



UNIVERSIDADE DO SUL DE SANTA CATARINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
DAYANE BORBA DA SILVA

INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE *Dirofilaria immitis* EM CÃES
RESIDENTES NA CIDADE DE TUBARÃO, SANTA CATARINA, E FATORES DE
RISCO ASSOCIADOS A INFECÇÃO

DAYANE BORBA DA SILVA

**INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE *Dirofilaria immitis* EM CÃES
RESIDENTES NA CIDADE DE TUBARÃO, SANTA CATARINA, E FATORES DE
RISCO ASSOCIADOS A INFECÇÃO**

LINHA DE PESQUISA: Investigação de agravos à saúde de origem infecciosa

Dissertação de Mestrado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em Ciências
da Saúde para obtenção do título de
Mestra em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Josiane Somariva Prophiro, Dra.
Coorientadora: Profa. Betine Pinto Moehleck Iser, Dra.

Tubarão
2021

DAYANE BORBA DA SILVA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - MESTRADO

Título da Dissertação

Investigação epidemiológica de *Dirofilaria immitis* em cães residentes na cidade de Tubarão, Santa Catarina, e fatores de risco associados a infecção

DAYANE BORBA DA SILVA
AUTOR

Aprovada pela Banca Avaliadora de Defesa da Dissertação em 17 de dezembro de 2021.

Doutora Josiane Somariva Prophiro (Orientador)

Doutora Nicole Regina Capacchi Hlavac Vincenzi (Avaliador externo – UFBA) – *presente por videoconferência*

Doutor Daisson José Trevisol (Avaliador interno) – *presente por videoconferência*

Professor Doutor Jefferson Traebert
COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNISUL

Unisul - Universidade do Sul de Santa Catarina, Sede, Reitoria - Av. José Acácio Moreira, 787, Bairro Dehon - 88704-900, Tubarão, SC - Fone 48 3621.3000
Unisul Região Sul
- Campus Tubarão - Avenida José Acácio Moreira, 787, Bairro Dehon, Caixa Postal 370 - 88704-900, Tubarão, SC - Fone 48 3621.3000
- Campus Araranguá - Rodovia Governador Jorge Lacerda, 3201, Bairro Urussanguinha - 88905-355, Araranguá, SC - Fone 0800 970 7000 - 48 3521-3000
- Campus Braço do Norte - Rodovia SC 370, 1023, Rio Bonito - 88750-000, Braço do Norte, SC - Fone 0800 970 7000 - 48 3621-3925
- Campus Içara - Rua Linha Três Ribeirões, Loteamento Centenário, 250, Bairro Liri - 88820-000, Içara, SC - Fone 0800 970 7000 - 48 3621-3460
Unisul Região Grande Florianópolis
- Campus Pedra Branca - Avenida Pedra Branca, 25, Cidade Universitária Pedra Branca, 88137-270, Palhoça, SC - Fone 48 3279.1000
- Campus Florianópolis - Rua Dlb Mussi, 366, Centro - 88015-110, Florianópolis, SC - Fone 48 3279.1000

- S58 Silva, Dayane Borba da, 1985 -
 Investigação epidemiológica de *Dirofilaria immitis* em cães residentes na cidade de Tubarão, Santa Catarina, e fatores de risco associados a infecção / Dayane Borba da Silva. – 2021.
 57 f. : il. color.; 30 cm
- Dissertação (Mestrado) – Universidade do Sul de Santa Catarina, Pós-graduação em Ciências da Saúde.
 Orientação: Prof^ª. Dr^ª. Josiane Somariva Prophiro
 Coorientação: Prof^ª. Dr^ª. Betine Pinto Moehleck Iser
1. Zoonoses. 2. Microfilária. 3. Dirofilariose. I. Prophiro, Josiane Somariva. II. Iser, Betine Pinto Moehleck. III. Universidade do Sul de Santa Catarina. IV. Título.
- CDD (21. ed.) 636.089

Ficha catalográfica elaborada por Carolini da Rocha CRB 14/1215

Dedico este trabalho aos meus pais, ao meu esposo e aos grandes amigos que a medicina veterinária me deu. Foram fundamentais para esta etapa desafiadora da profissão.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, força divina por chegar até aqui com saúde, e me manteve com forças nesta etapa da vida.

Ao meu esposo, por me manter com foco e perseverança, quando tantas vezes pensei em desistir e me vi ansiosa, com medo de não dar conta. Por tantos dias ausente em meio a trabalhos, por tantas vezes solícito em ajudar. Ele que é minha inspiração em positividade, pró atividade, além de um profissional de excelência. Obrigada por tudo, te amo.

A minha irmã por sempre me orientar e auxiliar durante todo mestrado com sugestões e críticas construtivas, além do apoio em meio aos meus medos. A família, meus pais, sem eles e seus ensinamentos, nada disso seria possível.

A minha orientadora e professora Josiane Somariva Prophiro, por aceitar me orientar sobre um assunto que tanto me interessava, agregado a medicina veterinária. Imensamente grata pela sua paciência, dedicação e preocupação. Obrigada por todas as mensagens de incentivo e toda atenção prestada, você como professora é uma inspiração.

A todos os colegas e professores do programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL), pelos ensinamentos e contribuições na carreira docente. Se hoje sou uma melhor profissional, com certeza foi graças a vocês e a todo conhecimento transmitido.

Um agradecimento especial as veterinárias Sabrina e Aline Giroto, pela dedicação e por me auxiliarem nas análises laboratoriais. As clínicas/hospitais e veterinários que colaboraram para o desenvolvimento da pesquisa, obrigada a todos.

RESUMO

Introdução: A Dirofilariose possui como agente etiológico o nematódeo filarídeo *Dirofilaria immitis*, é uma zoonose de cães de caráter crônico que gera sérias complicações cardíacas e pulmonares nesta espécie. Possui maior prevalência em regiões litorâneas sendo transmitida por vetores como *Aedes*, *Culex* e *Anopheles*.

Objetivo: Investigar a prevalência de *Dirofilaria immitis* na população de cães residentes na cidade de Tubarão, Santa Catarina e fatores de risco associados a infecção. **Métodos:** Foi realizada amostragem sanguínea por conveniência de cães oriundos da rotina de atendimentos de clínicas e hospitais veterinários da cidade de Tubarão-SC. As amostras foram enviadas ao laboratório para pesquisa de microfilárias através da técnica de análise do tubocapilar e esfregaço sanguíneo, pesquisa de antígeno por imunocromatografia e detecção por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Foi aplicado um questionário aos tutores com as principais informações e características dos animais para posterior descrição e associação dos achados. **Resultados:** em 204 amostras avaliadas, não foram visualizadas microfilárias na técnica de microcapilar e esfregaço sanguíneo, também na imunocromatografia não houve amostra reagente. A PCR foi positiva para um filarídeo, porém negativo para *D. immitis*. **Conclusão:** Apesar da baixa prevalência na população do estudo, se observa a desinformação de tutores de cães acerca desta importante zoonose e seu modo de transmissão. A cidade possui os vetores, como *Culex* e *Aedes*, e cães com as características favoráveis ao ciclo de desenvolvimento desta doença. Os vetores e hospedeiros definitivos devem ser monitorados devido a sua implicação em saúde pública, assim como a orientação da população quanto as medidas profiláticas, pensando no contexto de saúde única e controle de zoonoses.

Descritores: Microfilária. Zoonose. Dirofilariose. Prevalência. Saúde única.

ABSTRACT

Introduction: Heartworm disease has as its etiological agent the filarid nematode *Dirofilaria immitis*, it is a chronic dog zoonosis that generates serious cardiac and pulmonary complications in this species. It has a higher prevalence in coastal regions, being transmitted by vectors such as *Aedes*, *Culex* and *Anopheles*. **Objective:** To investigate the prevalence of *Dirofilaria immitis* in the population of dogs residing in the city of Tubarão, Santa Catarina and risk factors associated with infection. **Methods:** Blood samples were collected from dogs from routine care at veterinary clinics and hospitals in the city of Tubarão-SC, at random. Later, as they were called to the laboratory for microfilariae research through the technique of analysis of the capillary tube and blood smear, antigen research by immunochromatography and detection by Polymerase Chain Reaction (PCR). A questionnaire was created for the tutors with the main information and characteristics of the animals for further description and association of findings. **Results:** in 204 evaluated, no microfilariae were visualized in the microcapillary technique and blood smear, also in the immunochromatography there was no reagent sample. PCR was positive for a filarid but negative for *D. immitis*. **Conclusion:** Despite the low prevalence in the study population, there is a lack of information from dog owners about this important zoonosis and its mode of transmission. The city has vectors, such as *Culex* and *Aedes*, and dogs with characteristics favorable to the development cycle of this disease. The vectors and definitive hosts must be monitored due to their implication in public health, as well as the orientation of the population regarding prophylactic measures, considering the context of unique health and zoonoses control.

Keywords: Microfilaria. Zoonosis. Heartworm. Prevalence. Unique health.

LISTAS

Lista de abreviaturas

Ag – antígeno

CEP – Comitê de Ética em Pesquisa

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

DNA – *Deoxyribonucleic acid* (Ácido desoxirribonucléico)

EDTA - *Ethylene Diamine Tetra Acetic acid* (Ácido Etilenodiaminotetracético)

ELISA – *Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay* (Ensaio Imunoenzimático)

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

km - quilometro

L1 - estágio larval 1

L2 - estágio larval 2

L3 - estágio larval 3

L4 - estágio larval 4

L5 - estágio larval 5

mL – mililitro

OMS – Organização mundial da Saúde

PCR- Polymerase Chain Reaction (Reação em Cadeia da Polimerase)

rpm - rotações por minuto

SRD – sem raça definida

SC – Santa Catarina

UNISUL – Universidade do Sul de Santa Catarina

µL – microlitro

Lista de símbolos

% - porcentagem

® - Marca Registrada

Lista de Quadros

Quadro 1 - Nomes e códigos das clínicas veterinárias.32

Quadro 2 - Variáveis de estudo.....36

Lista de figuras

Figura 1 - Morfologia da <i>D.immitis</i> . Diferença de comprimento entre a fêmea (acima) e o macho (abaixo).....	19
Figura 2 - Morfologia da <i>D. immitis</i> . A: Extremidade caudoventral do macho. B e C: extremidade cefálica e anterior da fêmea, ambas vistas ventrais. D e E: Extremidade cefálica ventral e posterior lateral da fêmea.	19
Figura 3 - Ciclo de transmissão da <i>D. immitis</i>	21
Figura 4 - Mapa da cidade de Tubarão e localização no estado de Santa Catarina.	29
Figura 5 - Mapa da cidade de Tubarão e cidades limítrofes.	29
Figura 6 - Mapa do município de Tubarão/SC, com seus respectivos bairros por legenda em cores.....	30
Figura 7 - Localização dos pontos de coleta das amostras (Clínicas, Hospitais Veterinários e abrigos de cães de Tubarão).	31
Figura 8 -Teste imunocromatográfico para dirofilariose e planilha de anotações dos resultados utilizada pelo laboratório.	34

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1 REFERENCIAL TEÓRICO.....	15
1.1.1 Filarioses	15
1.1.1.1 <i>Acanthocheilonema reconditum</i>	15
1.1.1.2 <i>Cercopithifilaria baina</i>	16
1.1.1.3 <i>Dirofilariose</i>	17
1.1.2 Epidemiologia e ciclo de vida da <i>Dirofilaria immitis</i> canina	17
1.1.3 Vetor e ambiente propício ao seu desenvolvimento	21
1.1.4 Manifestações clínicas nos cães	22
1.1.5 Métodos diagnósticos	22
1.1.5.1 Diagnóstico parasitológico.....	22
1.1.5.2 Diagnóstico sorológico	23
1.1.5.3 Diagnóstico molecular PCR.....	24
1.1.6 Dirofilariose em Santa Catarina	24
1.1.7 Dirofilariose no homem e saúde única	25
2. OBJETIVOS.....	27
2.1 OBJETIVO GERAL	27
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
3. MÉTODOS.....	28
3.1 TIPO DE ESTUDO.....	28
3.2 LOCAL DA PESQUISA E DEFINIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO.....	28
3.3 POPULAÇÃO DE ESTUDO E COLETA DE DADOS.....	30
3.3.1 Definição da amostra	30
3.3.2 Colheita de Sangue	31
3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	32
3.5 CRITÉRIO DE EXCLUSÃO	33
3.6 DESCRIÇÃO DOS TESTES DIAGNÓSTICOS.....	33
3.6.1 Técnica de Woo e Capa leucocitária	33
3.6.2 Método Imunocromatográfico	33
3.6.3 Reação em Cadeia da Polimerase	34

3.7 VARIÁVEIS DE ESTUDO	35
3.8 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS	37
3.9 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA.....	37
4. ARTIGO	38
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	40
REFERÊNCIAS.....	41
APÊNDICE A- Questionário aos tutores	46
APÊNDICE B- Termo de consentimento Livre e Esclarecido.....	48
ANEXO A – Parecer Aprovação do Comissão de Ética no Uso de Animais	51
ANEXO B - Parecer Aprovação do Comitê de Ética	52

1. INTRODUÇÃO

A dirofilariose, conhecida como “doença do verme do coração”, é uma doença parasitária de caráter zoonótico, crônico, causada por nematódeos da espécie *Dirofilaria immitis*, sendo transmitida por vetores dos gêneros *Aedes*, *Culex* e *Anopheles*, durante o repasto sanguíneo¹.

