

**Silvia Regina Costa Dias**

“Suscetibilidade do gato doméstico (*Felis catus*)  
à infecção por *Angiostrongylus vasorum*:  
parâmetros clínicos, parasitológicos e laboratoriais.”

**Belo Horizonte  
2006**

**Silvia Regina Costa Dias**

“Suscetibilidade do gato doméstico (*Felis catus*)  
à infecção por *Angiostrongylus vasorum*:  
parâmetros clínicos, parasitológicos e laboratoriais.”

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Parasitologia.

**Orientador**  
**Prof. Walter dos Santos Lima**

Laboratório de Helminologia Veterinária, Departamento de Parasitologia,  
Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais,  
Belo Horizonte/MG.

**Belo Horizonte**  
**2006**

## **Agradecimento Especial**

*Ao Programa de Pós-Graduação em Parasitologia, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, na pessoa do Prof. Pedro Marcos Linardi, pela oportunidade, apoio e incentivo para a realização deste trabalho.*

Trabalho realizado no *Laboratório de Helminologia Veterinária*,  
Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas,  
Universidade Federal de Minas Gerais, com o apoio  
financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do  
Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

## AGRADECIMENTOS

Agradecer é sempre difícil... Ainda mais quando se está no mesmo lugar há tanto tempo e onde todos contribuíram com a sua formação. Não me formo sozinha ou com a ajuda de apenas um ou dois... me formo com a participação de muitas pessoas no âmbito profissional e pessoal.

Foram muitas noites sem dormir, muitos projetos escritos e reescritos, muitos finais de semana na frente do computador, sem saber se o sol brilhava ou não lá fora, mas hoje sei que valeu a pena.

E as primeiras pessoas as quais eu devo agradecer são aos meus pais que formaram em mim uma base sólida, com valores importantíssimos na minha formação. Obrigada mãe... Obrigada, pai... Pela amizade, respeito, carinho, amor, atenção, ajuda. Saibam que hoje cumpro mais uma etapa da minha caminhada e, mais do que isso, realizo mais um sonho. Amo muito vocês!

Outras duas pessoas foram importantíssimas na minha caminhada: *Gabriela e Luísa*. Minhas irmãs queridas. Que me ensinaram a amar incondicionalmente. Obrigada pelo apoio, pela convivência, às vezes não muito boa, mas com certeza, importantíssima para todas nós. *Lú*, obrigada pelo orgulho! Amo vocês de montão!

Ao longo da minha caminhada neste departamento, foram muitas as pessoas que conheci e as quais eu devo agradecer neste momento... São pessoas nas quais tento me espelhar, modelos de profissionais que se tornaram amigos.

Ao *Prof. Rubens*, da Escola de Veterinária, pelas manhãs de trabalho sobre os hemogramas dos animais. Obrigada por me ensinar um pouco sobre patologia e clínica de pequenos animais, pelas discussões, idéias, conselhos, hipóteses...

A *Prof. Marilene*, por tudo que aprendi com ela. Pela confiança, pela amizade, pelo carinho, pela generosidade... Obrigada de coração!

A *Prof. Norma*, por me dar a mão na hora certa, pelo carinho, confiança, competência e preocupação... Obrigada!

Ao *Prof. Pezzi*, por, desde a minha iniciação científica, abrir as portas do seu laboratório a qualquer momento. Pelo conhecimento, pelas brincadeiras, pela amizade. Obrigada!

Ao *Prof. Ricardo*, por permitir aprender muitas coisas em seu laboratório, pelas discussões e conversas sobre meus projetos. Obrigada!

Ao *Prof. Alan*, por tornar mais fácil a leitura das bibliografias em francês e por abrir as portas do seu laboratório em um dos momentos mais difíceis pra mim. Agradeço com muito carinho a você **“profi”**!

Enfim, agradeço imensamente a todos os professores deste departamento que, de uma forma ou de outra, abriram as portas dos seus laboratórios, me ensinaram muito sobre Parasitologia e afins...

Agradeço imensamente aos funcionários e amigos deste Departamento, especialmente:

Ao *Carlos e Márcia*, bioteristas dedicados, que me ajudaram a cuidar dos animais com atenção, carinho e responsabilidade. Obrigada pela presteza e disponibilidade, sem a ajuda de vocês este trabalho não teria sido possível!

À *Maria e Hudson*, por todos estes anos em que vocês me ensinaram tanto sobre tantas coisas... Obrigada pela amizade e carinho!

Ao *Sr. Nery* por ser o atleticano mais legal que já conheci... Agradeço pelo carinho, pela força, pelas brincadeiras e pelo café...

À *Amália* pelo carinho, preocupação, dicas e conselhos... Por seu jeito tão fantástico de ser... Obrigada!

À *Rosa*, por todos os ensinamentos de imunologia, pelas palavras amigas e confortantes nos momentos mais difíceis. Obrigada pelo carinho!

À Elza, pela paciência em me ensinar a trabalhar com sorologia. Obrigada por tudo!

À *Florence* e *Selma* pela atenção no fornecimento semanal de caramujos para manutenção da cepa. Obrigada!

Ao *Airton*, pela confecção das lâminas histológicas. Muito obrigada!

À *Sumara*, pelo incentivo, pela torcida, ajuda, apoio, olhar de mãe, pelo carinho...enfim, por tudo isso que você é! Obrigada!

Já os amigos... os amigos...

Amigos são para sempre! Não tenho muitos, mas com certeza todos eles são verdadeiros!

Começo agradecendo a um casal que me apresentou à pesquisa e devo a eles o que sou hoje como profissional: a vocês, *Jozi* e *Thales*, o meu eterno e sincero muitíssimo obrigada! Não tenho palavras para agradecer a vocês tudo que fizeram e fazem por mim. Nossa história é longa e se eu fosse agradecer a cada coisa que merece ser agradecida eu ficaria aqui dias e aí não haveria dissertação... Obrigada pela amizade, atenção, preocupação, conselhos, brincadeiras, discussões... Sem vocês os desafios que a vida coloca no meu caminho seriam muito mais difíceis de serem superados. Obrigada por tudo do fundo do meu coração! E obrigada também pela afilhadinha mais linda do mundo: a pequena *Carol*. Agradeço a ela por cada sorriso, por cada quá-quá desenhado, por cada “que cor é essa?”, cada perdiz... Obrigada por colocarem uma pessoa tão especial em minha vida! E por fazerem parte da minha vida...

À *Renata*, por todos estes anos de convivência, de confidências, de choros, de alegrias e atualmente, pelas cervejinhas e caipirinhas nas horas mais imprevistas e previstas. Obrigada pelo seu apoio, preocupação e palavras de carinho. ... Enfim, não tenho palavras para agradecer... Mas sempre agradeço a Deus por ter colocado em meu caminho pessoas como você! Obrigada por tudo, minha amiga!

Ao *Sydnei*, que passou de uma companhia super agradável a uma amizade verdadeira. Obrigada por tudo! Desde as revisões, conselhos clínicos, suturas e remédios até os *happy-hour*, os desabafos... Mais uma vez, obrigada!

À Comissão Forever, *Lú, André, Aninha e Janis*, que mesmo com a distância e trabalhos, que impediram encontros mais freqüentes, fizeram esta trajetória mais suave. Obrigada pela amizade de vocês!

Aos outros grandes amigos: *Walzi, Lê, Sheila, Wander, D. Zilma, Sr. Valtencir*, agradeço de coração pelo apoio de sempre, pelas palavras de encorajamento, pelas orações, pelos sorrisos, enfim, pelos bons momentos juntos...

Ao *Luiz*, pelos anos de convivência, pela paciência nos momentos de dúvida, pela ajuda, pelo carinho e amizade eternos. Não tenho palavras para agradecer tudo o que você fez e faz por mim... Você sempre fará parte da minha vida! Obrigada por tudo!

