXO 18

Tabela 29 – Variáveis bioquímica séricas de animais após 24 horas da inoculação experimental por via intravenosa de extrato bruto de *Dirofilaria immitis*

	A1	A2	A3	A4	A5	A6	controle	controle
Uréia (g/dl)	28	35	28	34	25	40	24	33
Creatinina (g/dl)	0.91	0,27	1,06	0.99	1.1	1,41	0,89	0.94
AST(g/dl)	100	22	41	29	32	62	33	80
ALPg/dl)	103	20	94	28	88	71	43	76
Cpk (g/dl)	32	125	113	35	92	87	93	122