

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**INFECÇÃO PULMONAR PELO NEMATÓDEO *Angiostrongylus Vasorum* EM
GRAXAINS-DO-MATO (*Cerdocyon thous*) NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL**

Itatiele Farias Vivian

Porto Alegre

2015/2

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**Infecção pulmonar pelo nematódeo *Angiostrongylus vasorum* em graxains-do-mato
(*Cerdocyon thous*) no estado do Rio Grande do Sul**

Autor: Itatiele Farias Vivian

**Monografia apresentada à Faculdade de
Veterinária como requisito parcial para
obtenção da Graduação em Medicina
Veterinária.**

Orientador: David Driemeier

**Co-orientador: Estevam Guilherme Lux
Hoppe**

Porto Alegre

2015/2

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à minha mãe por ser minha fortaleza, minha melhor amiga, me aguentar todos esses anos, me confortar durante os momentos difíceis, comemorar com as minhas vitórias, me mostrar que as coisas sempre podem dar certo e nunca me deixar desistir.

Ao meu irmão que prova todos os dias que não basta ser irmão de estudante de medicina veterinária, tem que participar! Levando no carro e para casa as coisas mais estranhas.

Ao meu pai por sempre me incentivar a estudar e pelo apoio financeiro.

À Daniela Nicknich que me acompanha desde o começo dessa jornada, antes mesmo de passar no vestibular, por compartilhar sonhos, alegrias, frustrações, ideias e gordices.

Ao meu orientador Professor David Driemeier pela confiança e oportunidade.

Ao meu coorientador, Professor Estevam Hoppe que me fez ver a parasitologia por outros ângulos e gostar dela ainda mais e mesmo estando distante, sempre foi muito presente.

À Gabriela Fredo pela ajuda em todo o processo do trabalho e pelos abraços quando eu achava que não iria mais aguentar.

À Sandra Marques por sempre estar disposta a ensinar e por tornar os dias no laboratório de parasitologia mais animados.

À professora Luciana Sonne pelas correções finais.

Ao Professor Cláudio Cruz com quem aprendi a nunca desistir dos sonhos.

Ao professores Rui Lopes, André Carissimi e Ender pelas conversas e conselhos nas diferentes fases da faculdade.

Aos profissionais que tive a oportunidade de acompanhar e que serviram de inspiração para continuar meu caminho: Elisandro, Michelli, Miúriel, Derek, Clarissa, Alan e Francisco.

Aos amigos que encontrei na vet: Luiza, Carol, Mari, Lina, Luciana, Verônica, Aline, Bruno, Vanessa, Thayane, Natália e Renan. Vocês fizeram esses anos mais felizes.

Ao meu amigo para todas as horas, Gustavo Schneiders.

Ao David Galindo que sempre me tranquilizou em todos os momentos que eu achei que fosse dar tudo errado e foi o meu ponto de equilíbrio durante esse ano tão tumultuado.

À minha linda Maria Clara pelas conversas, risadas e áudios intermináveis.

Às gurias da Comgrad, Samara e Luciana pela atenção e carinho.

Ao pessoal do estágio do Nupecce 2015: Andreia, Natan, Luísa, Karynne, Renan, Kenia, Dieferson, Rômulo, Eduarda e Maíra. Depois daquele verão a vida nunca mais foi a mesma...

Às meninas, Thai, Dai, Mila, Mona, Michi, Fran e Ana que de alguma forma aliviaram todas as tensões que vivemos durante esse último semestre.

E aos meus cães e aos outros animais que me ensinaram muito mais do que eu poderia imaginar e é por eles que eu continuo.

RESUMO

Angiostrongylus vasorum é um nematódeo que parasita as artérias pulmonares e suas ramificações, o ventrículo e o átrio direito de canídeos domésticos e silvestres. Durante os anos de 2013 a 2015 foram realizadas nove necropsias em graxaim-do-mato (*Cerdocyon thous*) no Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Cinco graxains apresentaram infecção pulmonar por *Angiostrongylus vasorum* diagnosticados através do exame histopatológico. As lesões pulmonares encontradas foram trombos parasitários em vasos, presença de ovos e larvas L1 nos alvéolos, hipertrofia de vasos, proliferação de tecido conjuntivo fibroso, infiltrado inflamatório granulomatoso. Essa é a primeira identificação da ocorrência de *A. vasorum* em *C. thous* no estado do Rio Grande do Sul.