Certos momentos jamais serão apagados da minha memória... Os seis primeiros meses de mestrado com certeza serão inesquecíveis. Éramos (e ainda somos) a Turma do Bico. Agradeço a vocês *Carol, Jú, Elisa, Vânia, Eveline, Michel, Andrey, Haendel, Bárbara, Marcelle e Dani* pelos momentos maravilhosos que passamos juntos, pelas provas, pelos estudos, pela ajuda, e, pela coisa mais importante deste mundo: pela amizade de vocês! Obrigada por tudo!

Além destes colegas têm também os demais colegas da pós: *Lívio, Késia, Ceres, Kelly, Andréia, Raul, Weverton, Eloísa (Loló), Rodrigo, Ricardo*, e outros tantos que passaram...mesmo antes de eu entrar na pós-graduação. Meu muito obrigado pelo apoio e incentivo de vocês!

E finalmente, agradeço àqueles que foram (se não a primeira) a minha segunda família: a família do laboratório. Foram seis anos de convivência que me ensinaram muito sobre amizade, gratidão, paciência, conhecimento... Muitos apenas passaram, outros se foram, muitos ficaram. E todos certamente estes serão amigos que levarei comigo para sempre!

À *Edna*, sempre mãezona...aliás, minha segunda mãe... Desculpe-me se às vezes não soube entender e respeitar seu jeito de ser. Obrigada por tudo! Ao seu lado aprendi muito e passei por momentos muito divertidos e cheios de alegria...

À *Vivi*, pela ajuda, apoio nos momentos difíceis e por me ensinar a ser uma pessoa mais paciente. Respeitar o tempo e o jeito de trabalhar do outro. Obrigada pela sua amizade e carinho! Conte sempre comigo!

À *Eveline*, por seu exemplo de coragem e força de vontade. Obrigada pela sua amizade!

Ao *Márcio*, “menino-que-Deus-guarda”, pela eterna boa-vontade em ajudar, aprender e ensinar. Obrigada pelos dias de descanso dedicados ao meu trabalho, às aulas enforcadas... Pelos conselhos, cafés nas cantinas, pelas cervejinhas no final da tarde... Obrigada por tudo! Conte sempre comigo!

Ao *Edu*, hoje médico veterinário com um futuro brilhante pela frente, sempre meu grande amigo. Obrigada por todos estes anos de convivência, onde aprendi muito. Pela ajuda na redação dos projetos e, principalmente, na realização deles. Sem você, este trabalho teria sido muito mais difícil! Com sua competência, dedicação e conselhos os obstáculos foram muito menores... Não sei como te agradecer pela confiança em mim depositada, pelos finais de semana, feriados e noites trabalhando... Obrigada também pelo carinho, amizade, pelos momentos de descontração, pelos cafés e refrigerantes nas cantinas do ICB e da Veterinária, pelos momentos de conversas na escada, pelas cervejinhas nos butecos... Obrigada por tudo de coração!

Aos novos membros desta família tão querida: *Fabiana, Thiago, Lanuze e Camila*. Agradeço a vocês pela convivência e pela oportunidade de ensinar um pouco do que sei a vocês. Contem sempre comigo!

Mas esta família não seria nada sem ele... meu orientador... *Prof. Walter*. Desde o início abriu as portas do seu laboratório para mim. Aprendi muito, muito, muito com ele. Tivemos problemas sim, mas qual orientado não tem problemas com seu orientador em algum momento? Chorei muito, mas hoje percebo que tudo tem um por quê. E agradeço a ele por me permitir crescer tanto e por me dar oportunidades que nem todo mundo tem

a sorte de ter. Hoje devo a ele grande parte do meu crescimento profissional e pessoal. A você, *Walter*, meu sincero muito obrigada!

Finalmente, agradeço a DEUS, através de versos de Vinícius de Moraes:

*“Devemos tudo Àquele que nos deu sabedoria para descobrir nossa vocação, força para superarmos os obstáculos, tornando um sonho realidade. Pedimos-Lhe que nos ilumine para agirmos com dignidade em nosso trabalho e com acerto em nossas decisões. Você se fez presente e, todos os momentos firmes ou trêmulos e, passo a passo, pude sentir Tua mão na minha, transmitindo-me a segurança necessária para enfrentar meu caminho a seguir. A Tua presença, é qualquer coisa como a luz e a vida, e eu sinto que, em meu gesto, existe Teu gesto e em minha voz a Tua voz”.*

*A vitória só é possível para  
aqueles que se lançam, que ousam  
e que acreditam nos seus sonhos,  
que caminham com decisão e coragem.*

# SUMÁRIO

<b>I. INTRODUÇÃO</b>	<b>1</b>
<b>II. REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>5</b>
II.1. Morfologia e biologia	7
.....	
II.2. Distribuição	8
.....	
II.2.1. <i>Angiostrongylus vasorum</i> no Brasil	9
.....	
II.3. Patogenia e quadro clínico	10
.....	
II.4. Diagnóstico	12
.....	
II.5. Aspectos imunológicos	13
.....	
II.5.1. Imunossupressão	14
.....	
<b>III. OBJETIVOS</b>	<b>16</b>
III.1. Objetivo geral	17
.....	
III.2. Objetivos específicos	17
.....	
<b>IV. METODOLOGIA</b>	<b>18</b>
IV.1. Fontes de larvas de primeiro estágio (L <sub>1</sub> )	19
.....	
IV.2. Infecção de moluscos	19
.....	
IV.3. Recuperação de larvas de terceiro estágio (L <sub>3</sub> )	20
.....	
IV.4. Animais	20
.....	
IV.4.1. Grupos	21
.....	
IV.4.2. Imunossupressão	22
.....	
IV.4.3. Inoculação dos animais	22
.....	
IV.4.4. Exames copro-parasitológicos	24
.....	
IV.4.5. Exames clínicos	24
.....	
IV.4.5.1. Coleta de sangue	24
.....	

IV.4.6. Ingestão de alimento	25
.....	
IV.5. Resposta celular	25
.....	
IV.5.1. Hemograma	25
.....	
IV.6. Aspectos patológicos	25
.....	
IV.6.1. Histopatologia	26
.....	
IV.7. Caracterização e morfometria dos parasitos adultos	26
.....	
IV.8. Análise estatística	27
.....	
<b>V. RESULTADOS</b>	<b>29</b>
V.1. Inoculação	30
.....	
V.2. Avaliação parasitológica	30
.....	
V.3. Parâmetros clínicos	30
.....	
V.3.1. Ganho de peso	33
.....	
V.3.2. Temperatura retal média	35
.....	
V.3.3. Freqüência cardíaca	35
.....	
V.3.4. Freqüência femural	35
.....	
V.3.5. Freqüência respiratória	36
.....	
V.3.6. Ingestão de alimento	36
.....	
V.4. Exames hematológicos	43
.....	
V.4.1. Hemograma	43
.....	
V.4.1.1. Contagem de hemácias	43
.....	
V.4.1.2. Volume globular	43
.....	
V.4.1.3. Leucócitos totais	47
.....	
V.4.1.4. Contagem diferencial de leucócitos	49
.....	
V.4.1.4.1. Neutrófilos	49
.....	
V.4.1.4.2. Monócitos	51

.....	
V.4.1.4.3. Linfócitos	53
.....	
V.4.1.4.4. Basófilos	55
.....	
V.4.1.4.5. Eosinófilos	55
.....	
V.5. Necropsia e achados parasitológicos	58
.....	
V.5.1. Análise histológica de coração e pulmões	61
.....	
V.6. Caracterização e morfometria dos vermes adultos de <i>A. vasorum</i>	61
.....	
V.6.1. Geral	61
.....	
V.6.2. Fêmeas	61
.....	
V.6.3. Machos	62
.....	
<b>VI. DISCUSSÃO</b>	<b>77</b>
.....	
VI.1. Imunossupressão	78
.....	
VI.2. Inoculação	79
.....	
VI.3. Exames copro-parasitológicos	80
.....	
VI.4. Exames clínicos	80
.....	
VI.4.1. Ingestão de alimento	81
.....	
VI.5. Hemograma	82
.....	
VI.5.1. Contagem global de hemácias e volume globular	82
.....	
VI.5.2. Contagem global de leucócitos	82
.....	
VI.5.3. Contagem diferencial de células	83
.....	
VI.5.3.1. Neutrófilos	83
.....	
VI.5.3.2. Monócitos	84
.....	
VI.5.3.3. Linfócitos	85
.....	
VI.5.3.4. Eosinófilos	86
.....	
VI.6. Necropsia e achados parasitológicos	86
.....	