Nos cães, o agente promove lesões no endotélio vascular e obstruções causadas pelo parasita adulto, sendo encontrado principalmente na artéria pulmonar e ventrículo direito do coração, promovendo alterações irreversíveis cardiovasculares. Os gatos, embora possam ser parasitados, são mais resistentes à infecção². A primeira descrição publicada da doença em cães foi nos Estados Unidos em 1847, em um periódico de medicina humana³ e devido a lesões e comprometimento do parênquima pulmonar de humanos, a enfermidade passou a ser considerada zoonose pela Organização Mundial da Saúde (OMS)⁴.

Para que a doença ocorra, tanto no cão como no humano, necessita-se de fatores que influenciam a frequência e distribuição da dirofilariose, como grande população canina sem medicações profiláticas, a prevalência de dirofilariose canina na região estudada, a densidade da população de mosquitos vetores e a possibilidade de exposição à picada de mosquitos, fundamentais para sua disseminação⁵.

A sua introdução no Brasil está provavelmente associada à importação de cães domésticos infectados, apresentando alta adaptabilidade ao clima tropical e à presença de mosquitos⁶. No Brasil, os primeiros casos relatados em humanos foram em 1878, por Silva e Langoni, na Bahia⁵ e atualmente a doença tem sido relatada em cães principalmente nas regiões litorâneas com taxas de prevalência de 0,9% em Botucatu, São Paulo a 52,46% na região dos lagos, Rio de Janeiro com uma média nacional de 21,17%. Os casos da dirofilariose são mais frequentes em cidades litorâneas e de clima quente, porém muitos casos têm sido diagnosticados em regiões interioranas e longe da costa^{7,8}.

No estado de Santa Catarina (SC), Brasil, em um estudo sobre prevalência de microfilárias circulantes, resultou em um índice de cães infectados de 12% na região de Florianópolis⁹. Em contra partida, seus vizinhos Rio Grande do Sul e Paraná apresentam 1,10% e 5,47 % respectivamente^{9,10}. Nos últimos anos, diversos relatos foram descritos envolvendo as cidades de Florianópolis, com dirofilariose pulmonar

em 7 humanos ⁷ e 12 cães positivos para a presença do parasita ¹¹; Joinville com 8 casos de dirofilariose em humanos ¹² e 1 caso em cão ¹³.

As maiores prevalência de dirofilariose estão em cidades próximas ao litoral. O clima úmido e quente, vegetação abundante, e a presença de rios e várzeas, favorecem o desenvolvimento dos principais vetores transmissores de *D. immitis* ⁸, porém ainda não há dados pesquisados sobre a doença na cidade de Tubarão-SC.

Frente a este cenário e o caráter zoonótico, justificou-se investigar a presença de *D. immitis* nos cães residentes de Tubarão, considerando a hipótese de que há a presença dos principais vetores na cidade aliado a um ambiente propício ao seu desenvolvimento, bem como uma população de cães não investigada. Portanto, neste estudo objetivou-se determinar a prevalência de dirofilariose nos cães residentes de Tubarão, buscando trazer conhecimento a comunidade científica e médicos veterinários acerca do tema, enfatizando a importância da prevenção da doença e o controle de vetores.

1.1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1.1 Filariose

Os nematóides filarídeos são caracterizados por apresentarem tropismo nos tecidos de seus hospedeiros e pela dependência de artrópodos hematófagos como vetores¹⁴. Assim como em outras as regiões do mundo, *Dirofilaria immitis* e *Acanthocheilonema reconditum* são os filarídeos mais prevalentes no Brasil, sendo *D. immitis* a espécie mais patogênica, ambas com potencial de infectar humanos e permanecem significativas do ponto de vista da saúde pública¹⁵.

1.1.1.1 *Acanthocheilonema reconditum*

De acordo com Torres e Figueredo (2007)¹⁶, *Acanthocheilonema reconditum* é um helminto causador de filariose em cães, acometendo o tecido subcutâneo, perirrenal e peritônio. Causa uma infecção comum, mas o parasita adulto raramente causa sinais clínicos, embora em grandes infestações possam ocorrer prurido, alopecia e ulcerações dérmicas. Novos estudos comprovam que o parasita pode causar anemia hemolítica acompanhada de distúrbios hepáticos e renais em cães¹⁷. Normalmente a infecção por *A. reconditum* é transitória e não possui consequências patológicas, tendo seu diagnóstico muitas vezes de forma acidental¹⁸.

Hospedeiros intermediários que transmitem *A. reconditum* incluem pulgas (*Ctenocephalides canis*, *Ctenocephalides felis*, *Pulex irritans*, *Pulex simulans*, *Echidnophaga gallinae*), piolhos (*Heterodoxus spiniger*, *Linognathus setosus*) e carrapatos (*Rhipicephalus sanguineus*)¹⁹⁻²¹, nos quais liberam microfilárias na circulação periférica após acasalamento, como uma larva de primeiro estágio.

O verme adulto tende a infectar os tecidos subcutâneos de cães e outros locais menos comuns de infestação incluem a cavidade peritoneal e tecido perirrenal. A parasitose é considerada uma zoonose, acometendo o olho humano. Os machos adultos medem 13,0 mm de comprimento e as fêmeas 17,0-32,0 mm²².

O diagnóstico é feito com o encontro de microfilárias no sangue periférico após um período de pré-patente de 67-101 dias²³. Cães infestados com *A. reconditum* servem como reservatórios deste filarídeo em ambientes confinados, sendo a proximidade de um animal infestado com outros animais cruciais para a ocorrência de

novas infestações²⁴, quando há presença de vetores. *A. reconditum* embora não seja considerado patogênico, é comumente confundido morfolologicamente com *D. immitis*, que é patogênico, portanto, é importante diferenciar as espécies²⁵.

Em um estudo feito por Brito *et al.* (2001)²⁶, a maioria dos cães infectados vivem em áreas cujas condições socioeconômicas e sanitárias são mais precárias, o que facilita a proliferação de pulgas e consequentemente a transmissão do filarídeo.

1.1.1.2 *Cercopithifilaria baina*

Há 28 espécies de *Cercopithifilaria* que parasitam mamíferos, dentre eles ruminantes, primatas, carnívoros, roedores e marsupiais, e são conhecidas por causar infecções relativamente benignas, sem grandes alterações clínicas em animais infectados²⁷. Acredita-se que a distribuição desta espécie esteja estritamente associada à de seu principal vetor artrópode, o carrapato *Rhipicephalus sanguineus*²⁰.

Apesar de possuir ampla distribuição geográfica, *C. baina* é considerada de menor relevância patogênica para a saúde canina, principalmente quando comparada a espécies como *Dirofilaria immitis* e *Dirofilaria repens*²⁸. No entanto, condições dermatológicas, como dermatite intersticial perivascular, têm sido associadas à infecção por esse parasita. Um caso de poliartrite crônica foi descrito em um cão europeu, sendo diagnosticado através do exame citológico do líquido sinovial²⁷.

A localização de *C. baina* adulto e a distribuição de microfilárias no corpo do hospedeiro envolvem principalmente as áreas subcutâneas da cabeça, orelha e pescoço, e região interescapular, que são os locais mais comuns de fixação de *R. sanguineus*, sendo diagnosticado com mais facilidade a partir de amostras de pele e exame histopatológico²⁰.

A patogenicidade de *C. baina* permanece desconhecida. A baixa prevalência dos filarídeos em algumas regiões pode ser responsável pela falta de conhecimento veterinário e pela baixa relevância clínica atribuída ao nematóide, dificultando a obtenção de informações sobre seu real potencial patogênico²⁰. No Brasil, informações sobre a ocorrência de *C. baina* estão disponíveis na região sudeste²⁹ e nordeste³⁰.

1.1.1.3 *Dirofilariose*

As dirofilárias são nematódeos que pertencem à ordem *Spirurida*, superfamília *Filaroidea*, família *Filariidae*, subfamília *Dirofilarinae*, do gênero *Dirofilaria*. O gênero *Dirofilaria* possui dois subgêneros, que são a *Dirofilaria* (*D. immitis*) e *Nochtiella* (*Dirofilaria tenuis*, *Dirofilaria repens* e *Dirofilaria ursi*), ambos são zoonoses. Os principais reservatórios de *D. immitis* e *D. repens* são os cães domésticos e canídeos silvestres, mas podem parasitar gatos domésticos³¹. A *D. repens* está amplamente distribuída pela Europa, sendo a principal causa de dirofilariose em humanos. Geralmente se manifesta como um verme errante no tecido subcutâneo ou um nódulo granulomatoso, embora haja relatos de caso de dirofilariose pulmonar e ocular com esta espécie.

Diferenciar as espécies de dirofilárias é importante, sendo que a infecção por *D. immitis* em cães, pode causar doença e resultar morte. Ambas as espécies são consideradas antroponoses, e representam uma ameaça para os humanos³². Em humanos, a *Dirofilaria immitis*, é geralmente encontrada em forma imatura no interior de nódulos localizados nos pulmões, sendo frequentemente confundido com neoplasia³³.

1.1.2 Epidemiologia e ciclo de vida da *Dirofilaria immitis* canina

Na região das Américas, a dirofilaria foi diagnosticada em cães domésticos, lobo cinzento, coiole, raposa vermelha, raposa cinza, lobo-guará, e raposa comedora de caranguejo. Ao redor do mundo, outros canídeos selvagens também foram encontrados parasitados incluindo o chacal (*Canis aureus*), o cão guaxinim (*Nyctereutes procyonoides*), o buraco (*Cuon alpinus*), e o cão selvagem africano (*Lycaon pictus*). Nos Estados Unidos a ocorrência de dirofilariose em coioles, lobos e demais animais do gênero *Canis* podem servir como reservatórios de vida selvagem³⁴.

A maior parte dos patógenos, como a *D. immitis*, foram introduzidos no Brasil durante todo o século XIX e XX, em função do aumento e da rapidez dos meios de transportes marítimos e aéreos, acreditando-se que no Brasil o parasita tenha vindo com cães domésticos importados⁶.

O primeiro relato da dirofilariose no Brasil foi em 1878 por Silva e Langoni, no estado da Bahia⁶. Na cidade de Salvador, Paraguassú e Fielder em 1977 realizaram um relato de ocorrência em dois cães parasitados e desde então atenção especial vem sendo dada a esta parasitose³⁵. Em um estudo publicado em 2014, realizando uma prevalência de *D.immitis* em 15 cidades em várias regiões do Brasil, foi demonstrada uma taxa geral do país em 23,1%, sendo os estados do Rio de Janeiro e São Paulo com maior número de cães infectados, alcançando valores de até 50% de prevalência nos cães coletados, seguidos da região norte e sul do país⁹.

Cães de qualquer idade podem ser parasitados pela *D.immitis*, sendo mais frequente em jovens de 3 a 5 anos. Quanto ao sexo, os machos tem uma prevalência maior em proporção as fêmeas podendo chegar a 4:1, por possuírem maiores fatores de risco³⁶. No estudo de Araújo e colaboradores o índice de infecção foi maior em cães idosos, não havendo influência do sexo, hora de coleta das amostras, área de permanência dos cães (ambiente externo ou interno), raça ou comprimento do pêlo¹¹.

O parasitismo por *D. immitis* parece não ter predisposição por uma raça de cão específica. Porém, animais maiores, com maior área corpórea, vivem predominantemente em ambientes externos e menos protegidos, quando comparados aos animais de pequenos porte, estando mais suscetíveis ao repasto dos mosquitos³⁷. Quanto a cor da pelagem, estudos relatam que a branca e animais de pelo longo, teriam menor risco de infecção pelo parasita. Isto se deve ao fato de o mosquito dentro do seu campo de visão cromática ter preferência por outras pelagens mais escuras e o pelame longo dificultar seu repasto. Entretanto, de 613 animais colhidos em outro estudo para detecção de *D. immitis* não houve diferença estatística, relacionados a coloração do pelo e tamanho, nos cães positivos³⁸.

Quando se trata de morfologia do parasita, a diferenciação sexual da *D. immitis* pode ser caracterizada pela maior dimensão da fêmea que tem tamanho médio de 25 a 30 cm de comprimento e 1 a 1,3 mm de largura, enquanto o macho tem em torno de 12 a 16 cm de comprimento e 0,7 a 0,9 mm de largura (Figura 1)³⁹.



Figura 1 - Morfologia da *D.immitis*. Diferença de comprimento entre a fêmea (acima) e o macho (abaixo)³⁹.