Palavras-chaves: *Angiostrongylus vasorum*, *Cerdocyon thous*, histopatologia, infecção pulmonar

ABSTRACT

Angiostrongylus vasorum is a nematode that affects the pulmonary arteries and their ramifications, the right ventricle and the right atrium of domestic and wild canids. During the years 2013 to 2015, necropsies were performed on nine crab-eating foxes (*Cerdocyon thous*) at the Federal University of Rio Grande do Sul in the Veterinary Pathology Sector. Five crab-eating foxes show lung lesions due to pulmonary nematode *Angiostrongylus vasorum*. The diagnosis made through histopathological examination. Lung lesions included parasitic thrombi in vessels, presence of eggs and L1 larvae in the alveoli, enlarged vessels, fibrous connective tissue proliferation and granulomatous inflammatory infiltrate. This is the first identification of the occurrence of *A. vasorum* in *C. thous* in the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil.

Key words: *Angiostrongylus vasorum*, *Cerdocyon thous*, histopathological, lung infection.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Diagnóstico de <i>A. vasorum</i> em <i>C. thous</i> na histopatologia e nos exames parasitológicos.....	14
Tabela 2 - Identificação de <i>A. vasorum</i> no Brasil.....	15

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	9
2 MATERIAS E MÉTODOS.....	11
2.1 Animais.....	11
2.2 Necropsia.....	11
2.3 Exames parasitológicos.....	11
2.4 Conservação e identificação dos helmintos.....	12
3 RESULTADOS.....	13
4 DISCUSSÃO.....	15
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	16
REFERENCIAS.....	17

1 INTRODUÇÃO

Angiostrongylus vasorum é um nematódeo que parasita as artérias pulmonares e suas ramificações, o ventrículo e o átrio direito de canídeos domésticos e silvestres. Sua ocorrência também é descrita em mustelídeos (MADSEN *et al.*, 1999; TORRES; MIQUEL; MOTJÉ, 2001) e pandas vermelhos (*Ailurus fulgens fulgens*) (PATTERSON-KANE *et al.*, 2009). Um experimento realizado por DIAS *et al.* (2008), mostrou que gatos domésticos (*Felis catus*) também podem ser hospedeiros definitivos. Tem distribuição cosmopolita, encontrado na Europa, América do Norte, América do Sul e África (KOCH; WILLESEN, 2009).

O ciclo de vida desses nematódeos é indireto, apresentando como hospedeiro intermediário (HI), gastrópodes terrestres e aquáticos. Ainda, sapos comuns (*Rana temporaria*) podem servir como hospedeiro paratênico e HI (BOLT *et al.*, 1993). Os parasitos adultos se encontram nas artérias pulmonares e no coração dos hospedeiros definitivos (HD). As L1 são eliminadas nas fezes e se desenvolvem até L3 no HI. O HD se infecta pela ingestão desse HI com L3 (forma infectante). O período pré-patente é de 35 a 60 dias, mas pode variar de 28 a 108 dias (CURRY; LIMA, 1996).

Em cães, a presença de *A. vasorum* pode ser assintomática ou esses animais podem apresentar distúrbios cardiorrespiratórias, hematológicos e/ou neurológicos (CONBOY, 2011). Os sinais clínicos associados à angiostrongilose são tosse, dispneia, hemorragia, intolerância ao exercício, anorexia, perda de peso, vômitos e diarreia (KOCH; WILLESEN, 2009). Há relatos de migrações de larvas de primeiro estágio para outros órgãos, causando quadros fatais (OLIVEIRA-JÚNIOR *et al.*, 2004). Em raposas-vermelhas (*Vulpes vulpes*), os sinais clínicos são mais brandos, se restringindo ao sistema respiratório e cardíaco e se desenvolvendo apenas quando há outras doenças concomitantes ou grande presença de *A. vasorum* (ELENI *et al.*, 2014).

Na necropsia, o coração pode apresentar hipertrofia ventricular direita e os pulmões, áreas de coloração marrom-avermelhadas com aumento da consistência e nódulos branco-acinzentados, principalmente nos lobos diafragmáticos (SIMPSON, 1996). A histopatologia pulmonar é caracterizada por granulomas multifocais contendo ovos e larvas no primeiro estágio, macrófagos e células gigantes associado com trombose arterial (POLI *et al.*, 1984).

O diagnóstico é feito pela detecção de L1 nas fezes pelo método de Baermann, mas devido a eliminação de L1 ser intermitente, é recomendado colher amostras durante três dias consecutivos para aumentar a sensibilidade do método. O teste também pode gerar falsos-negativos por causa do período pré-patente, onde não são eliminadas L1. Outras técnicas de

diagnóstico como lavagem broncoalveolar, sorologia e teste moleculares também são descritos (KOCH; WILLESEN, 2009).