VI.6.1. Recuperação de vermes adultos e patogenia	87
.....	
VI.6.2. Morfometria	88
.....	
VI.7. Perspectivas futuras	90
.....	
<b>VII. CONCLUSÕES</b>	<b>92</b>
<b>VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>94</b>

## LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 01** – Corte histológico de pulmão de um gato inoculado experimentalmente com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 60 dias após a inoculação. As setas (←) indicam o espessamento da parede dos alvéolos, característica do quadro de pneumonite infiltrativa. Coloração: HE. Microscópio óptico: aumento 40X..... 63
- FIGURA 02** – Corte histológico de pulmão de um gato inoculado experimentalmente com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 55 dias após a inoculação. A seta (←) indica inflamação das artérias (endarterite). Coloração: HE. Microscópio óptico: aumento 40X..... 64
- FIGURA 03** – Corte histológico de pulmão de um gato inoculado experimentalmente com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 55 dias após a inoculação. A seta (←) indica a formação de processos granulomatosos. Coloração: HE. Microscópio óptico: aumento 40X..... 65
- FIGURA 04** – Porção medial de uma fêmea (A) e de um macho (B) de *Angiostrongylus vasorum* recuperados de um gato inoculado experimentalmente com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 55 dias após a inoculação. A seta (←) indica o aparelho reprodutor. Observar a cutícula transparente e, nas fêmeas, o aspecto helicoidal do aparelho reprodutor em torno do tubo digestivo. Microscópio óptico: aumento 40X..... 68
- FIGURA 05** – Extremidade anterior de uma fêmea de *Angiostrongylus vasorum* recuperada de um gato infectado experimentalmente com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 55 dias após a inoculação. A seta (←) indica o esôfago claviforme. Microscópio óptico: aumento 10X..... 69
- FIGURA 06** – Extremidade posterior de uma fêmea de *Angiostrongylus vasorum* recuperada de um gato infectado experimentalmente com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 55 dias após a inoculação. A seta (←) indica a expansão cuticular característica da espécie. Microscópio óptico: aumento 10X..... 70
- FIGURA 07 A e B** – Extremidade posterior de uma fêmea ovígera de *Angiostrongylus vasorum* recuperada de um gato experimentalmente infectado com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 60 dias após a inoculação. A seta (→) mostra o ovo no interior do aparelho reprodutor. Microscópio óptico: aumento de 10X (A) e 40X (B)..... 71

<b>FIGURA 08</b> – Extremidade posterior de uma fêmea adulta não ovígera de <i>Angiostrongylus vasorum</i> recuperada de um gato experimentalmente infectado com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 55 dias após a inoculação. Microscópio óptico: aumento 10X.....	72
<b>FIGURA 09</b> – Porção mediana de uma fêmea adulta não ovígera de <i>Angiostrongylus vasorum</i> recuperada de um gato experimentalmente infectado com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 55 dias após a inoculação. Microscópio óptico: aumento 40X.....	73
<b>FIGURA 10</b> – Extremidade posterior de um macho adulto de <i>Angiostrongylus vasorum</i> recuperado de um gato experimentalmente infectado com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 55 dias após a inoculação. Microscópio óptico: aumento 10X.....	74
<b>FIGURA 11</b> – Extremidade posterior de um macho adulto de <i>Angiostrongylus vasorum</i> recuperado de um gato experimentalmente infectado com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 55 dias após a inoculação. Microscópio óptico: aumento 40X.....	75

## LISTA DE QUADROS

<b>QUADRO 1</b> – Caracterização dos grupos experimentais de gatos inoculados com <i>Angiostrongylus vasorum</i> e gatos controle quanto ao número e peso de cada animal.....	23
<b>QUADRO 02</b> – Comparação de medidas médias de parasitos adultos de <i>Angiostrongylus vasorum</i> recuperados de gatos inoculados experimentalmente com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo e dos parasitos adultos de <i>A. vasorum</i> recuperados de cães por Lima et al. (1985) e Guilhon & Cens (1973).....	89

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1</b> – Aspectos clínicos dos animais experimentalmente inoculados (grupos A e B) com 50 larvas de terceiro estágio de <i>Angiostrongylus vasorum</i> / quilograma de peso vivo e controle (grupo D), durante os 60 dias de observação.....	32
<b>TABELA 2</b> – Estádios evolutivos de <i>Angiostrongylus vasorum</i> recuperados da necrópsia de gatos experimentalmente infectados com 50 larvas de terceiro estágio de <i>Angiostrongylus vasorum</i> / quilograma de peso vivo.....	60
<b>TABELA 03</b> – Medidas dos vermes adultos recuperados de gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de <i>Angiostrongylus vasorum</i> / quilograma de peso vivo.....	67

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>GRÁFICO 1</b> – Variação de peso de gatos infectados por <i>Angiostrongylus vasorum</i> e de gatos controle.....	34
<b>GRÁFICO 2</b> - Temperatura retal média de gatos infectados por <i>Angiostrongylus vasorum</i> e de gatos controle.....	37
<b>GRÁFICO 3</b> – Frequência cardíaca média de gatos infectados por <i>Angiostrongylus vasorum</i> e de gatos controle.....	38
<b>GRÁFICO 4</b> – Frequência femural média de gatos infectados por <i>Angiostrongylus vasorum</i> e de gatos controle.....	39
<b>GRÁFICO 5</b> – Frequência respiratória média de gatos infectados por <i>Angiostrongylus vasorum</i> e de gatos controle.....	40
<b>GRÁFICO 6</b> – Média da ingestão de alimentos de gatos infectados por <i>Angiostrongylus vasorum</i> e de gatos controle.....	41
<b>GRÁFICO 7</b> – Número médio de hemácias de gatos infectados por <i>Angiostrongylus vasorum</i> e de gatos controle.....	45
<b>GRÁFICO 8</b> – Volume globular médio do sangue de gatos infectados por <i>Angiostrongylus vasorum</i> e de gatos controle.....	46
<b>GRÁFICO 9</b> – Número de leucócitos totais sangue periférico de gatos infectados por <i>Angiostrongylus vasorum</i> e de gatos controle.....	48
<b>GRÁFICO 10</b> – Número absoluto de neutrófilos, por milímetro cúbico de sangue de gatos infectados por <i>Angiostrongylus vasorum</i> e de gatos controle.	50
<b>GRÁFICO 11</b> – Número absoluto de monócitos, por milímetro cúbico de sangue de gatos infectados por <i>Angiostrongylus vasorum</i> e de gatos controle.	52
<b>GRÁFICO 12</b> – Número absoluto de linfócitos, por milímetro cúbico de sangue de gatos infectados por <i>Angiostrongylus vasorum</i> e de gatos controle.	54
<b>GRÁFICO 13</b> – Número absoluto de basófilos, por milímetro cúbico de sangue de gatos infectados por <i>Angiostrongylus vasorum</i> e de gatos controle.	56
<b>GRÁFICO 14</b> – Número absoluto de eosinófilos, por milímetro cúbico de sangue de gatos infectados por <i>Angiostrongylus vasorum</i> e de gatos controle.	57