A extremidade posterior da fêmea é de forma simples sendo mais estreita que o corpo, e a cauda é longa, pontiaguda e reta. Já o macho, apresenta-se com extremidade posterior espiralada, um espículo grande e outro pequeno e papilas pré e pós cloacais (Figura 2)⁴⁰.

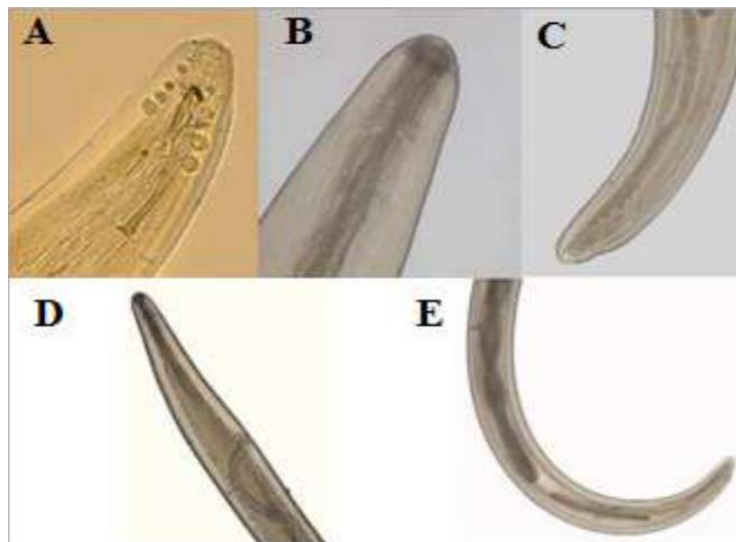


Figura 2 - Morfologia da *D. immitis*. A: Extremidade caudoventral do macho. B e C: extremidade cefálica e anterior da fêmea, ambas vistas ventrais. D e E: Extremidade cefálica ventral e posterior lateral da fêmea³⁹.

A transmissão da dirofilariose pode ocorrer por várias espécies de mosquito, que são os hospedeiros intermediários obrigatórios, trazendo em seu aparelho bucal

a fase larval 1(L1), microfilárias, e infectando ao fazer o repasto sanguíneo no cão, que é o hospedeiro definitivo. O ciclo de vida da *Dirofilaria immitis* é relativamente longo (usualmente 7 a 9 meses) em comparação com a maioria dos nematódeos e possui 5 fases larvais até chegar a fase adulta⁴¹.

Primeiramente o cão infectado com parasitas adultos que se localizam na artéria pulmonar, ou ventrículo direito, após o acasalamento, produzem larvas de estágio 1 (L1), que são liberadas na circulação sanguínea, gerando microfilaremia sistêmica³⁶. O mosquito, torna-se infectado no momento do repasto sanguíneo no cão onde as microfilárias são ingeridas. Após sua ingestão, as microfilárias sofrem duas mudas no mosquito num período de 8 a 17 dias passando de L1 para o estágio larva 2 (L2), e após para o estágio 3 (L3). Estas mudas dependem de fatores propícios como temperatura adequada em torno de 27°C e 80% de umidade relativa do ar, em temperaturas mais frias podem levar mais tempo. É importante notar que as microfilárias não podem evoluir para vermes adultos sem primeiro se desenvolverem de L1 a L2 e após L3 nos túbulos de Malpighi do mosquito. As larvas de terceira fase, a fase infecciosa, migram através da cavidade do corpo para a cabeça e o aparelho bucal do mosquito, onde eles ficam posicionados para transmissão^{41,42}.

Uma vez que as larvas em estágio 3 se encontram no aparelho bucal, o mosquito realiza o repasto sanguíneo novamente e estas larvas migram do mosquito para o cão através da hemolinfa, pelo ferimento causado pelo mosquito. Essa larva 3 sofre outra muda para o estágio larval 4 (L4) nos tecidos subcutâneos, adiposo e muscular do cão logo após a infecção, em torno de 1 a 12 dias³⁶. A última muda acontece de 2 a 3 meses de infecção, onde a L4 se transforma em L5 (estágio adulto do parasita), que irá penetrar no sistema vascular, migrando pelos pulmões e coração, locais onde ocorre a maturação final, transformando-se em machos e fêmeas. Assim, o ciclo de vida do parasita pode chegar de 180 a 210 dias, sendo que o novo hospedeiro se torna filarêmico dentro de 7 a 9 meses pós infecção^{41,42} (Figura 3).

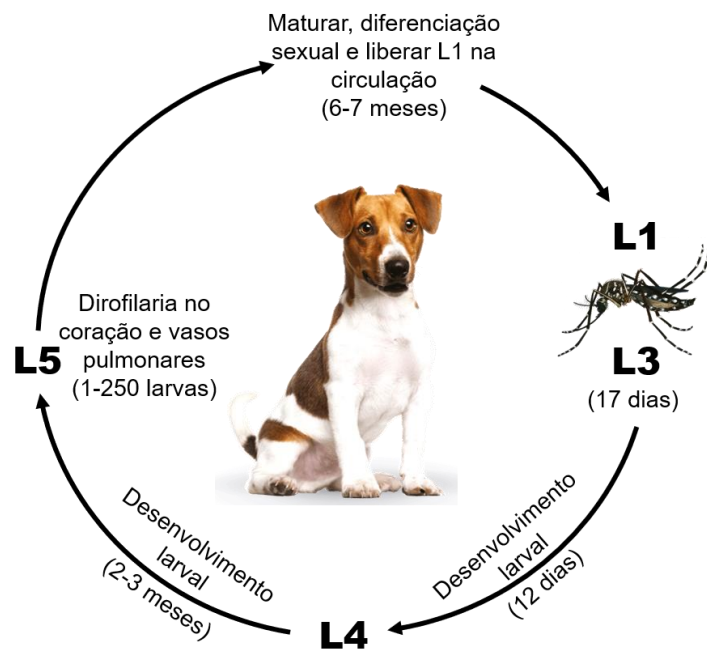


Figura 3 - Ciclo de transmissão da *D. immitis*⁴².

1.1.3 Vetor e ambiente propício ao seu desenvolvimento

A transmissão da dirofilariose ocorre através de vetores culicídeos dos gêneros *Culex*, *Aedes* e *Anopheles*, que transportam a larva infectante (larvas do terceiro estágio de desenvolvimento - L3).

O Estado de Santa Catarina e, mais especificamente, a região sul do estado apresenta vários fatores predisponentes ao desenvolvimento do vetor. Sabemos que os mosquitos pertencem à Família *Culicidae*, sendo conhecidas cerca de 3.500 espécies agrupadas em 2 subfamílias: *Anophelinae* e *Culicinae*. Grande parte destes insetos, tem distribuição mundial, podendo ser encontrados em áreas urbanas, rurais e silvestres, incluindo ambiente domiciliar humano e abrigos domésticos ⁴³.

Os culicídeos dos gêneros *Ochlerotatus*, *Anopheles*, *Psorophora*, *Mansonia* e *Aedes* têm como criadouros (naturais e artificiais) o solo, como em casos de enchente, várzeas inundáveis, vasos de plantas e ornamentos, pneus, garrafas etc. Já os *Culex*, têm seus criadouros em meios urbanos, principalmente em reservatórios hídricos artificiais ou locais com água rica em matéria orgânica em composição e detritos, como ralos e poços. Quanto aos hábitos de repasto, o *Culex* se apresenta de forma noturna enquanto os anteriores citados apresentam pico de hematofagia crepuscular vespertina, não se descartando horários durante dia e noite ⁴⁴.

1.1.4 Manifestações clínicas nos cães

Muitos animais podem manter-se assintomáticos por longos períodos. Quando manifestam sinais clínicos, eles são inespecíficos como tosse, dispneia ou taquipneia que podem aparecer em diferentes fases da doença e variam de acordo com o grau de infestação. Em quadros mais avançados da doença, podem apresentar hemoptise, perda de peso, inapetência, síncope, edema de membros e outros sinais relacionados à insuficiência cardíaca congestiva direita que podem evoluir para o óbito³².

Essas alterações ocorrem devido à alta concentração de vermes adultos na artéria pulmonar e ventrículo direito que causam a obstrução da valva tricúspide e via de saída. Com isso, várias alterações hemodinâmicas importantes como síndrome da veia cava, distensão da veia jugular, ascite, sopro e alterações no tempo de preenchimento capilar podem ser percebidos⁴⁵.

1.1.5 Métodos diagnósticos

Pode-se diagnosticar um cão ou gato com *D. immitis* antes mesmo da enfermidade provocar sinais clínicos, portanto animais residentes em áreas consideradas endêmicas, devem ser submetidos a avaliações e triagens para diagnóstico precoce, tratamento e prevenção. Os dados de resenha e anamnese realizados na consulta clínica se tornam úteis na investigação da doença, questionando o tutor sobre a região a qual mora e histórico de viagens do animal. Desta forma, a dirofilariose pode ser diagnosticada por pesquisa de microfilaremia, testes imunológicos através da sorologia e investigação molecular, associados a hemograma, radiografia torácica e ecocardiograma ³⁶.

1.1.5.1 Diagnóstico parasitológico

A pesquisa de microfilárias na circulação sanguínea periférica pode ser realizada de várias formas. A mais simples se chama de técnica da gota espessa e consiste em examinar uma gota de sangue heparinizada fresca, colocada entre uma lâmina e lamínula para observação no microscópio da L1, que geralmente se localiza na periferia da lâmina, com movimentos serpentiformes³⁶.

Outra técnica utilizada é o método Knott modificado, que consiste em centrifugar a amostra de sangue, e após hemólise, é possível avaliar a morfologia e dimensões das microfilárias para diferenciação entre *D. immitis* e *D. repens* e *Acanthocheilonema reconditum*⁴⁶.

Falhas na detecção das microfilárias podem acontecer como em casos de infecção pré patente, devendo-se repetir o teste em alguns meses. A infecção de animais com larvas L5 de um mesmo sexo, acabam por não gerar microfilaremia, gerando um resultado com impressão falso negativo para dirofilariose. Pode também ocorrer a destruição imunomediada das L1, bem como uso e ação de medicamentos como lactonas macrocíclicas que promovem a morte de microfilárias³⁶.

1.1.5.2 Diagnóstico sorológico

Diante de casos não detectáveis de microfilaremia sistêmica, os testes imunológicos são recomendados. O teste ELISA e o imunocromatográfico para detecção de antígenos, conseguem captar antígeno uterino de larvas de fêmeas adultas (L5), com o viés de necessitar de pelo menos 3 larvas fêmeas adultas para o teste se mostrar como positivo³⁶. Um estudo realizado em 1992, mostrou que de 244 amostras negativas para microfilaremia, 35 delas apontaram positivas no teste ELISA, evidenciando infecção oculta por *D. immitis* em cães do estado de São Paulo⁴⁷.

Os testes para detecção de antígenos, tanto pelo método ELISA como pelo método imunocromatográfico possuem 100% de especificidade, podendo atingir números próximos a 100% de sensibilidade. O valor da sensibilidade varia conforme o número de fêmeas adultas, uma vez que é positivo na presença de secreção de antígenos liberado por elas na forma de L5. Já fêmeas imaturas ou apenas exemplares de larvas L5 machos presentes no animal, assim como baixa antigenemia, poderão gerar resultados falso negativos. Para minimizar estes resultados falsos, há uma técnica de preparo da amostra utilizando calor para quebrar possíveis causas de bloqueio de liberação de antígenos, como por exemplo, imunocomplexos⁴⁸. Porém Venco e colaboradores⁴⁹ constataram que esta técnica poderia aumentar as chances de reação cruzada, apontando amostras falsas positivas para *D. immitis*, quando na verdade a infecção ocorreria por *D. repens* ou até mesmo *Angiostrongylus vasorum*.

Os testes para detecção de anticorpos, são outro método alternativo para a realização do diagnóstico. Os anticorpos surgem geralmente de 2 a 3 meses após

infecção e persistem por 5 meses. Isso significa que resultados positivos indicam infecção larval pré adulto, infecção por parasitas adultos ou persistência de anticorpos (até 6 meses) após morte das larvas adultas³⁶.

Desta forma, a “*American Heartworm Society*” recomenda que para o diagnóstico, além do teste de antígeno, também sejam realizados testes para pesquisa de microfilárias circulantes⁴².

1.1.5.3 Diagnóstico molecular PCR

Para o diagnóstico através da técnica PCR, o DNA genômico do parasita pode ser detectado a partir do DNA extraído tanto individualmente ou de *pools* de mosquitos. Usando esta técnica, foi possível detectar filárias de *W. bancrofti* e *D. immitis* em *pools* de *Aedes polynesiensis* coletados na Polinésia Francesa, indicando que esse mosquito pode servir como vetor destas duas espécies de filárias⁵⁰.

Em outro estudo⁵¹ comparando técnicas para diagnóstico de dirofilariose em Portugal, 41 amostras foram positivas para microfilárias e se apresentaram negativas para antígeno. Ao se utilizar a técnica PCR, as 41 amostras positivaram para *D. immitis*, mostrando o auxílio desta técnica em infecções ocultas e a confirmação de diagnóstico.