O graxaim-do-mato (*Cerdocyon thous*) possui ampla distribuição na América do Sul. No Brasil ele está classificado na categoria de Menos Preocupante (LC). São onívoros e Apresentam uma aparente tolerância às perturbações antrópicas, mas a espécie sofre com a aproximação de animais domésticos e atropelamentos nas rodovias e ferrovias (BEISIEGEL *et al*, 2013).

No estado do Rio Grande do Sul não há descrição de *A. vasorum* acometendo canídeos silvestres. O objetivo do trabalho foi relatar a ocorrência de *A. vasorum* em *C. thous* e descrever as lesões post-mortem encontradas.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Animais

Foram analisadas nove carcaças de *Cerdocyon thous* provenientes da região metropolitana de Porto Alegre de causas variadas de morte entre os anos de 2013 a 2015 e encaminhadas para o Setor de Patologia Veterinária da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (SPV- UFRGS).

2.2 Necropsia

Para a procura de parasitos, os pulmões e o coração foram cuidadosamente examinados. Posteriormente, os pulmões foram separados e abertos desde a traqueia até o parênquima pulmonar e lavados com água corrente sobre tamises, o material retido foi conservado em solução de Railliet & Henry e inspecionado em estereomicroscópio em busca de helmintos.

Fragmentos de todos os órgãos foram coletados e fixados em formalina tamponada 10% e após, processados pelos métodos de rotina histológica e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (H&E).

2.3 Exames Parasitológicos

As fezes coletadas diretamente do reto foram processadas pela técnica de sedimentação espontânea. Adicionalmente, foi realizado o método de Baermann com fragmentos dos pulmões. Esse método é baseado na sedimentação, os fragmentos dos pulmões foram cortados em pequenos bem pedaços e enrolados em uma gaze. Essa gaze foi presa a um cálice de sedimentação e em seguida foi adicionado água morna (42 °C) até a borda de forma que a gaze ficasse submersa. Após 12 h de repouso, o sobrenadante foi desprezado e o sedimento examinado no microscópio (40 X).

2.4 Conservação e identificação dos helmintos

Os parasitos encontrados durante a necropsia, nos lavados e no método de Baermann foram conservados em Solução de Railliet & Henry e enviados para o Laboratório de Helminologia da UNESP- Jaboticabal para identificação morfométrica.

3 RESULTADOS

No período de janeiro de 2013 a dezembro de 2015 foram realizadas nove exames de necropsias em *C. thous*. Dessas, cinco foram identificados com infecção pulmonar por *Angiostrongylus vasorum* (Tabela 1). O diagnóstico foi baseado nas lesões encontradas na microscopia e na identificação de vermes adultos em acordo com chave proposta por COSTA, DE ARAUJO COSTA, GUIMARAES (2003).

Macroscopicamente, as principais lesões encontradas foram, pulmão não colabado, com superfície brilhante e ao corte fluído líquido serosanguinolento, além de áreas avermelhadas com áreas consolidadas em lobos diafragmáticos.

E ainda, lesão focal de sufusão em epicárdio do ventrículo esquerdo e hipertrofia do ventrículo esquerdo.

Na histologia dos pulmões foram observados nódulos compostos por estruturas bananiformes compatíveis com larvas em estágio L1, com espinha dorsal e cauda dobrada medindo aproximadamente 20 µm, núcleo basofílico com citoplasma eosinofílico escasso e uma suave cutícula anfófila. Ovos embrionados redondos a ovais, medindo de 20-30 µm de diâmetro, e em seu interior com diversos núcleos basofílicos e ovos não embrionados com um único núcleo amorfo, citoplasma eosinofílico; infiltrados inflamatórios multifocais compostos por linfócitos, plasmócitos, eosinófilos, macrófagos e células gigantes multinucleadas e acentuada proliferação de tecido conjuntivo fibroso. Hipertrofia da parede de vasos e formação de trombos parasitários em vasos contendo parasitos adultos fêmeas e machos em cortes transversais medindo de 60-80 µm e cortes longitudinais medindo 270 µm de comprimento.

Dos nove graxains-do-mato encaminhados para o SPV-UFRGS, quatro (6, 7, 8 e 9) passaram por todos os métodos de parasitologia: sedimentação espontânea, lavado dos pulmões e Baermann com fragmentos dos pulmões. Desses quatro animais, apenas um foi encontrado vermes adultos no lavado pulmonar, L1 nas fezes (sedimentação espontânea) e no método de Baermann com fragmentos dos pulmões (Tabela 1).