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>ICB</b>	Instituto de Ciências Biológicas
<b>UFMG</b>	Universidade Federal de Minas Gerais
<b>CETEA</b>	Comitê de Ética em Experimentação Animal
<b>COBEA</b>	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
<b>DAÍ</b>	Dias após a infecção
<b>ELISA</b>	<i>Enzyme lynked immunosorbent assay</i>
<b>g</b>	Gravidade
<b>hs</b>	Horas
<b>HD</b>	Hospedeiro definitivo
<b>HI</b>	Hospedeiro intermediário
<b>HP</b>	Hospedeiro paratênico
<b>L<sub>1</sub></b>	Larva de primeiro estágio
<b>L<sub>2</sub></b>	Larva de segundo estágio
<b>L<sub>3</sub></b>	Larva de terceiro estágio
<b>L<sub>4</sub></b>	Larva de quarto estágio
<b>L<sub>5</sub></b>	Larva de quinto estágio
<b>min</b>	Minuto
<b>ml</b>	Mililitro
<b>mm</b>	Milímetro
<b>µl</b>	Microlitro
<b>SRD</b>	Sem raça definida
<b>IgA</b>	Imunoglobulina da subclasse A
<b>IgE</b>	Imunoglobulina da subclasse E
<b>IgG</b>	Imunoglobulina da subclasse G
<b>IgM</b>	Imunoglobulina da subclasse M
<b>µm</b>	Micrômetros
<b>Nº</b>	Número
<b>cm</b>	Centímetro
<b>°C</b>	Graus Celsius
<b>PBS</b>	<i>Phosphate buffer saline</i>
<b>W</b>	Watts
<b>kg</b>	Quilo
<b>mg</b>	Miligrama
<b>G</b>	Gramas
<b>IM</b>	Intramuscular
<b>HE</b>	Hematoxilina-eosina
<b>CETEA</b>	Comitê de Ética em Experimentação Animal
<b>mm<sup>3</sup></b>	Milímetro cúbico
<b>%</b>	Porcentagem
<b>EDTA</b>	Ácido etilenodiaminotetracético
<b>TRM</b>	Temperatura retal média
<b>FCM</b>	Frequência cardíaca média
<b>bpm</b>	Batimentos por minuto
<b>FPFM</b>	Frequência pulso femural média
<b>mpm</b>	Movimentos por minuto
<b>ppm</b>	Pulsações por minuto
<b>FRM</b>	Frequência respiratória média
<b>NMN</b>	Numero médio de neutrófilos

<b>NMNB</b>	Número médio de neutrófilos bastonetes
<b>NMNS</b>	Número médio de neutrófilos segmentados
<b>NMM</b>	Número médio de monócitos
<b>NML</b>	Número médio de linfócitos
<b>NME</b>	Número médio de eosinófilos

## RESUMO

O gato doméstico, *Felis catus*, apesar de ser um animal cada dia mais próximo do homem, não foge ao instinto da caça de pequenos animais, que podem ser transmissores do *Angiostrongylus vasorum*, um nematóide cárdio-pulmonar de canídeos, com ciclo de vida heteroxeno e um possível agente de zoonose. Aliando estes fatores ao fato de a suscetibilidade natural de gatos à infecção por *A. vasorum* ainda ser uma incógnita devido a escassez de relatos na literatura, este estudo propôs avaliar gatos experimentalmente inoculados com o parasito através de exames parasitológicos, clínicos e laboratoriais. Para isso, 18 gatos, SRD, foram selecionados e divididos em quatro grupos experimentais: i) grupo A – seis animais inoculados experimentalmente com 50 larvas de terceiro estágio por quilograma de peso vivo (50L<sub>3</sub>/kg) submetidos a um protocolo de imunossupressão com acetato de metilprednisolona, IM, que se estendeu de sete dias antes da inoculação aos 60 dias após a inoculação (DAI); ii) grupo B – cinco animais inoculados experimentalmente com 50L<sub>3</sub>/kg; iii) grupo C - quatro animais inoculados experimentalmente com 50L<sub>3</sub>/kg; iv) grupo D – três animais não inoculados, que serviram como controle. Os animais dos grupos A, B e D foram submetidos a exames clínicos com coleta de sangue nos dias -7, 0, +15, +30, +45 e +60 DAI. Estes animais foram sacrificados aos +60 DAI, quando foram então necropsiados, para recuperação de parasitos adultos e/ou formas larvais. Os animais do grupo C foram sacrificados um a um a cada 15 dias. Todos os animais tiveram as fezes avaliadas diariamente a partir do +21ºDAI, no entanto não foram observadas L<sub>1</sub> nas fezes de nenhum animal. Foram observados quadros de descompensação respiratória e dispnéia nos animais inoculados. Os animais imunossuprimidos ingeriram menos alimento e apresentaram perda de peso se comparados aos animais não tratados. Ao nível sanguíneo foi observada leucocitose madura nos animais do grupo A. À necropsia dos animais do grupo C, pela primeira vez é descrita a recuperação de L<sub>3</sub> de *A. vasorum* da vesícula biliar e do pâncreas de dois gatos. Foram recuperados parasitos adultos no coração (02 parasitos) e pulmão (12 parasitos) dos animais. Todos os parasitos apresentavam-se característicos, com cutícula transparente e aparelho reprodutor com aspecto helicoidal em torno do tubo digestivo. Foram encontrados nódulos no parênquima pulmonar, de onde foram recuperados parasitos mortos. Foram recuperados 06 vermes adultos nos animais do grupo A; 03 vermes adultos nos animais do grupo B; e, 05 vermes nos animais do grupo C. No total, foram recuperadas 11 fêmeas, sendo 05, fêmeas ovígeras, e 06, fêmeas não ovígeras. Cortes histológicos evidenciaram quadro de pneumonite infiltrativa, caracterizada pelo espessamento da parede dos alvéolos e endarterite, e quadros de processos granulomatosos. Neste trabalho, o efeito da imunossupressão pôde ser constatado em diversos parâmetros clínicos, contagens de diversos tipos celulares e recuperação de vermes adultos. A ausência de L<sub>1</sub> nas fezes dos animais pode estar relacionado com o encontro de fêmeas adultas não ovígeras e com o pequeno número de parasitos recuperados, o que dificultaria o encontro e a cópula de machos e fêmeas. As fêmeas não ovígeras são menores que as fêmeas ovígeras e todos os parasitos recuperados de gatos são menores que os parasitos recuperados de cães. Assim, este trabalho mostrou que gatos são permissíveis à infecção por *A. vasorum*, sendo que a infecção ocorre de forma oculta até os +60DAI.

## *I – INTRODUÇÃO*



O gato doméstico, *Felis catus*, é um mamífero, membro da ordem Carnívora, que, quando criado livre, se alimenta normalmente de pequenos mamíferos, répteis e aves. Seus olhos dirigidos para frente, sentidos aguçados e andar silencioso em pés almofadados fazem dele um caçador eficiente. O pequeno corpo flexível e as garras afiadas possibilitam lançar-se e agarrar facilmente uma presa e os dentes afiados facilitam cortar a musculatura (Storer et al., 2000).

A domesticação do gato ocorreu entre três e quatro mil anos a.C., nos grandes campos de cultivo do império do Egito antigo, quando o homem começou a armazenar a colheita. Os gatos eram utilizados para controlar roedores, que prejudicavam o armazenamento e a qualidade dos grãos. No decorrer da história gregos e romanos continuaram a usá-los como caçadores de ratos. No século XI, os gatos alcançaram papel importante quando o rato invadiu a Europa, trazendo consigo a peste (Pierson et al., 1966).