Já em estudo realizado por Trancoso³⁷, 103 cães foram testados em Cabo Frio, Rio de Janeiro, quanto a presença de microfilárias, teste sorológico e PCR, mostrando positividade de 19% pra microfilárias, 29% para detecção de antígeno e 15% para o PCR, sugerindo que a causa de menor diagnóstico pelo PCR seja a má extração de DNA ou baixa carga parasitária. Este fato reforça a necessidade da pesquisa para *D. immitis* utilizar mais de um meio diagnóstico^{51,52}.

1.1.6 Dirofilariose em Santa Catarina

Estudos de prevalência realizados na região sul do país, apontam, no estado de Santa Catarina uma prevalência de 2,1 a 15% no município de Florianópolis e 7,3% em Araquari^{9,11}. Na Lagoa da Conceição, região de Florianópolis, Santa Catarina, foram coletadas amostras de 80 cães, reportando uma prevalência de 15%, utilizando os testes Knott modificado e esfregaço sanguíneo simples¹¹.

Outros estudos⁵³, também em Santa Catarina, na região de Balneário Camboriú e no canil municipal de Itajaí entre os anos de 2005 e 2012, demonstraram que não foram detectados animais positivos através da pesquisa de antígenos para *D. immitis* na área estudada. Um estudo recente realizado na cidade Laguna, utilizando três testes (Knott modificado, imunocromatografia e PCR) com 283 animais, apontou para uma prevalência de 4%, sendo a maioria dos cães assintomáticos⁵⁴.

Quanto a doença em humanos, um estudo retrospectivo de 2002 realizado em Florianópolis, relatou sete casos diagnosticados através de macro e microscopia. Todos os sete pacientes apresentavam nódulos pulmonares, com diagnóstico diferencial para neoplasia e tuberculose⁷. Em Joinville também foi confirmada a presença da doença em estudo retrospectivo de 1995 a 2009, com a maioria dos casos com lesões pulmonares e um caso com dirofilariose em globo ocular¹².

1.1.7 Dirofilariose no homem e saúde única

Esta parasitose apresenta um potencial zoonótico, sendo os humanos hospedeiros acidentais. Os hospedeiros humanos podem ser infectados da mesma forma que os reservatórios animais, ou seja, pela picada de um mosquito que carrega as larvas de terceiro estágio. As larvas são frequentemente destruídas pela resposta imunológica humana; no entanto, em alguns casos, os vermes pré adultos podem causar nódulos subcutâneos (*D. repens*) ou começar a migrar em direção ao coração e pulmão (*D. immitis*). Pode-se observar nódulos pulmonares únicos ou multifocais e subcutâneos, com crescimento de meses. Assim, ao exame clínico como suspeitas principais dessas formações são neoplasias com consistência firme ou com eritema acentuado quando subcutâneo. Quando a localização é ocular, de forma rara, os vermes estão situados na conjuntiva e podem ser extraídos por incisão cirúrgica¹.

No município de Florianópolis foram relatados sete casos de dirofilariose humana pulmonar. Seis deles tiveram diagnóstico inicial de câncer, podendo haver envolvimento emocional importante até o diagnóstico definitivo e sua resolução. Nestes casos, o paciente foi submetido à biópsia pulmonar excisional. O único caso em que não foi realizada cirurgia, a suspeita diagnóstica foi de pneumonia, com realização de histopatologia por biópsia transbrônquica onde o resultado obtido descartou esta hipótese ou de neoplasia⁷.

Desta forma, o estudo sobre a dirofilariose deve ter importante necessidade de vigilância epidemiológica passando a ter um olhar para a saúde pública. A ação do poder público, o conhecimento da população sobre a doença e medidas de prevenção e controle em doenças endêmicas e emergentes são bem conhecidas como pilares para a saúde única. O estudo sobre as condições de vida de uma população, tratamento de esgoto, cultura, tratamento e recolhimento de lixo doméstico, formação de urbanização desorganizada por exemplo, são padrões que devem ser estudados localmente pois podem propiciar a propagação de doenças de caráter vetorial ⁵⁵. Pesquisas de base multidisciplinar, agregando o médico veterinário procuram contribuir com melhor entendimento e planejamento visando a prevenção e manejo ambiental no contexto de saúde única ⁵⁶.

Considerando-se a prevenção e controle de vetores como uma das melhores formas de se evitar a dirofilariose, juntamente com o esclarecimento da comunidade e médicos veterinários sobre a doença, mostra-se necessidade de maiores investigações epidemiológicas sobre a presença de *D. immitis* na região de Tubarão. Dessa forma, sabendo que a infecção pelo parasita causa inúmeros danos cardiovasculares no cão, e ainda o caráter zoonótico, ocasionando manifestações pulmonares em humanos denota-se o relevante conhecimento sobre dados de pesquisa acerca de sua prevalência e fatores de risco associados aos cães da cidade.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar a prevalência de *Dirofilaria immitis* na população de cães residentes na cidade de Tubarão, Santa Catarina e fatores de risco associados a infecção.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a prevalência de *Dirofilaria immitis* nos cães residentes de Tubarão.
- Comparar os resultados das diferentes técnicas diagnósticas empregadas.
- Identificar os fatores de risco associados a presença da infecção nos cães parasitados por *D. immitis*.

3. MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

A presente pesquisa se caracteriza como estudo epidemiológico, com delineamento transversal para determinar prevalência.

3.2 LOCAL DA PESQUISA E DEFINIÇÃO DA ÁREA DE ESTUDO

Esta pesquisa foi realizada na cidade de Tubarão (latitude 28°28'00" sul e longitude 49°00'25" oeste), situada na região litorânea do sul de Santa Catarina, com território de 301,755 km² e população estimada em 105.448 mil habitantes. Está a 140 km ao sul de Florianópolis, capital do estado, 57,2 Km ao norte de Criciúma e 336 km ao norte de Porto Alegre (distâncias de Centro a Centro) ⁵⁷.

O clima encontrado é de característica subtropical, com temperatura média máxima de 23,6°C e média mínima de 15,5°C. A umidade relativa do ar apresenta uma média anual de 83,59 pontos. O índice é elevado em virtude da presença de lagoas e do mar, havendo influências devido à temperatura e à altitude ⁵⁸.

A cidade encontra-se localizada próxima a margens de rios, entre eles o Rio Tubarão, principal da cidade, que possui braços e vertentes de outros rios que cortam o município como o rio Capivari, Corrêas, Rio do Pouso, Alto Pedrinhas, Caruru, Ilhota e Congonhas. Também se situa próxima a praias do litoral sul como Laguna e Jaguaruna ⁵⁸ (Figura 4 e 5).

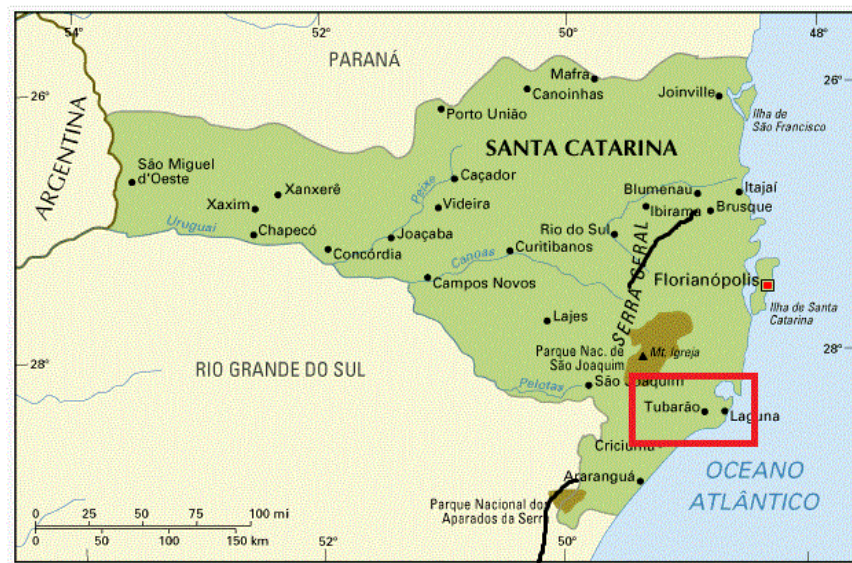


Figura 4 - Mapa para geolocalização da cidade de Tubarão no estado de Santa Catarina⁵⁸.



Figura 5 - Mapa demonstrando a cidade de Tubarão e cidades limítrofes⁵⁸.

Tubarão conta oficialmente com 23 bairros, sendo oito deles na margem esquerda do Rio Tubarão e 15, na margem direita ⁵⁸ (Figura 6).

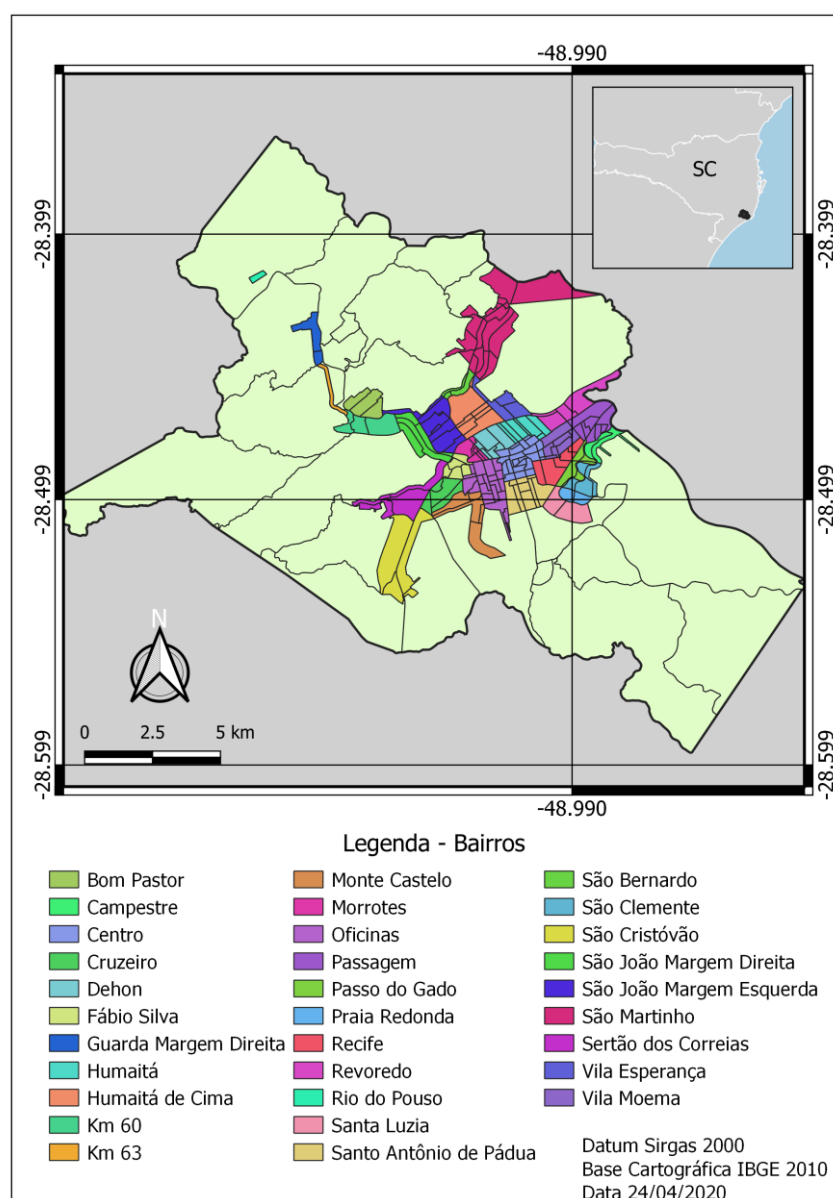


Figura 6 - Mapa do município de Tubarão/SC, com seus respectivos bairros por legenda em cores⁵⁹.

3.3 POPULAÇÃO DE ESTUDO E COLETA DE DADOS

3.3.1 Definição da amostra

Para definição da amostra da população de cães se levou em conta uma estimativa de 25 mil cães residentes no município de Tubarão, de acordo com o último cálculo do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2013) que indica a existência de 1 cão para cada 4 habitantes no Brasil. O cálculo de amostra foi

-20°C para posterior extração para realização da PCR (Reação em Cadeia da Polimerase).

A identificação para envio aos laboratórios e processamento das amostras foram feitas baseadas por código e numeração conforme a tabela abaixo:

Quadro 1 - Nomes e códigos das clínicas veterinárias.

CÓDIGO CLÍNICAS	CLÍNICA
HVB	Hosp. Blazius
UVZ	UVZ
UNI	UNISUL
PNAU	Petnautas
PROP	Propet
AUS	Hosp. Auspets
MCA	MCA
ANI	Animed
MON	Monte Castelo
PEQ	Pequenos Amigos
NUNES	Agro Nunes
BQ	Bem Querer
QP	Quatro Patas
A1	Abrigo 1
A2	Abrigo 2
A3	Abrigo 3

Os testes de eleição para esta pesquisa foram o esfregaço sanguíneo através da centrifugação de tubo capilar, para verificar presença ou ausência de microfilaremia. Também foi utilizado o teste imunocromatográfico, o qual verifica a presença ou ausência do parasita adulto no estágio larval L5. A técnica de PCR⁶⁰ qualitativa multiplex para filarídeos, e no caso de positividade, o PCR de gênero para *D. immitis* foi aplicado.