Tabela 1- Diagnóstico de *A. vasorum* em *C. thous* na histopatologia e nos exames parasitológicos.

N	Lesões de <i>A. vasorum</i> na histopatologia	Sedimentação Espontânea	Lavado dos pulmões	Método de Baermann com fragmentos pulmonares
1	-	-	NR	NR
2	+	-	NR	NR
3	-	-	NR	NR
4	+	-	NR	NR
5	+	-	NR	NR
6	+	-	-	-
7	+	+	+	+
8	-	-	-	-
9	-	-	-	-

(+) positivo; (-) negativo; (NR) não realizado

4 DISCUSSÃO

No Brasil, *A. vasorum* foi encontrado em canídeos domésticos nos estados do Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Paraná e Minas Gerais. Entre os canídeos silvestres em Minas Gerais e São Paulo (Tabela 3). Esse é o primeiro registro de *A. vasorum* em *C. thous* no Rio Grande do Sul.

Tabela 3 - Identificação de *A. vasorum* no Brasil.

Espécie	Estado	Referencia
<i>Canis lupus familiares</i>	Rio Grande do Sul	GONÇALVES, 1961
	Rio de Janeiro	LANGENEGGER <i>et al.</i> , 1962
	Paraná	GIOVANONNI ; FERNANDES; KAVINSKY, 1985
	Minas Gerais	LIMA <i>et al.</i> , 1985
<i>Lycalopex vetulus</i>	Minas Gerais	LIMA; GUIMARAES; LEMOS, 1994
<i>Cerdocyon thous</i>	Minas Gerais	DUARTE <i>et al.</i> , 2007
	São Paulo	GRIESE, 2007

As lesões macroscópicas e microscópicas pulmonares observadas nos graxains-do-mato com diagnóstico de *A. vasorum* foram semelhantes à descritas na literatura em raposas-vermelhas (POLI *et al.*, 1984; SIMPSON, 1996; ELENÍ *et al.*, 2014). Em apenas um graxaim-do-mato foi encontrada L1 nas fezes no método de sedimentação espontânea, isso pode ser explicado por não ser possível diagnosticar durante o período pré-patente e da eliminação das larvas pelas fezes ser intermitente (KOCH; WILLESEN, 2009).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Essa é a primeira identificação da ocorrência de *A. vasorum* em *C. thous* no estado do Rio Grande do Sul. Por apresentar sinais clínicos inespecíficos e ser difícil a detecção desse parasito pelo exame parasitológico de fezes, devido ao seu período pré-patente e sua eliminação pelas fezes ser intermitente, sua ocorrência pode ser subestimada, sendo diagnosticado apenas no exame *post-mortem* na histopatologia. Estudos devem ser realizados para analisar a prevalência desse metastrongilídeo em carnívoros domésticos e silvestres.

REFERENCIAS

- BEISIEGEL, B. M; LEMOS, F. G; AZEVEDO, F. C. *et al.* Avaliação do risco de extinção do Cachorro-do-mato *Cerdocyon thous* (Linnaeus, 1766) no Brasil. *In: Avaliação do estado de Conservação dos Carnívoros. Biodiversidade brasileira.* ICMBio, 3(1), p. 138-145, 2013.
- BOLT, G.; MONRAD, J.; FRANDBSEN, F. *et al.* The common frog (*Rana temporaria*) as a potential paratenic and intermediate host for *Angiostrongylus vasorum*. **Parasitology Research**, v. 79, p. 428– 430, may. 1993.
- BOLT, G.; MONRAD, J.; KOCH, J. *et al.* Canine angiostrongylosis: a review. **Veterinary Record**, n. 135, v. 19, p. 447– 452, nov. 1994.
- CONBOY, G.A. Canine angiostrongylosis: the French heartworm: An emerging threat in North America. **Veterinary Parasitology**, n. 176, p. 382–389, 2011.
- COSTA, J. O.; DE ARAUJO COSTA, H. M.; GUIMARAES, M. P.; Redescription of *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) and systematic revision of species assigned to the genera *Angiostrongylus* Kamensky, 1905 and *Angiocaulus* Schulz, 1951. **Revue de Médecine Vétérinaire**. v. 154, n. 1, p. 9-16, 2003
- CURY, M. C.; LIMA, W. S. Aspectos clínicos de cães infectados experimentalmente com *Angiostrongylus vasorum* (Clinical aspects of dogs experimentally infected with *Angiostrongylus vasorum*. **Arquivo brasileiro de medicina veterinária e zootecnia**, Belo Horizonte, n. 48, p. 27– 34, fev.1996.
- DIAS, S. R.; OLIVEIRA, E. L.; VIANA, M. H. *et al.* Permissivity of the domestic cat (*Felis catus*) to infection by *Angiostrongylus vasorum* (Nematoda: Protostrongylidae). **Revue de Médecine Vétérinaire**. v. 159, n. 2, p. 87-90, 2008.
- DUARTE, F. H.; VIEIRA, F. M.; LOUZADA, G. L. *et al.* Ocorrência de *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) (Nematoda, Angiostrongylidae) em *Cerdocyon thous* Linnaeus, 1766 (Carnivora, Canidae) no Estado de Minas Gerais. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 59, n. 4, p.1086-1088, 2007.