No entanto, a partir do século XIII, os gatos foram considerados, na Europa, animais do inferno, associados aos cultos pagãos e à feitiçaria, sendo sacrificados em grande número. Somente no século XVIII os gatos recuperaram a atenção e o afeto, servindo de inspiração para poetas, pintores e escritores (Pierson et al., 1996).

Atualmente, considera-se que a dispersão dos gatos entre a população humana deve-se a três fatores: o primeiro, está relacionado ao animal, que simboliza a beleza e a sedução; o segundo, é um reflexo da nossa época, onde os gatos personificam valores como independência, personalidade e naturalidade; o terceiro, é associado ao estilo de vida adotado por pessoas que passam a maior parte do dia fora de casa e as que moram em apartamentos e consideram que o gato em função de suas características naturais, como

tamanho pequeno, autonomia e limpeza, seja um companheiro ideal (Pierson et al., 1996).

Com a fácil adaptação dos gatos ao estilo de vida livre no meio urbano é comum observar grande população de felinos soltos na cidade vivendo da caça e restos de alimentos, possuindo grande potencial para manter e disseminar doenças como protozooses, ectoparasitoses e helmintoses, entre elas algumas zoonoses (Urquhart et al., 1990; Pennisi et al., 1994).

Dentre os helmintos com potencial zoonótico, destacam-se os do gênero *Ancylostoma* e *Toxocara*, parasitos de cães e gatos, e, possivelmente a espécie *Angiostrongylus vasorum*. Este último, além de sua importância médico-veterinária, como parasito cardíaco-pulmonar de cães domésticos e canídeos silvestres, requer atenção especial e investigação, uma vez que pode infectar o homem (Eckert & Lämmler, 1972; Vetcity, 2002<sup>1</sup>).

O ciclo biológico do *A. vasorum* inclui várias espécies de moluscos como hospedeiros intermediários (HI) e hospedeiros paratênicos (HP), tais como a rã e roedores, capazes de transmitir a infecção para seus hospedeiros definitivos (HD) (Bolt et al., 1993; Dias et al., 2004)

Neste contexto, o gato, apesar de ser um animal cada dia mais próximo do homem, não foge ao instinto da caça de pequenos animais, que podem ser transmissores do *A. vasorum*, um possível agente de zoonose. Aliando estes fatores ao fato de que a suscetibilidade natural de gatos domésticos à infecção por *A. vasorum* ainda ser uma incógnita devido à escassez de relatos na literatura, este estudo propõe avaliar gatos experimentalmente inoculados com o parasito, através de exames parasitológicos, clínicos, patológicos e laboratoriais.

---

1 - <[http://www.vet-city.com/v2/ft/php/Maladies.php3?anim=2.osis/charper\\_frm.asp](http://www.vet-city.com/v2/ft/php/Maladies.php3?anim=2.osis/charper_frm.asp)>

## *II – REVISÃO DE LITERATURA*



*Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) Kamensky, 1905, é um helminto que parasita o coração e a artéria pulmonar e suas ramificações de cães domésticos (*Canis familiaris*) e canídeos silvestres como: cachorro do mato (*Cerdocyon thous azarae*) (Travassos, 1927; Lima, 1985; Bessa et al., 2004), raposa do Saara (*Fennecus zerda*), raposa americana (*Vulpes vulpes*) (Rosen et al., 1970; Eckert & Lammler, 1972) e raposa do campo (*Dusicyon vetulus*) (Lima et al., 1994). *A. vasorum* também já foi observado parasitando mustelídeos (*Tayra barbara senex*) no México (Yamaguti, 1961). Experimentalmente, foi comprovada a permissividade do chacal dourado (*Canis aureus*), do rato do Nilo (*Arvicanthis niloticus*) e do gato doméstico (*Felis catus*) (Eckert & Lammler, 1972; Guilhon & Cens, 1970) e do cão (Costa, 1992; Cury, 1999; Barçante, 2004).

Vários estudos taxonômicos e descrições baseadas na ocorrência do parasito foram realizados em diferentes partes do mundo, fazendo com que a espécie, atualmente aceita como *Angiostrongylus vasorum*, seja conhecida por suas diferentes sinonímias: *Strongylus vasorum*; *Entomozoa filaria cardiaca*; *Haemonchus vasorum*; *Haemostrongylus vasorum*; *Haemostrongylus railliet*; *Angiocaulus railliet*; *Angiostrongylus railliet*.

Costa et al. (2003) realizaram uma revisão sobre o parasito e o classificaram como:

Classe Nematoda

Ordem Strongylidae

Superfamília Metastrongyloidea

Família Protostrongylidae

Subfamília Angiostrongylinae

Gênero: *Angiostrongylus*

Espécie: *Angiostrongylus vasorum*

## II. 1. MORFOLOGIA E BIOLOGIA

A espécie é caracterizada por apresentar um corpo delgado e alongado, ligeiramente atenuado nas extremidades, coloração esbranquiçada ou rósea quando recém-colhidos. A cutícula é fina e transparente, deixando perceber o aspecto helicoidal dos órgãos genitais em torno do tubo digestivo, contrastando sua coloração esbranquiçada com a tonalidade rósea ou acinzentada do intestino. Os machos medem em média 13 milímetros (mm) de comprimento por 0,24mm de largura e apresentam a extremidade posterior levemente recurvada ventralmente. Bolsa copuladora presente e raios bursais evidentes. As fêmeas são maiores e mais robustas, medem em média 15,5mm de comprimento e 0,26mm de largura (Lima et. al., 1985; Costa, 1992).

O ciclo biológico deste helminto é do tipo heteroxeno, onde diversas espécies de moluscos aquáticos e terrestres atuam como hospedeiros intermediários (Rosen et al., 1970). O cão atua como hospedeiro definitivo infectando-se ao ingerir larvas de terceiro estágio (L<sub>3</sub>) livres, o molusco infectado ou o hospedeiro paratênico, como a rã e roedores (Bolt et al., 1993; Dias et al., 2004). Estas larvas infectantes penetram na parede do trato digestivo, migram até os linfonodos mesentéricos, onde ocorre a muda de L<sub>3</sub> para larva de quarto estágio (L<sub>4</sub>), por volta do terceiro dia de infecção e a muda de L<sub>4</sub> para larva de quinto estágio (L<sub>5</sub>), em torno do quinto dia de infecção. As L<sub>5</sub> alcançam a corrente sanguínea e, aproximadamente, no décimo dia de infecção, podem ser encontradas no ventrículo direito e nas artérias pulmonares. Os helmintos atingem a maturidade sexual nas artérias pulmonares, onde ocorre a cópula e início da postura de ovos não embrionados, de forma intermitente. Nas arteríolas pulmonares ocorre o embrionamento dos ovos e formação das larvas de primeiro estágio (L<sub>1</sub>) que eclodem, passam ativamente para os alvéolos, bronquíolos e brônquios, podendo ser expelidas junto a secreções pulmonares ou então serem deglutidas e eliminadas junto com as fezes a partir do 30º dia de infecção (Guilhon & Cens, 1973; Bwangamoi, 1974; Patteson et al., 1993; Mahaffey et al., 1981). As L<sub>1</sub> eliminadas contaminam o ambiente pela

permanência no bolo fecal, ou ainda quando atingem coleções de água. Moluscos terrestres ou aquáticos infectam-se via trato digestivo, ou pela penetração das L<sub>1</sub>, através da parede corporal (Thiengo, 1996). Na musculatura do molusco, a larva sofre duas mudas e passa a larva infectante (L<sub>3</sub>) (Guilhon & Cens, 1973).