3.4 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Foram incluídos na pesquisa cães saudáveis, e doentes com sinais clínicos compatíveis com dirofilariose como tosse, síncope, cianose ou dispneia. A idade estabelecida foi cães com idade superior a 1 ano, de raça, gênero e pesos variados,

residentes na cidade de Tubarão, que não tivessem recebido lactona macrocíclica (ivermectinas e milbemicinas) nos últimos seis meses.

3.5 CRITÉRIO DE EXCLUSÃO

Foram excluídos do estudo os animais dos quais o volume de sangue coletado foi inferior ao necessário para análise ou irascíveis.

3.6 DESCRIÇÃO DOS TESTES DIAGNÓSTICOS

3.6.1 Técnica de Woo e Capa leucocitária

Foi realizada a técnica do microhematócrito que consistiu em preencher um tubo capilar com sangue total fresco coletado do frasco com EDTA e, após o fechamento em chama, foi centrifugado na microcentrífuga (10.000 rpm) por cinco minutos. Após a centrifugação foi examinado ao microscópio (aumento de 100 X) na porção plasmática do tubo, próximo a linha leucocitária, a presença ou não de microfilárias com movimento serpentiforme. Após o tubo capilar foi quebrado na linha leucocitária e realizado o esfregaço sanguíneo da capa leucocitária, visualizado a fresco entre lâmina e lamínula em objetiva de 100x⁶¹.

3.6.2 Método Imunocromatográfico

Após a colheita da amostra os tubos com EDTA foram deixados em repouso para hemossedimentação e posteriormente pipetados 2 gotas de plasma residual sendo depositados no dispositivo do teste.

O teste imunocromatográfico (Alere Dirofilariose Ag Test Kit[®], sensibilidade 98% e especificidade 100%) possui uma membrana de nitrocelulose em fita impregnada em trechos específico com antígeno de *D. immitis*. Sua interpretação foi realizada no tempo de 0 até 10 minutos conforme especificação do fabricante e anotada em planilha se positivo ou negativo (Figura 8).

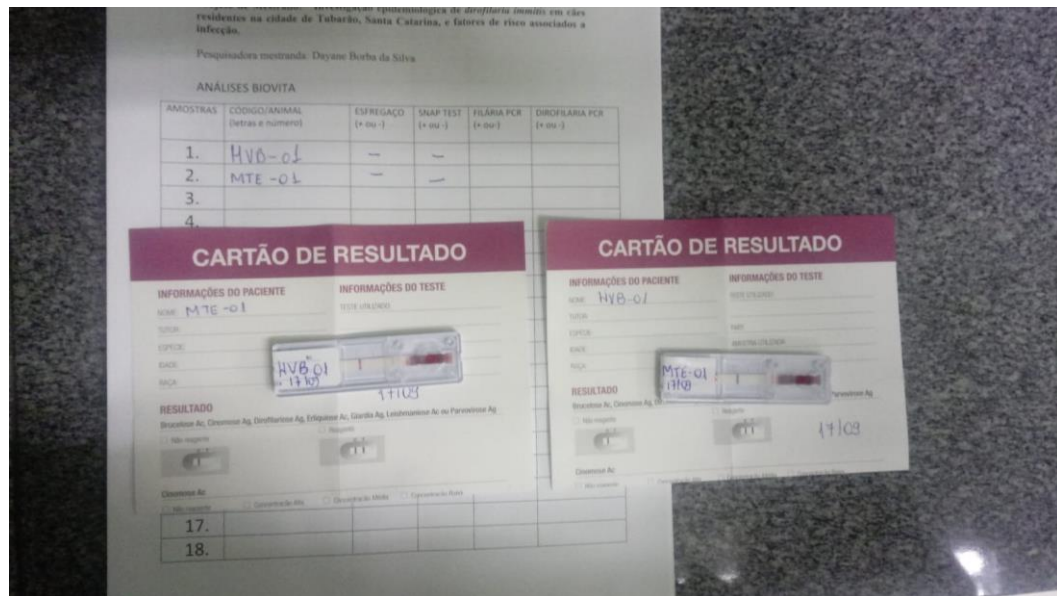


Figura 8 -Teste imunocromatográfico para dirofilariose e planilha de anotações dos resultados utilizada pelo laboratório.

A avaliação da presença ou ausência de microfilaremia bem como a realização dos testes imunocromatográficos foram realizados em parceria com o Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias Biovita, em Tubarão-SC.

3.6.3 Reação em Cadeia da Polimerase

As amostras de sangue total em EDTA destinadas à PCR foram processadas no Laboratório de Protozoologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Um total de 200 μ L de sangue foi usado em cada extração com kit comercial PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen) de acordo com as recomendações do fabricante. O DNA obtido foi analisado por espectrofotometria (Nanodrop- Thermo Scientific) para avaliar quantidade e qualidade do DNA extraído. As reações de PCR foram preparadas em um volume final de 25 μ L, seguindo os protocolos de Rishniw et al., (2006)⁶², com os primers DIDR-F1 AGT GCG AAT TGC AGA CGC ATT GAG e DIDR-R1 AGC GGG TAA TCA CGA CTG AGT TGA⁶². Água ultra pura (MilliQ®) e DNA de filarídeo foram utilizados como controle negativo e controle positivo, respectivamente. As reações foram realizadas em termociclador MiniAmp Thermal Cycler (Applied Biosystems). Os produtos amplificados foram analisados por eletroforese horizontal em gel de agarose 1,5%, corados com marcador fluorescente safer (Kasvi), por meio de sistema transiluminador LED (Kasvi). O comprimento dos

produtos amplificados foi estimado usando um padrão de 100 pares de bases (100 bp ladder-Ludwig Biotec).

A amostra positiva para filarídeos no primeiro PCR foi submetida ao PCR específico para *Dirofilaria immitis* de acordo com Oh et al., (2017)⁶³. Os procedimentos para visualização dos produtos amplificados foram os mesmos utilizados no PCR anterior.

3.7 VARIÁVEIS DE ESTUDO

Concomitante as colheitas de sangue, foram preenchidos questionários com as principais informações sobre os animais, visando identificar possíveis fatores de risco para a infecção (Apêndice A). Para participação dos animais no projeto de pesquisa, foi necessário que o responsável pelo cão estivesse de acordo com o estudo, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice B).

No estudo, uma única variável dependente pode ser identificada e se trata da prevalência de *D. immitis*, pois de acordo com a hipótese de estudo foi a variável a ser investigada.

Os questionários foram preenchidos com o nome dos animais, código da clínica veterinária onde foi realizada a coleta (com data e hora) e bairro da cidade o qual reside. Foram separados entre machos e fêmeas, castrados e não castrados. Quanto a idade, foram classificados em adultos (1 a 7 anos) ou idosos (8 anos ou mais). Quanto a raça, foram classificados com raça definida ou sem raça definida (SRD). O porte também foi separado de acordo com o peso do cão, onde pequeno porte inclui menores de 10 kg, médio porte de 11 a 20 kg e grande porte maiores de 21kg.

A pelagem também foi uma variável incluída, separando os cães de acordo com sua cor predominante, onde clara inclui a coloração branca e escura inclui o preto, marrom, cinza e suas variantes.

Foi questionado quando a saúde do cão, separando entre sintomático ou assintomático, sendo os sintomáticos os animais que apresentaram sinais clínicos compatíveis com a dirofilariose, como tosse, dispneia, síncope ou cianose de mucosas.

O tamanho da pelagem foi mensurado com régua, para classificar o pelo em curto (menor ou igual que 2 cm) ou longo (maior que 2 cm). Outras informações como

ambiente predominante do cão (interno ou externo), bem como município de origem e histórico de viagens do cão, também foram anotados para posterior análise (Quadro 2).

Quadro 2 - Variáveis de estudo.

Variáveis	Natureza	Classificação	Proposta de utilização
Sexo	Qualitativa	Nominal dicotômica	Macho/fêmea
Sistema Reprodutor	Qualitativa	Nominal dicotômica	Castrado/ inteiro
Raça	Qualitativa	Nominal dicotômica	Com raça/SRD
Idade	Qualitativa	Nominal dicotômica	1 a 7 anos 8 anos ou mais
Peso	Qualitativa	Nominal politômica	P - Até 10 kg M - 11 a 20 kg G - 21 kg ou mais
Pelagem	Qualitativa	Nominal dicotômica	Clara (branco) Escura (preto, marrom, cinza e variações)
Tamanho da Pelagem	Qualitativa	Nominal dicotômica	Curta (menor 2 cm) Longa (maior 2 cm)
Ambiente predominante	Qualitativa	Nominal dicotômica	Interno/Externo
Sinal clínico	Qualitativa	Nominal dicotômica	Assintomático Sintomático (tosse, dispneia, síncope, cianose)
Histórico de viagem	Qualitativa	Nominal dicotômica	Sim/Não
Município de origem	Qualitativa	Nominal dicotômica	-
Medicações/repelentes	Qualitativa	Nominal dicotômica	-

Fonte: elaborado pela autora

3.8 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

As informações obtidas sobre a prevalência da doença na região e seus fatores de risco, foram tabulados, utilizando-se epidemiologia descritiva para apresentação dos dados, sendo as variáveis qualitativas expressas em frequências absolutas e proporções, enquanto as variáveis quantitativas representadas com média e desvio padrão. As análises foram empregadas pelos softwares GraphPad Prism versão 9.2.

3.9 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

Este estudo foi realizado após a aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) registrada com o nº 21.016.4.04.IV e pelo Comitê de ética em Pesquisa (CEP) da Universidade do Sul de Santa Catarina- UNISUL registrado com o nº 4.671.229 (ANEXOS A e B). Para a apresentação dos resultados da pesquisa foram respeitados o sigilo de dados pessoais e anonimato dos entrevistados.

Para participação dos cães, seus tutores receberam uma breve explicação da pesquisa em questão e do procedimento de colheita de sangue. Os resultados dos testes da pesquisa foram repassados aos tutores por meio indicado por ele (telefone ou e-mail).

4. ARTIGO

O artigo contendo os resultados será submetido à Revista Veterinary Parasitology, ISSN: 0304-4017, com fator de impacto 2.738, avaliado pela CAPES como Med. II.

INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE *Dirofilaria immitis* EM CÃES E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS À INFECÇÃO

Dayane Borba da Silva^{1*}, Betine Pinto Moehlecke Iser¹, Josiane Somariva Prophiro^{1,2}.

Resumo

Introdução: A Dirofilariose possui como agente etiológico o nematódeo filarídeo *Dirofilaria immitis*, com maior prevalência em regiões litorâneas e rurais, transmitida por vetores como *Aedes*, *Culex* e *Anopheles*. É uma zoonose com transmissão vetorial, que afeta várias espécies de animais, entre elas o cão doméstico. Ao longo da evolução do parasita no cão, sérias complicações cardíacas e pulmonares podem ser vistas devido às lesões endoteliais vasculares, enquanto em humanos as mais comuns são nodulações pulmonares isoladas. **Objetivos:** Descrever a prevalência de *D. immitis* em cães residentes no município de Tubarão, Santa Catarina. **Métodos:** Foram coletadas colhidas amostras de sangue de cães provenientes de clínicas, hospitais veterinários e de abrigos de proteção animal de forma aleatória. Foi aplicado um questionário aos tutores com informações e características dos animais. Para cada amostra foi realizado teste de Woo, avaliação de capa leucocitária, esfregaço sanguíneo após centrifugação em tubo capilar, pesquisa de antígeno por imunocromatografia e a Amplificação por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). **Resultados:** em 204 amostras avaliadas, não foram visualizadas microfilárias. Não houve positividade nas técnicas de microcapilar Woo e esfregaço sanguíneo capa leucocitária. Também na imunocromatografia não houve amostra reagente. A PCR foi positiva para um filarídeo, porém negativo para *D. immitis*. **Conclusão:** A cidade possui

vetores em potencial e cães com as características favoráveis ao ciclo de desenvolvimento desta doença. Os vetores e hospedeiros definitivos devem ser monitorados devido a sua implicação em saúde pública, assim como a orientação da população quanto as medidas profiláticas, pensando no contexto de saúde única e controle de zoonoses.

Palavras Chaves: *Dirofilaria immitis*. Cães. Dirofilariose. Prevalência. Saúde única.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora a prevalência obtida no presente trabalho seja abaixo da esperada, visto os animais utilizados na amostra não receberem qualquer tipo de medicação profilática ou controle ambiental de vetores, é importante a continuidade do monitoramento da dirofilariose na região. A presença de filarídeo em um dos animais pesquisados levanta a necessidade de monitoração dos vetores, principalmente devido à ocorrência já registrada de *D. immitis* em Florianópolis e Laguna, municípios próximos da região sul e que são comumente visitados em rotas de viagens e, ainda, as condições climáticas e de vegetação na região serem propícias para o desenvolvimento vetorial.