ELENI, C.; GRIFONI, G.; EGIDIO, A. *et al.* Pathological findings of *Angiostrongylus vasorum* infection in red foxes (*Vulpes vulpes*) from Central Italy, with the first report of a disseminated infection in this host species. **Parasitology Research**, v. 113, p. 1247-1250, 2014.

GIOVANONNI, M.; FERNANDES, B. F.; KAVINSKY, L. C. Angiostrongilose do cão. **Arquivos de biologia e tecnologia**, Paraná, n. 28, v. 4, p. 601-604, 1985.

GONÇALVES, P.C. *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) novo parasito do cão no Rio Grande do Sul (Brasil) – Nematoda, Metastrongyloidea. **Revista da Faculdade de Agronomia e Veterinária**, Porto Alegre, v.4, p. 35-40, 1961.

GRIESE, J. **Helmintofauna de vertebrados atropelados em rodovias da região de Botucatu, São Paulo**. 2007. 75 f.. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, 2007.

KOCH, J.; WILLESEN, J. L. Canine pulmonary angiostrongylosis: an update. **The Veterinary Journal**, v. 179, p. 348–359, 2009

LANGENEGGER, J.; LANGENEGGER, A. M.; DACORSO FILHO, P. *et al.* Ocorrência da infestação por *Angiostrongylus vasorum* em cães do Rio de Janeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINARIA, 8., 1962, Belo Horizonte. **Resumos**. Belo Horizonte, 1962. p.246-247.

LIMA, W. S.; COSTA, H. M. A.; GUIMARÃES, M. P. *et al.* R. *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) (Nematoda, Protostrongylidae) em cães de Minas Gerais, Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.80, p.233-235, 1985.

LIMA, W.S.; GUIMARAES M. P.; LEMOS. I. S. Occurrence of *Angiostrongylus vasorum* in the lungs of the Brazilian fox *Dusicyon vetulus*. **Journal of Helminthology**. v. 68, p. 87-87, mar. 1994.

MADSEN, A.B.; DIETZ, H.H.; HENRIKSEN, P.; CLAUSEN, B. Survey of Danish Free living otters *Lutra lutra* - a consecutive collection and necropsy of dead bodies. **IUCN Otter Spec. Group Bull.** n. 16, v. 2, p.65–76, 1999.

OLIVEIRA-JÚNIOR, S. D.; BARÇANTE, J. M. P.; BARÇANTE, T. A.; RIBEIRO, V. M.; LIMA, W. S. Ectopic location of adult worms and first-stage larvae of *Angiostrongylus vasorum* in an infected dog. **Veterinary Parasitology.** v. 121, p. 293-296, 2004

PATTERSON-KANE, J. C.; GIBBSON, L. M.; JEFFERIES, R.; MORGAN, E. R.; WENZLOW, N.; REDROBE, S. P. Pneumonia from *Angiostrongylus vasorum* infection in a red panda (*Ailurus fulgens fulgens*). **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.** v. 21, p. 270- 273, 2009.

POLI, A.; ARISPICI, M.; MARRONCINI, A. *et al.* *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1886) in red foxes (*Vulpes vulpes* L.) in Italy. **Journal of Wildlife Disease,** n. 20, v. 4, p. 345–346, 1984.

SIMPSON, V.R. *Angiostrongylus vasorum* infection in foxes (*Vulpes vulpes*) in Cornwall. **Veterinary Record,** v. 139, p. 443–445, 1996.

TORRES, J.; MIQUEL, J.; MOTJÉ, M. Helminth parasites of the eurasian badger (*Meles meles* L.) in Spain: a biogeographic approach. **Parasitology Research.** v. 87, p. 259–263, 2000.