## **II. 2. DISTRIBUIÇÃO**

A primeira ocorrência do parasito foi relatada quando Serres (1854) observou alguns nematóides no sistema circulatório de um cão, que morreu subitamente na Escola de Veterinária de Toulouse (França).

Atualmente, o *A. vasorum* é considerado um parasito de ampla distribuição geográfica. As regiões do Mediterrâneo (Poli et al., 1984), oeste da Alemanha (Pallaske, 1967), sudoeste da França (Guilhon & Cens, 1973), Irlanda (Dodd, 1973, Jacobs & Prole, 1975; Martin et al., 1991) e sudoeste da Inglaterra (Jones et al., 1980) são consideradas as principais áreas endêmicas deste nematóide. Casos esporádicos foram observados em diversas partes do mundo. Existem relatos da presença deste helminto parasitando cães e/ou canídeos silvestres na Austrália (Roberts, 1940); África (Bwangamoi, 1972); Estados Unidos e Canadá (Williams & Lindermann, 1985; Perry et al., 1991), além do Brasil (Travassos, 1927; Gonçalves, 1961; Langenegger et al., 1962; Fehringer, 1977; Giovanonni et al., 1985; Lima et al., 1985; Bessa et al., 2004).

### **II. 2.1. *Angiostrongylus vasorum* NO BRASIL**

O primeiro relato do parasitismo por *A. vasorum* no Brasil foi feito por Travassos (1927), descrevendo-o como *H. railliet* recuperados do ventrículo direito e artérias pulmonares de cachorros do mato (*Cerdocyon thous azarae*), provenientes do município do Rio de Janeiro.

Gonçalves (1961) relatou pela primeira vez a ocorrência de *A. vasorum* infectando cães domésticos (*Canis familiaris*) provenientes do Rio Grande do Sul. A partir destes estudos, foram relatados vários casos de infecções naturais em canídeos de outras regiões do país.

Langenegger et al. (1962) registraram a ocorrência do parasito em dois cães naturalmente infectados, provenientes do município do Rio de Janeiro.

Fehringer (1977) cita a ocorrência de dois casos de *A. vasorum* em cães domésticos no município de Salvador-BA.

Lima et al. (1985) recuperaram L<sub>1</sub> das fezes e espécimes adultos de *A. vasorum* das artérias pulmonares de dois cães procedentes do município de Caratinga, em Minas Gerais.

Giovannoni et al. (1985) relataram a ocorrência de *A. vasorum* em um cão adulto, procedente do interior do Estado do Paraná, atendido e necropsiado pelo Serviço de Clínica Médica do Hospital da Escola de Agronomia e Veterinária da Universidade Federal do Paraná.

Lima et al. (1994) demonstrou a importância da raposa (*Dusicyon vetulus*) na manutenção da infecção em cães domésticos, quando encontraram L<sub>1</sub> de *A. vasorum* nas fezes de raposas do campo.

Horta-Duarte et al. (2004) encontraram parasitos adultos de *A. vasorum* no pulmão de um cachorro do mato, morto acidentalmente na Zona da Mata de Minas Gerais.

### **II. 3. PATOGENIA E QUADRO CLÍNICO**

Um fator determinante da patogenia da angiostrongilose canina está relacionado com a localização do parasito. Em cães, a presença de parasitos adultos, larvas e massas de ovos nas artérias de pequeno e médio calibre do coração e pulmões podem determinar pontos de inflamação focal, formação de granulomas (Eckert & Lammler, 1972; Mahaffey et al., 1981; Costa & Tafuri, 1997; Gould & McLnnes, 1999) e até mesmo alterar os mecanismos de coagulação, podendo levar a um quadro de coagulação intravascular disseminada (Schelling et al., 1986).

No coração de cães infectados, freqüentemente observa-se a presença de paredes flácidas, globosas e áreas de congestão. Aumento ventricular direito, hipertrofia ventricular esquerda, miocardite crônica e áreas enfartadas foram relatadas, variando de acordo com o estágio da doença (Darraspen et al., 1953; Acedo et al., 1979; Costa, 1992). As localizações erráticas constituem um fato importante na patogenia da infecção

pelo *A. vasorum*, pois as larvas podem morrer e produzir lesões extensas e graves a ponto de subverter a arquitetura do órgão no qual estão localizadas (Costa & Tafuri, 1997).

Apesar das profundas alterações produzidas no cão em decorrência do parasitismo por *A. vasorum*, estas não são patognomônicas e podem ser confundidas com outras patologias. Dentre as manifestações clínicas mais comuns pode-se citar: perda de peso, petéquias cutâneas, anemia (Patteson et al., 1993), tosse seca persistente, mucosas pálidas (Jones et al., 1980), alterações de postura, dispnéia, arritmias (Cury & Lima, 1996), intolerância a exercícios (Ramsey et al. 1996), broncopneumonia hemorrágica (Costa & Tafuri, 1997) e congestão pulmonar (Mahaffey et al., 1981). Apesar da doença estar associada a esses sinais bastante polimórficos, foram observados casos de animais assintomáticos, o que sugere que a distribuição desta parasitose possa ser bem maior que o relatado na literatura (Ramsey et al. 1996). Sinais clínicos como depressão, perda da visão, assim como outras sintomatologias nervosas e oculares (Perry et al., 1991) e renal (Cury & Lima, 1996) associadas à infecção por *A. vasorum* já foram observados.

Em relação à infecção de gatos por *A. vasorum*, há na literatura apenas um trabalho de Guilhon & Cens (1970) que, relataram quadros clínicos de polipnéia e tosse em gatos experimentalmente infectados,. Dos seis animais inoculados, quatro foram sacrificados entre 33 e 72 dias após a inoculação das L<sub>3</sub>. Do total de L<sub>3</sub> inoculadas, foram recuperados cerca de 6,6% de vermes adultos vivos, em um total de 123 machos e 247 fêmeas. Destas, 204 eram ovígeras e 43 não ovígeras. Lesões discretas no pulmão foram associadas à presença de vermes adultos, uma vez que não foram encontrados ovos e larvas no parênquima pulmonar. Os autores relataram que em um gato, sacrificado 41 dias após a infecção, não foram encontrados parasitos, sugerindo que os vermes adultos foram mortos durante a resposta à infecção. Os autores não observaram, em nenhum gato a eliminação de L<sub>1</sub> nas fezes.

#### **II. 4. DIAGNÓSTICO**

A única fase de vida livre do parasito, L<sub>1</sub>, ganha o meio externo através das fezes. Assim, o diagnóstico de certeza da infecção em cães é dado pela detecção destas larvas através do exame de Baermann Moraes.

O diagnóstico *post mortem* é realizado através da necropsia, onde parasitos adultos podem ser observados, principalmente no ventrículo direito, na artéria pulmonar e suas ramificações. Ovos e larvas podem ser encontrados na sedimentação de material proveniente dos pulmões de cães infectados.

Alguns trabalhos foram realizados aprimorando as técnicas e metodologias de imunodiagnóstico da angiostrongilose canina. Costa et al., (1996) e Cury et al., (1996) utilizaram o teste de ELISA com antígenos solúveis de vermes adultos e encontraram baixa taxa de especificidade. Barçante (2004) encontrou, no teste de ELISA, baixa taxa de reatividade cruzada de *A. vasorum* com outros helmintos ao estudar a resposta imunológica de cães frente a extratos brutos de L<sub>1</sub> e verme adulto.

## **II. 5. ASPECTOS IMUNOLÓGICOS**

Ainda não foi bem esclarecido o papel das células de defesa no contexto da angiostrongilose canina. Os resultados obtidos até o presente não são conclusivos e, muitas vezes, contraditórios. Cury (1995; 1999) não observou aumento significativo no número leucócitos totais em cães experimentalmente infectados com *A. vasorum*, resultados que não corroboram com Bwangamoi (1972), Koch & Jensen (1992), que observaram leucocitose significativa associada com a angiostrongilose.