Estudos epidemiológicos sobre vetores, como colocação de armadilhas, verificação dos estágios larvais em seus aparelhos bucais e capacidade de disseminação na região nas diferentes épocas do ano, podem agregar conhecimento sobre este pilar da transmissão, abrindo portas para mais pesquisas.

Por fim, a prevenção à saúde humana e dos demais animais está associado ao nível de conhecimento da população sobre zoonoses, sendo necessário criar estratégias multidisciplinares entre as diversas áreas da saúde visando a saúde única.

REFERÊNCIAS

1. Pampiglione S, Rivasi F, Angeli G, Boldorini R, Incensati RM, Pastormerlo M, et al. Dirofilariasis due to *Dirofilaria repens* in Italy, an emergent zoonosis: Report of 60 new cases. *Histopathology*. 2001;38(4):344–54.
2. Acha PN, Szyfres B. 1Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales: Clamidiosis, rickettsiosis y virosis [Internet]. Organizacion Panamericana de la Salud. 2001. Available from: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/165488/2/9275315809.pdf>
3. Kern T, Ginter G, Zenahlik P, Schuller-Petrovic S. Human dirofilariasis. *Acta Dermatovenerologica Alpina, Panon Adriat*. 1998;7(3–4):179–82.
4. OMS OM de la S. Zoonosis Parasitarias (BT 637). Genebra - Suíça; 1979.
5. Silva RC da, Langoni H. Dirofilariose. Zoonose emergente negligenciada. *Cienc Rural*. 2009;39(5):1614–23.
6. Chame M, Batouli-Santos A. As Migrações Humanas e Animais e a Introdução de Parasitas Exóticos Invasores que Afetam a Saúde Humana no Brasil. *FUMDHAMentos* [Internet]. 2007;VII:47–62. Available from: [http://www.fumdhham.org.br/fumdhamentos7/artigos/1 marcia chame e cia.pdf](http://www.fumdhham.org.br/fumdhamentos7/artigos/1%20marcia%20chame%20e%20cia.pdf)
7. Cavallazzi RS, Cavallazzi AC, Souza IV, Cardoso JJ de D. Dirofilariose pulmonar humana: relato de sete casos. *J Pneumol*. 2002;28(2):100–2.
8. Labarthe N, Almosny N, Guerrero J, Duque-Araújo AM. Description of the Occurrence of Canine Dirofilariasis in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1997;92(1):47–51.
9. Labarthe NV, Paiva JP, Reifur L, Mendes-De-Almeida F, Merlo A, Pinto CJC, et al. Updated canine infection rates for *Dirofilaria immitis* in areas of Brazil previously identified as having a high incidence of heartworm-infected dogs. *Parasites and Vectors*. 2014;7(1):1–8.
10. Reifur L, Thomaz-Soccol V, Montiani-Ferreira F. Epidemiological aspects of filariosis in dogs on the coast of Paraná state, Brazil: With emphasis on *Dirofilaria immitis*. *Vet Parasitol*. 2004;122(4):273–86.
11. Araujo RT, Marcondes CB, Bastos LC, Sartor DC. Canine dirofilariasis in the region of Conceição Lagoon, Florianópolis, and in the Military Police kennel, São José, State of Santa Catarina, Brazil. *Vet Parasitol*. 2003;113(3–4):239–42.
12. Bublitz GS, Serapião MJ, Roberge VD, De Paula Alves Coelho KM, Serapião CJ. Dirofilariose humana em Joinville-SC: avaliação clinicopatológica dos primeiros casos relatados na região Sul. *J Bras Patol e Med Lab*. 2012;48(5):383–9.
13. Delling GF. Dirofilariose em cão da raça pinscher no município de Joinville –

SC: relato de caso. Universidade Federal de Santa Catarina; 2019.

14. Megat Abd Rani PA, Irwin PJ, Gatne M, Coleman GT, Traub RJ. Canine vector-borne diseases in India: A review of the literature and identification of existing knowledge gaps. *Parasites and Vectors*. 2010;3(1):1–7.
15. Kannenberg AK, Frondana L, Martins IHR, Longhi CE, Fialkowski MM, Milczewski V. Occurrence of filarid parasites in household and sheltered dogs in the City of Joinville - Santa Catarina, Brazil. *Cienc Anim Bras*. 2019;20:1–11.
16. Torres FD, Figueredo LA. *Heterodoxus spiniger* (Enderlein, 1909) em cães domésticos (*Canis familiaris*, L. 1758) da cidade de Recife, Estado de Pernambuco, Brasil. *Brazilian J Vet Res Anim Sci* [Internet]. 2007 Apr 1;44(2):77. Available from: <http://www.revistas.usp.br/bjvras/article/view/26644>
17. Hashem M, Badawy All. Blood cellular and biochemical studies on filariasis of dogs. *Res J Anim Sci*. 2008;2(5):128–34.
18. Knight DH. Heartworm Infection. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* [Internet]. 1987 Nov;17(6):1463–518. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0195561687500122>
19. Cringoli G, Rinaldi L, Veneziano V, Capelli G. A prevalence survey and risk analysis of filariosis in dogs from the Mt. Vesuvius area of southern Italy. *Vet Parasitol*. 2001;102(3):243–52.
20. Brianti E, Otranto D, Dantas-Torres F, Weigl S, Latrofa MS, Gaglio G, et al. *Rhipicephalus sanguineus* (Ixodida, Ixodidae) as intermediate host of a canine neglected filarial species with dermal microfilariae. *Vet Parasitol* [Internet]. 2012;183(3–4):330–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2011.07.031>
21. Napoli E, Brianti E, Falsone L, Gaglio G, Foit S, Abramo F, et al. Development of *Acanthocheilonema reconditum* (Spirurida, Onchocercidae) in the cat flea *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera, Pulicidae). *Parasitology* [Internet]. 2014 Nov 28;141(13):1718–25. Available from: https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0031182014001000/type/journal_article
22. HUYNH T. *Dipetalonema reconditum* in the human eye. *Br J Ophthalmol* [Internet]. 2001 Nov 1;85(11):1384i – 1384. Available from: <https://bjo.bmj.com/lookup/doi/10.1136/bjo.85.11.1384i>
23. Knight DH. Heartworm heart disease. *Adv Vet Sci Comp Med*. 1977;
24. Brianti E, Gaglio G, Napoli E, Giannetto S, Dantas-Torres F, Bain O, et al. New insights into the ecology and biology of *Acanthocheilonema reconditum* (Grassi, 1889) causing canine subcutaneous filariosis. *Parasitology*. 2012;139(4):530–6.
25. Otranto D, Dantas-Torres F, Brianti E, Traversa D, Petrić D, Genchi C, et al. Vector-borne helminths of dogs and humans – focus on central and eastern parts of Europe. *Parasit Vectors*. 2013 Dec 22;6(16):1–14.

26. Brito AC, Costa LG, Alexandre W, Almeida P De. Prevalência da filariose canina causada por *Dirofilaria immitis* e *Dipetalonema reconditum* em Maceió , Alagoas , Brasil Prevalence of canine filariasis by *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum* in Maceió , Alagoas State , Brazil. 2001;17(6):1497–504.
27. Gabrielli S, Giannelli A, Brianti E, Dantas-Torres F, Bufalini M, Fraulo M, et al. Chronic polyarthritis associated to *Cercopithifilaria baina* infection in a dog. *Vet Parasitol* [Internet]. 2014 Sep;205(1–2):401–4. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304401714003744>
28. Dantas-Torres F, Otranto D. *Dirofilariosis* in the Americas: A more virulent *Dirofilaria immitis*? *Parasites and Vectors*. 2013;6(1):1–9.
29. Vicente GLGAJJ. *Cercopithifilaria baina* sp. parasita de *Canis familiaris* (Nematoda, Filarioidea). *Atas Soc Biol*. 1984;24.
30. Ramos RAN, de Oliveira do Rêgo AG, de Farias Firmino ED, do Nascimento Ramos CA, de Carvalho GA, Dantas-Torres F, et al. Filarioids infecting dogs in northeastern Brazil. *Vet Parasitol*. 2016;226:26–9.
31. Acha BSPN. *Filariasis zoonóticas*. *Zoonosis y enfermedades Transm comunes al hombre y a los Anim*. 2003;3 ed.(Washington: OPS):284–91.
32. Simón F, Siles-Lucas M, Morchón R, González-Miguel J, Mellado I, Carretón E, et al. Human and animal *dirofilariosis*: The emergence of a zoonotic mosaic. *Clin Microbiol Rev*. 2012;25(3):507–44.
33. Nagashima MZJCNJC. *Dirofilariose*. *Rev Científica Eletrônica Med Veterinária*. 2009;12:7.
34. McCall JW, Genchi C, Kramer LH, Guerrero J, Venco L. Chapter 4 Heartworm Disease in Animals and Humans. In: *Advances in Parasitology* [Internet]. Elsevier Saunders; 2008. p. 193–285. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065308X08002042>
35. Jericó MM, Neto JP de A, Kogika MM. *Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos*. Roca. 2015.
36. Larsson MHMA. *Dirofilariose*. In: Larsson MHMA, editor. *Tratado de cardiologia de cães e gatos* [Internet]. 2020th ed. São Caetano do Sul, SP: Interbook Editorial; 2020. p. 472. Available from: Interbook Editorial
37. Trancoso TAL. *Comparação de técnicas para o diagnóstico de filarioses caninas*. Universidade Federal Fluminense; 2017.
38. Almeida MAO de, Barros MTG, Santos EP, Ayres MCC, Guimarães JE, Goldim LFP. Parasitismo de cães por microfilárias de *Dirofilaria immitis*: influência da raça, sexo e idade. *Re Bras Saúde Prod An* [Internet]. 2001;2(1971):59–64. Available from: <https://repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/1842>
39. Manfredi TM, Cerbo A, Genchi M. Biology of filarial worms parasitizing dogs and cats. 1ª. Cringoli G, editor. Naples: Italy: *Veterinary Parasitology and Parasitic Diseases*; 2007. 41–45 p.

40. Urquhart GM, Armour J, Duncan JL, Dunn AM, Jennings FW. Veterinary Parasitology. 1st ed. Saragoça, Aragoão - Espanha: Editorial Acribia; 2001. 384 p.
41. Atkins C. Canine and Feline Heartworm Disease. In: Ettinger SJ, Feldman EC, Coté E, editors. Textbook of veterinary internal medicine - diseases of the dog and the cat. Eighth Edi. Philadelphia - EUA: W.B. Saunders; 2017. p. 1316–43.
42. Nelson CT, McCall JW, Jones S, Moorhead A. Guideine: Prevention, Diagnosis, and Management of Heartworm (*Dirofilaria immitis*) Infection in Dogs [Internet]. Wilmington-DE EUA; 2018. Available from: <https://www.heartwormsociety.org/images/pdf/2018-AHS-Canine-Guidelines.pdf>
43. Sant'Ana AL, Lozovei AL. Influência do ciclo lunar na captura de *Aedes scapularis* (Diptera, Culicidae) na Mata Atlântica do Paraná. Iheringia Série Zool. 2001;(90):175–82.
44. Ahid SM, Oliveira RL de. Mosquitos vetores potenciais de dirofilariose canina na Região Nordeste do Brasil. Rev Saude Publica. 1999;33(6):560–5.
45. Ware WA. Dirofilariose. 5th ed. Nelson RW, Couto CG, editors. Medicina Interna de Pequenos Animais. Rio de Janeiro RJ: Guanabara Koogan; 2015. 165 p.
46. Furtado AP, Do Carmo ES, Giese EG, Vallinoto ACR, Lanfredi RM, Santos JN. Detection of dog filariasis in Marajo Island, Brazil by classical and molecular methods. Parasitol Res. 2009;105(6):1509–15.
47. Larson MHMA, Preterote M, Mirandola RMMS. Diagnóstico de dirofilariose oculta pelo teste de ELISA, em cães do Estado de São Paulo. Brazilian J Vet Res Anim Sci. 1992;29(1):93.
48. Little S, Saleh M, Wohltjen M, Nagamori Y. Prime detection of *Dirofilaria immitis*: Understanding the influence of blocked antigen on heartworm test performance. Parasites and Vectors. 2018;11(1):1–10.
49. Venco L, Manzocchi S, Genchi M, Kramer LH. Heat treatment and false-positive heartworm antigen testing in ex vivo parasites and dogs naturally infected by *Dirofilaria repens* and *Angiostrongylus vasorum*. Parasites and Vectors. 2017;10(Suppl 2):1–3.
50. Nicolas L, Scoles GA. Multiplex Polymerase Chain Reaction for Detection of *Dirofilaria immitis* (Filariidea: Onchocercidae) and *Wuchereria bancrofti* (Filarioidea: Dipetalonematidae) in Their Common Vector *Aedes polynesiensis* (Diptera: Culicidae). J Med Entomol. 1997;34(6):741–4.
51. Alho AM, Landum M, Ferreira C, Meireles J, Gonçalves L, de Carvalho LM, et al. Prevalence and seasonal variations of canine dirofilariosis in Portugal. Vet Parasitol. 2014;206(1–2):99–105.
52. Trancoso TAL, Lima N da C, Barbosa AS, Leles D, Fonseca ABM, Labarthe NV, et al. Detection of *Dirofilaria immitis* using microscopic, serological and