Mishra & Cens (1971) estudaram as variações eosinofílicas de dez cães infectados. Os autores observaram que após 24 horas (hs) de infecção, ocorria um ligeiro aumento no número de eosinófilos, que se repetia entre o 4º e o 8º dias após a infecção (DAI), entre os 14º e 18º DAI e entre os 32º e 34º DAI. Correlacionando estes achados com a biologia do ciclo no hospedeiro vertebrado, os autores observaram que estes picos correspondiam à passagem do parasito pelos linfonodos mesentéricos, muda para L<sub>4</sub> e maturidade sexual, respectivamente. Rosen et al. (1970), Bwangamoi (1974), Perry et al. (1991), Mingaud et al. (1992) e Bourdeaux (1993), da mesma forma, citam a eosinofilia como importante alteração celular em animais com angiostrongilose. Todavia, Martin et al. (1991) e Cury (1995) consideram que o aumento de eosinófilos não é uma alteração significativa, enquanto Prestwood et al. (1981) não detectaram eosinofilia em cães experimentalmente infectados.

Kock & Jensen (1992) e Mingaud et al. (1992) relataram que cães infectados com *A.*

*vasorum* apresentam monocitose, entretanto, Patteson et al. (1993) e Cury (1995) não encontraram nenhuma alteração nos monócitos de cães experimentalmente infectados.

Cury (1999), estudando cães experimentalmente infectados com *A. vasorum*, observou que não há diferença significativa no número absoluto de linfócitos nos animais experimentalmente infectados.

Barçante (2004), relatou que cães infectados com *A. vasorum* apresentam aumento da celularidade pulmonar, principalmente eosinófilos, na fase aguda da infecção, com uma tendência a reestabelecimento de um padrão citológico normal, durante a fase crônica da angiostrongilose. No sangue periférico, a autora mostra que a resposta celular se caracteriza por um aumento no número de leucócitos, sobretudo eosinófilos.

## **II. 5.1. IMUNOSSUPRESSÃO**

Os glicocorticóides afetam a distribuição, proliferação, diferenciação e função de importantes células ligadas a resposta imune, como, por exemplo, neutrófilos, monócitos e linfócitos (Paliogianni et al., 1993).

Até o momento não existem descrições na literatura de casos de animais imunossuprimidos infectados com *Angiostrongylus*. No entanto, a administração de anti-inflamatórios na medicina veterinária e especialmente na clínica de felinos é muito utilizada. Existem inúmeros relatos do uso de glicocorticóides no tratamento do complexo eosinofílico da pele e outras doenças dermatológicas de natureza auto-imune (Hoffmann-Jagielska et al., 2003; Miller, 1997).

Cohn (1997) e Plumb (2002) comentam em seus trabalhos sobre a resistência de gatos aos efeitos dos corticóides. Isto se explicaria pelo fato de os gatos apresentarem uma concentração menor de receptores para glicocorticóides (cerca de 50% menos que os cães) (Spinosa et al., 2002). Visto isso, estes autores colocam a necessidade da aplicação de superdosagens da droga imunossupressora para um efeito clínico, o que, no entanto, acarretaria maior número de efeitos colaterais, tais como formação de úlceras gástricas e desenvolvimento de infecções oportunistas.

O acetato de metilprednisolona é um agente anti-inflamatório, da classe dos glicorticóides, cuja atividade é de quatro a cinco vezes mais potente do que a da cortisona, corticóide naturalmente produzido pelos animais (Plumb, 2002).

Hoffmann-Jagielska et al. (2003) estudaram os efeitos da dexametasona sobre o sistema imune de gatos. Os autores verificaram que animais tratados diariamente com 0,4mg/Kg de dexametasona apresentaram aumento significativo no número de leucócitos periféricos, principalmente neutrófilos e monócitos, e nenhuma alteração significativa sobre o número de hemácias.

### *III – OBJETIVOS*



### III. 1. OBJETIVO GERAL

Avaliar a suscetibilidade do gato doméstico (*Felis catus*) à infecção por *Angiostrongylus vasorum*, observando aspectos parasitológicos, clínicos e laboratoriais.

### III. 2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ⊕ Avaliar a suscetibilidade de gatos experimentalmente inoculados com larvas de terceiro estágio de *A. vasorum*;
- ⊕ Acompanhar a evolução clínica de gatos experimentalmente inoculados com *A. vasorum*;
- ⊕ Observar a cinética de eliminação larvária em gatos no curso da infecção por *A. vasorum*;
- ⊕ Acompanhar os animais através das contagens de hemácias e aferição do hematócrito antes, durante e após a inoculação com *A. vasorum*;
- ⊕ Acompanhar os animais através das contagens de leucócitos antes, durante e depois da inoculação com *A. vasorum*;
- ⊕ Avaliar a infecção por *A. vasorum* em gatos com imunossupressão induzida;
- ⊕ Avaliar a recuperação de parasitos adultos nos animais inoculados;
- ⊕ Realizar a morfometria dos parasitos recuperados em gatos, comparando com os parasitos encontrados em cães;
- ⊕ Avaliar os aspectos patológicos macroscópicos e microscópicos, através das análises de cortes histológicos, da infecção por *A. vasorum* nos gatos.

## *IV – METODOLOGIA*



#### **IV. 1. FONTES DE LARVAS DE PRIMEIRO ESTÁDIO (L<sub>1</sub>)**

A cepa de *Angiostrongylus vasorum* utilizada foi originalmente isolada das fezes de cães naturalmente infectados, procedentes do Município de Caratinga - MG (Lima et al., 1985) e vêm sendo mantida, através de passagens sucessivas em cães, criados no Biotério de Cães do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais (ICB - UFMG), e em moluscos da espécie *Biomphalaria glabrata* do moluscário do Departamento de Parasitologia (ICB - UFMG).

Para recuperação das L<sub>1</sub>, amostras de fezes de cães infectados foram submetidas ao aparelho de Baermann modificado, composto de um funil de vidro com 15 centímetros (cm) de diâmetro conectado a um tubo de hemólise, através de um tubo de látex. Em função do hidro/termo – tropismo positivo das larvas, foi utilizada água a 41°C. Após permanecer por 24hs no aparelho de Baermann, o tubo de hemólise foi retirado e o sobrenadante desprezado. Para obtenção de larvas limpas, o sedimento contendo as larvas foi ressuscitado em 10 mililitros (ml) de solução salina tamponada (PBS – “phosphate buffer saline”, pH 7,4) e submetido a centrifugação (200 g - 5 min – 18°C). Este procedimento de lavagem foi repetido três vezes. Na última lavagem, o tubo foi homogeneizado e deste foram retiradas três alíquotas de 10 microlitros (µl), que foram contadas com auxílio de microscópio estereoscópio (25X) (Barçante et al., 2003).

#### **IV. 2. INFECCÃO DE MOLUSCOS**

Moluscos da espécie *Biomphalaria glabrata*, cedidos pelo Laboratório de Esquistossomose (ICB-UFMG) foram utilizados como hospedeiros intermediários na manutenção da cepa do parasito.

As infecções foram realizadas em placas de cultura de seis poços, com 3ml de água desclorada, nos quais foram colocados um caramujo/poço, com medida de concha

variando entre 12 e 18 mm. Em cada poço, junto com os caramujos, foram colocadas cerca de 1000L<sub>1</sub>. A placa foi colocada sob foco de luz com lâmpada de 60 Watts (W) a uma distância de 30cm, durante 24hs. Após este período, os moluscos foram transferidos para uma cuba plástica, medindo 25cm de comprimento, 16cm de largura e 10cm de altura, preenchida com 1000ml de água desclorada. As cubas foram mantidas à temperatura ambiente, no moluscário do Departamento de Parasitologia do ICB-UFMG. Os animais foram alimentados, a cada três dias, com alface fresca e a higienização das cubas foi realizada semanalmente.