- molecular techniques among dogs in Cabo Frio, RJ, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2020;29(1):1–12.
53. Lira RN, Lempek MR, Neves C de C, Junior JC de S, Poffo GLD. Pesquisa de *Dirofilaria immitis* e *Dipetalonema reconditum* no canil municipal de Itajaí, Santa Catarina, Brasil. *PUBVET.* 2012;6(17):8.
 54. Sebolt APR. *Dirofilaria immitis*: prevalência da infecção em cães no município de Laguna, SC, Brasil. Universidade do Estado de Santa Catarina – CAV; 2020.
 55. Machado ES. Aspectos Epidemiológicos De *Dirofilariose* Canina E Humana, No Município De Florianópolis - , Brasil. Perfil De Uma Zoonose. Dissertação. 2005;64.
 56. Miranda M. Contribuição Do Médico Veterinário a Saúde Única- One Health. Forum iniciação da Fac Patos Minas. 2018;4:2446.
 57. IBGE IB de G e E. Estimativas da população residente para os municípios e para as unidades da federação com data de referência em 1º de julho de 2019 [Internet]. Rio de Janeiro-RJ; 2019. Available from: <https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=2101662>
 58. Tubarão PM de. Aspectos físicos da cidade de Tubarão - Dados Gerais [Internet]. 07/01/2014. 2014 [cited 2020 Nov 15]. p. 1. Available from: <https://tubarao.sc.gov.br/cms/pagina/ver/codMapaltem/22162>
 59. Tubarão PM de. Bairros de Tubarão-SC [Internet]. 07/01/2014. 2014 [cited 2020 Jun 5]. p. 1. Available from: <https://www.tubarao.sc.gov.br/cms/pagina/ver/codMapaltem/22136>
 60. Bona ACD, Navarro-Silva MA. Diversidade de *Culicidae* durante os períodos crepusculares em bioma de Floresta Atlântica e paridade de *Anopheles cruzii* (Diptera: *Culicidae*). *Rev Bras Zool.* 2008;25(1):40–8.
 61. Melo M. Técnicas Manuais no Laboratório de Hematologia. In: Melo M, Silvera CM da, editors. Laboratório de Hematologia- Teorias, técnicas e atlas. 2nd ed. Rio de Janeiro RJ: Editora Rubio; 2015. p. 212–3.
 62. Rishniw M, Barr SC, Simpson KW, Frongillo MF, Franz M, Dominguez Alpizar JL. Discrimination between six species of canine microfilariae by a single polymerase chain reaction. *Vet Parasitol.* 2006;135(3–4):303–14.
 63. Oh IY, Kim KT, Sung HJ. Molecular detection of *Dirofilaria immitis* specific gene from infected dog blood sample using polymerase chain reaction. *Iran J Parasitol.* 2017;12(3):433–40.

APÊNDICE

APÊNDICE A- Questionário aos tutores



Projeto de Mestrado: Investigação epidemiológica de *Dirofilaria immitis* em cães residentes na cidade de Tubarão, Santa Catarina, e fatores de risco associados a infecção.

Pesquisadora mestranda: Dayane Borba da Silva

CLÍNICA VETERINÁRIA/CÓDIGO:

Data: ____/____/____

Hora da coleta: _____

Rua e Bairro de Tubarão dos tutores:

Nome do animal: _____

Usa coleira antipulgas ou medicação repelente para mosquitos no animal?

() Sim () Não

Se sim, qual? _____

Recebeu vermífugo nos últimos 6 meses (princípio ativo com ivermectina)?

() Sim () Não

Se sim, qual? _____

Tem conhecimento sobre a dirofilariose, também chamada de “verme do coração”?

Já levou o cão para outras cidades (SC) e/ou estados? () Sim () Não

Se sim, quais? _____ Data aproximada que levou _____

Município de origem do cão : _____ Estado: _____

Ambiente **predominante** do cão: () Interno () externo

Apresenta sintomas/sinal clínico?

() tosse () dificuldade respiratória () alteração na cor da língua/mucosa
() síncope/desmaio () Nenhum

Raça: () com raça () Sem raça definida (SRD)

Se sim, qual? _____

Pelagem **predominante**: () Clara (branca) () Escura (Preto/cinza/marrom)

Tamanho da pelagem: () curta (menos de 2 cm) () longa (mais de 2 cm)

Idade: () até 7 anos () 8 anos ou mais

Porte: menos que 10 kg () 10-20 kg () 21 kg ou mais ()

Sexo: () Macho () Fêmea Castrado (a): () Sim () Não

OBSERVAÇÕES: _____

APÊNDICE B- Termo de consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Participação do estudo

Prezado tutor, você está sendo convidado (a) a participar da pesquisa intitulada “INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE *Dirofilaria immitis* EM CÃES RESIDENTES NA CIDADE DE TUBARÃO, SANTA CATARINA, E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS A INFECÇÃO”, coordenada por Dayane Borba da Silva, médica veterinária. O objetivo deste estudo é pesquisar se os cães que moram na cidade de Tubarão podem estar com o parasita *Dirofilaria immitis* (dirofilariose), um verme transmitido pela picada do mosquito contaminado.

Caso você aceite participar, será brevemente explicado sobre a doença e você terá que responder a um questionário com informações sobre seu animal de estimação como raça, idade, tratamento para pulgas e vermes, bem como informações de qual bairro e rua da cidade de Tubarão que ele se encontra/mora com você. Mediante autorização (assinatura deste termo), será realizada (pelo veterinário responsável) a coleta de sangue do animal, para posterior, encaminhamento para o laboratório de análises clínicas veterinária para verificação da presença ou não do parasita. O tempo necessário para preenchimento do questionário e espera para coleta de sangue do animal leva cerca de 20 minutos.

Riscos e Benefícios

Haverá acesso do médico veterinário pesquisador aos questionários e prontuários do seu cão, com seus dados (nome completo e residência). Desta forma, os riscos serão mínimos relacionados a possibilidade de acesso a dados pessoais como nome completo e residência. Contudo, os pesquisadores se comprometem a manter o sigilo de todos os seus dados relacionados e a seguir as recomendações das resoluções 466/12 e 510 do Conselho Nacional de Saúde. Ainda, devido a Pandemia de Covid-19 os pesquisadores se comprometem a tomarem todas as medidas preventivas necessárias de proteção contra a infecção, como distanciamento social, uso de máscaras e álcool gel na entrada e saída do consultório.

O projeto auxiliará a comunidade, médicos veterinários, médicos em geral a ter conhecimento da dirofilariose, bem como saber se ela existe ou não na nossa região. A partir disso poderemos guiar tanto tutores dos cães como a comunidade em si em métodos de prevenção e controle desta doença.

Sigilo, Anonimato e Privacidade

O material e informações obtidas podem ser publicados em aulas, congressos, eventos científicos, palestras ou periódicos científicos, sem sua identificação. Os pesquisadores se responsabilizam pela guarda e confidencialidade dos dados, bem como a não exposição individualizada dos dados da pesquisa. Sua participação é voluntária e você terá a liberdade de se recusar a responder quaisquer questões que lhe ocasionem constrangimento de alguma natureza.

Autonomia

Você também poderá desistir da pesquisa a qualquer momento, sem que a recusa ou a desistência lhe acarrete qualquer prejuízo. É assegurada a assistência durante toda a pesquisa, e garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências. Você também poderá entrar em contato com os pesquisadores, em qualquer etapa da pesquisa, por e-mail ou telefone, a partir dos contatos dos pesquisadores que constam no final do documento.

Devolutiva dos resultados

Os resultados da pesquisa poderão ser solicitados a partir de dezembro de 2021 a partir dos contatos presentes no final deste documento. Em caso do seu cão ser positivo em algum teste, a pesquisadora irá entrar em contato via contato telefônico e por e-mail, para fazer as devidas orientações. Ressalta-se que os dados coletados nesta pesquisa no questionário preenchido somente poderão ser utilizados para as finalidades da presente pesquisa, sendo que para novos objetivos um novo TCLE deve ser aplicado.

Ressarcimento e Indenização

Lembramos que sua participação é voluntária, o que significa que você não poderá ser pago, de nenhuma maneira, por participar desta pesquisa. De igual forma, a participação na pesquisa não implica em gastos a você, pois já estará com seu animal na clínica para consulta de rotina, não sendo necessárias despesas de transporte ou alimentação. Se ocorrer algum dano decorrente da sua participação na pesquisa, você será indenizado, conforme determina a lei.

Após ser esclarecido sobre as informações da pesquisa, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assine o consentimento de participação em todas as páginas e no campo previsto para o seu nome, que é impresso em duas vias, sendo que uma via ficará em posse do pesquisador responsável e a outra via com você.

Consentimento de Participação

Eu _____ autorizo a participação do meu cão bem como o preenchimento do questionário e uso dos meus dados de forma voluntária para a pesquisa intitulada “INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE *Dirofilaria immitis* EM CÃES RESIDENTES NA CIDADE DE TUBARÃO, SANTA CATARINA, E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS A INFECÇÃO”, conforme informações contidas neste TCLE. Declaro que fui informado dos objetivos da pesquisa acima de forma clara e detalhada. Entendi como a pesquisa será realizada e estou ciente de que poderei esclarecer qualquer dúvida a qualquer momento, assim como desistir de participar a qualquer momento, sem nenhum prejuízo para mim ou meu(s) cão(cães). Declaro que recebi cópia assinada do presente Termo de Consentimento.

Local e data: _____

Assinatura: _____

Pesquisadora responsável: Dayane Borba da Silva

E-mail para contato: dayanevet@hotmail.com

Telefone para contato: (48) 99117-3850

Assinatura do (a) pesquisador (a) responsável: _____

Pesquisadora responsável orientadora: Josiane Somariva Prophiro

E-mail para contato: josiane.prophiro@hotmail.com

Telefone para contato: (48)99109-3458

Assinatura do pesquisador orientador (a): _____

O Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) é composto por um grupo de pessoas que estão trabalhando para garantir que seus direitos como participante sejam respeitados, sempre se pautando pelas Resoluções 466/12 e 510/16 do Conselho Nacional de Saúde (CNS). O CEP tem a obrigação de avaliar se a pesquisa foi planejada e se está sendo executada de forma ética. Caso você achar que a pesquisa não está sendo realizada da forma como você imaginou ou que está sendo prejudicado de alguma forma, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética da UNISUL pelo telefone (48) 3279-1036 entre segunda e sexta-feira das 13h às 17h e 30min ou pelo e-mail cep.contato@unisul.br.

Rubrica do participante ou representante legal

Rubrica do pesquisador responsável

ANEXO

ANEXO A – Parecer Aprovação do Comissão de Ética no Uso de Animais



Pró Reitoria Acadêmica - PROAC
Comissão de Ética no Uso de Animais (Res. CONSUN 46/2009)

Palhoça, 19 de abril de 2021
Registro na CEUA Nº 21.016.4.04.IV

Ao Pesquisador/Professor(a): Josiane Somariva Prophiro

Prezado(a),

Vimos por meio deste, certificar que a proposta de estudo e/ou projeto de pesquisa intitulada "Investigação epidemiológica de dirofilária immitis em cães residentes na cidade de Tubarão, Santa Catarina, e fatores de risco associados a infecção", registrada com o nº 21.016.4.04.IV, sob a responsabilidade de Josiane Somariva Prophiro - que envolve a manutenção ou utilização de modelos animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata* (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei Federal nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) desta Instituição, em reunião de 19 de abril de 2021.

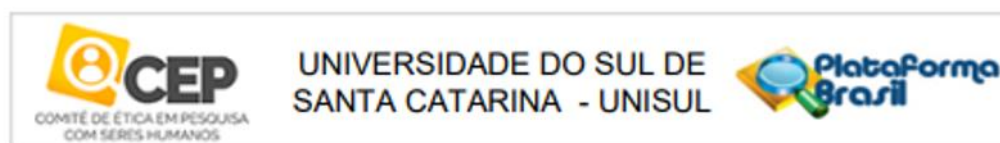
A CEUA/UNISUL tem por finalidade cumprir e fazer cumprir, no âmbito da UNISUL e nos limites de suas atribuições, os dispostos na legislação Federal aplicável à criação, manutenção e a utilização de animais em atividades de ensino e de pesquisa, realizadas pelos corpos docente, discente e técnico-administrativo da UNISUL e pesquisadores de outras instituições, caracterizando-se a sua atuação como educativa, consultiva, de assessoria e fiscalização nas questões relativas à matéria, sob os aspectos: I - Ético; II - Legal: enquadramento na legislação vigente.

Gostaríamos de salientar que, embora aprovado, qualquer alteração dos procedimentos e metodologias que houver durante a realização do projeto em questão, deverá ser informada imediatamente à Comissão.

Atenciosamente,

Prof. Sandro Melim Sgrott
Coordenador da Comissão

ANEXO B - Parecer Aprovação do Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: INVESTIGAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DE *Dirofilaria immitis* EM CÃES RESIDENTES NA CIDADE DE TUBARÃO, SANTA CATARINA, E FATORES DE RISCO ASSOCIADOS A INFECÇÃO

Pesquisador: Dayane Borba da Silva

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 45321621.5.0000.5369

Instituição Proponente: Universidade do Sul de Santa Catarina - UNISUL

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.671.229

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas das Informações Básicas da Pesquisa, arquivo "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1691155.pdf", postado na Plataforma Brasil em 07/04/2021. As demais informações foram retiradas do Projeto Detalhado, arquivo "projeto.docx" de 07/04/2021.

Resumo:

A dirofilariose é uma doença parasitária causada pelo nematódeo *Dirofilaria immitis*, transmitida por mosquitos do gênero *Aedes*, *Culex* e *Anopheles*, comuns em regiões de clima tropical e subtropical. No Brasil há muitos relatos da doença em cães, sendo sua prevalência variada nos diversos estados e cidades. O cão é o seu hospedeiro definitivo, e a forma larval pode migrar de vasos pulmonares para a artéria pulmonar e ventrículo direito de cães causando alterações cardíacas importantes. A maioria dos animais infectados são assintomáticos, porém o aparecimento dos sintomas pode variar dependendo do tempo de infecção e da carga parasitária. A doença também tem caráter zoonótico, provocando lesões importantes no parênquima pulmonar de humanos tornando-se importante para a saúde pública. Este trabalho tem como objetivo definir a prevalência de *Dirofilaria immitis* na cidade de Tubarão em Santa Catarina, bem

Endereço: Avenida Pedra Branca, 25
Bairro: Cid. Universitária Pedra Branca **CEP:** 88.137-270
UF: SC **Município:** PALHOÇA
Telefone: (48)3279-1036 **Fax:** (48)3279-1094 **E-mail:** cep.contato@unisul.br



UNIVERSIDADE DO SUL DE
SANTA CATARINA - UNISUL



Continuação do Parecer: 4.671.229

como identificar os fatores de risco para infecção. Será realizado o estudo transversal coletando-se amostras de sangue de 300 cães residentes da cidade, as quais serão analisadas quanto a presença de microfilárias através do teste da gota espessa e Knott modificado, presença de antígeno através do teste imunocromatográfico e análise pelo método de reação em cadeia da polimerase (PCR). As coletas das amostras serão realizadas em cinco clínicas veterinárias da cidade, em cães oriundos da rotina hospitalar. Após o resultado, espera-se contribuir com o conhecimento científico e informar os veterinários e comunidade sobre a prevalência do parasita na população de estudo, auxiliando na prevenção da doença e controle de vetores da *Dirofilaria immitis*.

Hipótese:

Sabe-se que a prevenção e controle de vetores atuam como uma das melhores formas de se evitar a dirofilariose, juntamente com o esclarecimento da comunidade e médicos veterinários sobre a doença, mostra-se necessidade de maiores investigações epidemiológicas sobre a presença de *D. immitis* na região de Tubarão. Dessa forma, sabendo que a infecção pelo parasita causa inúmeros danos cardiovasculares no cão, e ainda o caráter zoonótico, ocasionando manifestações pulmonares em humanos denota-se o relevante conhecimento sobre dados de pesquisa acerca de sua prevalência e fatores de risco associados aos cães da cidade. Considerando a hipótese de que há a presença dos principais vetores na cidade aliado a um ambiente propício ao seu desenvolvimento, bem como uma população de cães não investigada, há o levantamento do questionamento se há a doença ou não na cidade. Portanto, neste estudo objetiva-se determinar a prevalência de dirofilariose nos cães residentes de Tubarão, buscando trazer conhecimento a comunidade científica e médicos veterinários acerca do tema, enfatizando a importância da prevenção da doença e o controle de vetores.

Metodologia Proposta:

TIPO DE ESTUDO E LOCAL DA PESQUISA A presente pesquisa se caracteriza como estudo epidemiológico, com delineamento transversal para determinar prevalência. Esta pesquisa será realizada na cidade de Tubarão, situada na região litorânea do sul de Santa Catarina. Tubarão conta oficialmente com 23 bairros. Definição da amostra A amostra ficou definida em 195 testes sanguíneos, considerando-se prevalência de 15%, erro de 5% e intervalo de confiança de 95%. Para o local onde serão realizadas as coletas de sangue dos cães, foram designados Hospitais Veterinários e Clínicas Veterinárias da cidade com rotina média de 60 atendimentos mensais. Os

Endereço: Avenida Pedra Branca, 25
Bairro: Cid. Universitária Pedra Branca **CEP:** 88.137-270
UF: SC **Município:** PALHOÇA
Telefone: (48)3279-1036 **Fax:** (48)3279-1094 **E-mail:** cep.contato@unisul.br



UNIVERSIDADE DO SUL DE
SANTA CATARINA - UNISUL



Continuação do Parecer: 4.671.229

cães testados serão oriundos da rotina de atendimentos e internação (sadios ou doentes), selecionados de forma aleatória. Coleta de Sangue Serão colhidas amostras de sangue das veias periféricas dos cães com seringa de 5 mL que serão acondicionadas em tubos contendo EDTA e ativador de coágulo, mantidos sob refrigeração e devida

identificação para envio ao laboratório e processamento das amostras. A contenção dos animais será feita de acordo com o bem estar animal, com uso de focinheira para segurança e a coleta será realizada por médicos veterinários. **CRITÉRIOS DE INCLUSÃO** Cães com idade superior a 1 ano, de raça, gênero e pesos variados, residentes na cidade de Tubarão. **CRITÉRIO DE EXCLUSÃO** Serão excluídos do estudo os animais dos quais o volume de sangue coletado for inferior ao necessário para análise. **TESTES LABORATORIAIS:** Serão realizados quatro testes, sendo o esfregaço sanguíneo, o teste Knott modificado, o método imunocromatográfico e PCR. **VARIÁVEIS DE ESTUDO** Será preenchido um questionário com as principais informações sobre o animal. Para participação do cão no projeto de pesquisa, será necessário que o responsável pelo cão esteja de acordo com o estudo, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Este questionário será aplicado diretamente ao tutor pessoalmente ou por contato telefônico para obtenção das respostas e será preenchido pelo médico veterinário. Os animais serão identificados quanto ao nome, clínica veterinária onde foi realizada a coleta (com data e hora) e bairro da cidade o qual reside. Serão separados entre machos e fêmeas, castrados e não castrados. Quanto a idade, serão classificados em adultos (1 a 7 anos) ou idosos (8 anos ou mais). Quanto a raça serão classificados com raça definida ou sem raça definida (SRD). O porte será separado de acordo com o peso do cão, onde pequeno porte inclui menores de 10 kg, médio

porte de 11 a 20 kg e grande porte maiores de 21kg. A pelagem será avaliada de acordo com sua cor predominante, onde clara inclui a coloração branca e escura inclui o preto, marrom, cinza e suas variantes. Será questionado quando a saúde do cão, separando entre sintomático ou assintomático, sendo os sintomáticos os animais que apresentarem sinais clínicos compatíveis com a dirofilariose, como tosse, dispnéia, síncope ou clonose de mucosas. O tamanho da pelagem será mensurada com régua, para classificar o pelo em curto (menor ou igual que 2 cm) ou longo (maior que 2 cm). **PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS** As informações serão tabuladas, utilizando-se epidemiologia descritiva para apresentação dos dados. Será utilizado o teste qui-quadrado de Pearson e teste exato de Fischer. As análises pelos softwares OpenEpi 3.01 e SpSS 21.0. A significância estatística será considerada onde $p \leq 0,05$. **ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA** estudo será realizado após a aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) e pelo Comitê de ética em Pesquisa (CEP) da

Endereço: Avenida Pedra Branca, 25
Bairro: Cid.Universitária Pedra Branca **CEP:** 88.137-270
UF: SC **Município:** PALHOÇA
Telefone: (48)3279-1036 **Fax:** (48)3279-1094 **E-mail:** cep.contato@unisul.br



UNIVERSIDADE DO SUL DE
SANTA CATARINA - UNISUL



Continuação do Parecer: 4.671.229

Universidade do Sul de Santa Catarina- UNISUL. Para a apresentação dos resultados da pesquisa serão respeitados o sigilo de dados pessoais e anonimato dos entrevistados. Para participação dos cães, seus tutores receberão uma breve explicação da pesquisa em questão e do procedimento de coleta de sangue. Os resultados dos testes da pesquisa serão repassados aos tutores por meio indicado.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Investigar a prevalência de *Dirofilaria immitis* na população de cães residentes na cidade de Tubarão, Santa Catarina e fatores de risco associados a infecção.

Objetivo Secundário:

- Determinar a prevalência de *Dirofilaria immitis* nos cães residentes de Tubarão.- Comparar os resultados das diferentes técnicas diagnósticas empregadas.- Identificar os fatores de risco associados a presença da infecção nos cães parasitados por *D.immitis*.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Haverá acesso do médico veterinário pesquisador aos questionários e prontuários do cão, com dados do seu tutor (nome completo e residência). Desta forma, os riscos são mínimos relacionados a possibilidade de acesso a dados pessoais como nome completo e residência. Contudo, os pesquisadores se comprometem a manter o sigilo de todos os dados relacionados aos tutores e a seguir as recomendações das resoluções 466/12 e 510 do CNS. Ainda, devido a Pandemia de Covid-19 os pesquisadores se comprometem a tomarem todas as medidas preventivas necessárias de proteção contra a infecção.

Benefícios:

O projeto auxiliará a comunidade, médicos veterinários, médicos em geral a ter conhecimento da dirofilariose, bem como saber se ela existe ou não na nossa região. A partir disso poderemos guiar tanto tutores dos cães como a comunidade em si em métodos de prevenção e controle da doença.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Previsão de início da coleta de dados: maio/2021

Previsão de encerramento do estudo: agosto/2021

Endereço: Avenida Pedra Branca, 25
Bairro: Cid.Universitária Pedra Branca **CEP:** 88.137-270
UF: SC **Município:** PALHOÇA
Telefone: (48)3279-1036 **Fax:** (48)3279-1094 **E-mail:** cep.contato@unisul.br



UNIVERSIDADE DO SUL DE
SANTA CATARINA - UNISUL



Continuação do Parecer: 4.871.229

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Recomendações:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto foi elaborado de acordo com as exigências metodológicas e éticas para sua aprovação por este CEP.

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - Conep, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1691155.pdf	07/04/2021 17:00:48		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto.docx	07/04/2021 16:58:55	Dayane Borba da Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_CEP.doc	07/04/2021 16:53:13	Dayane Borba da Silva	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto_mestrado.pdf	05/04/2021 00:23:03	Dayane Borba da Silva	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	animed.pdf	30/03/2021 23:41:51	Dayane Borba da Silva	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	quatropatas.pdf	30/03/2021 23:41:31	Dayane Borba da Silva	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	propet.pdf	30/03/2021 23:41:22	Dayane Borba da Silva	Aceito
Declaração de Instituição e	petnautas.pdf	30/03/2021 23:41:03	Dayane Borba da Silva	Aceito

Endereço: Avenida Pedra Branca, 25
 Bairro: Cid.Universitária Pedra Branca CEP: 88.137-270
 UF: SC Município: PALHOÇA
 Telefone: (48)3279-1036 Fax: (48)3279-1094 E-mail: cep.contato@unisul.br



UNIVERSIDADE DO SUL DE
SANTA CATARINA - UNISUL



Continuação do Parecer: 4.671.229

Infraestrutura	petnautas.pdf	30/03/2021 23:41:03	Dayane Borba da Silva	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	peqamigos.pdf	30/03/2021 23:40:52	Dayane Borba da Silva	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	nunes.pdf	30/03/2021 23:40:42	Dayane Borba da Silva	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	montecastelo.pdf	30/03/2021 23:40:31	Dayane Borba da Silva	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	mca.pdf	30/03/2021 23:39:14	Dayane Borba da Silva	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	huara.pdf	30/03/2021 23:39:03	Dayane Borba da Silva	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	ccz.pdf	30/03/2021 23:38:38	Dayane Borba da Silva	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	blazius.pdf	30/03/2021 23:36:20	Dayane Borba da Silva	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	auspets.pdf	30/03/2021 23:36:11	Dayane Borba da Silva	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PALHOCA, 26 de Abril de 2021

Assinado por:
Silvana Cristina Trauthman
(Coordenador(a))

Endereço: Avenida Pedra Branca, 25
Bairro: Cid. Universitária Pedra Branca CEP: 88.137-270
UF: SC Município: PALHOCA
Telefone: (48)3279-1036 Fax: (48)3279-1094 E-mail: cep.contato@unisul.br