#### **IV. 3. RECUPERAÇÃO DE LARVAS DE TERCEIRO ESTÁDIO (L<sub>3</sub>)**

Para recuperação das L<sub>3</sub>, os moluscos com 21 dias de infecção, foram macerados em grau com pistilo de porcelana, enrolados em gaze cirúrgica e submetidos ao aparelho de Baermann modificado, seguindo a mesma metodologia utilizada para obtenção de L<sub>1</sub>.

#### **IV. 4. ANIMAIS**

Foram utilizados 35 gatos (*Felis catus*), sem raça definida (SRD), doados por criadores da região metropolitana de Belo Horizonte.

Todos os animais foram submetidos a exames de fezes pelo método de sedimentação (Método de Hoffmann, Pons & Janer) (Ferreira Neto et al., 1982) para pesquisa de parasitos. Para pesquisa de larvas de helmintos pulmonares, amostras de fezes foram pesadas e submetidas ao exame de Baermann modificado (Barçante et al., 2003). Foram encontrados animais positivos para *Isospora* sp., *Ancylostoma* sp. e *Toxocara* sp. Independente do resultado do exame de fezes, todos os animais foram vermifugados com 50 miligramas por quilo de peso vivo (mg/kg p.v.) de febendazole (Panacur<sup>®</sup> - Intervet/Holanda) via oral por dia, durante três dias. Para o controle da infecção por *Isospora* sp., foi administrado em todos os animais doses de 0,3ml/Kg p.v. de sulfametazina 33,3% (Rodissulfa Injetável<sup>®</sup> - Merial/Brasil) via intramuscular por cinco dias consecutivos.

Os mesmos exames de fezes foram realizados por quatro vezes, após a vermifugação, em intervalos de sete dias, para certificar a inexistência de infecções parasitárias persistentes.

Dos 35 animais, foram selecionados 18, dez machos e oito fêmeas. Os animais foram mantidos em gaiolas individuais do Biotério de Criação do Departamento de Parasitologia do ICB – UFMG.

Os animais foram vacinados com duas doses de vacina contra a rinotraqueíte, calicivírus e panleucopenia felina, com intervalo de trinta dias entre a primeira e segunda doses (Nobivac® Tricat - Intervet/Holanda).

#### **IV. 4. 1. GRUPOS**

Os dezoito animais foram divididos em quatro grupos (A, B, C e D) de acordo com peso e idade e receberam os seguintes tratamentos:

**Grupo A:** Seis animais foram inoculados individualmente com 50 L<sub>3</sub> de *A. vasorum*/kg p.v., submetidos ao protocolo de imunossupressão descrito a seguir e acompanhados clinicamente a cada quinze dias e sacrificados aos sessenta dias após a inoculação (DAI)

**Grupo B:** Cinco animais foram inoculados individualmente com 50 L<sub>3</sub> de *A. vasorum*/kg p.v., acompanhados clinicamente a cada quinze dias e sacrificados aos sessenta dias após a inoculação (DAI)

**Grupo C:** Quatro animais foram inoculados individualmente com 50 L<sub>3</sub> de *A. vasorum*/kg p.v., sem acompanhamento clínico e sacrificados um a um a cada quinze dias após a inoculação.

**Grupo D:** Três animais foram inoculados individualmente com macerado de dois caramujos *B. glabrata*, livres de infecção.

#### **IV. 4. 2. IMUNOSSUPRESSÃO**

Para induzir o quadro de imunossupressão, os animais do grupo A foram submetidos a um protocolo de imunossupressão com acetato de metilprednisolona (Corti-dural 20®, König, Argentina), de acordo com Chandler & Hilbery (1988) e Plumb (2002), na dosagem de 4 mg/Kg diariamente, dividido em duas doses, aplicadas a cada 12hs, por via intramuscular (IM), durante sete dias. No oitavo dia, os animais foram submetidos ao protocolo anestésico e aos procedimentos de inoculação de larvas infectantes de *A.*

*vasorum* descritos a seguir.

A imunossupressão foi mantida durante todo o experimento. Nos primeiros trinta dias de inoculação, os animais receberam 2 mg/Kg de acetato de metilprednisolona, aplicados ao final da tarde, a cada 48hs. A partir do 30º dia de infecção, a dose da droga foi reduzida para 1mg/Kg, aplicados ao final da tarde, a cada 48hs.

#### **IV. 4. 3. INOCULAÇÃO DOS ANIMAIS**

Os animais dos grupos A, B, C e D foram submetidos a jejum sólido de 12hs. Após este período, foram medicados com acepromazina (1mg/kg p.v.) combinada ao cloridrato de quetamina (5mg/kg p.v.) via IM. Após estarem devidamente anestesiados, foi introduzida, por via oral, uma sonda gástrica através da qual foram inoculadas, nos grupos A, B e C 50 L<sub>3</sub>/kg p.v. ressuspendidas em 3 ml de PBS, diretamente no estômago do animal (Ribeiro, 2001). Cada animal do grupo D recebeu, utilizando o mesmo protocolo, uma suspensão de macerado de dois caramujos *B. glabrata* não infectados (**Quadro 01**). Após a inoculação, todos os gatos (grupos A, B, C e D) ficaram sob observação por um período de duas horas após o retorno anestésico para certificar que não ocorreu emese.

**QUADRO 1** – Caracterização dos grupos experimentais de gatos inoculados com *Angiostrongylus vasorum* e gatos controle quanto ao número e peso de cada animal.

GRUPO	ANIMAL Nº	PESO (Kg)	INÓCULO
<b>A</b>	11	1,150	55 L <sub>3</sub>
	12	0,800	40 L <sub>3</sub>
	13	1,025	50 L <sub>3</sub>
	14	0,950	50 L <sub>3</sub>
	15	0,925	50 L <sub>3</sub>
	18	1,550	75 L <sub>3</sub>
<b>B</b>	10	0,950	50 L <sub>3</sub>
	17	1,475	75 L <sub>3</sub>
	19	1,050	50 L <sub>3</sub>
	21	1,300	65 L <sub>3</sub>
	22	1,475	75 L <sub>3</sub>
<b>C</b>	06	1,000	50 L <sub>3</sub>
	07	0,900	50 L <sub>3</sub>
	08	0,950	50 L <sub>3</sub>
	09	1,050	50 L <sub>3</sub>
<b>D</b>	20	1,350	Macerado de dois <i>B. glabrata</i>
	23	3,100	Macerado de dois <i>B. glabrata</i>
	24	2,050	Macerado de dois <i>B. glabrata</i>

Grupo A – seis animais experimentalmente inoculados com 50 L<sub>3</sub> de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo e imunossuprimidos

Grupo B – cinco animais experimentalmente inoculados com 50 L<sub>3</sub> de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo

Grupo C – quatro animais experimentalmente inoculados com 50 L<sub>3</sub> de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo

Grupo D – três animais livres de inoculação

#### **IV. 4. 4. EXAMES COPRO-PARASITOLÓGICOS**

Para pesquisar a eliminação de L<sub>3</sub> inoculadas, as fezes da gaiola de cada animal foram recolhidas durante três dias após o inóculo. Estas foram coletadas em saco plástico identificado, acondicionados em caixa de isopor e transportadas para o Laboratório de Helminologia Veterinária do Departamento de Parasitologia do ICB/UFMG onde foram submetidas ao aparelho de Baermann modificado (Barçante et al., 2003).

A partir do +21DAI, as fezes dos animais dos grupos A e B foram diariamente recolhidas individualmente e colocadas em sacos plásticos identificados, acondicionados em caixa de isopor e transportados para o Laboratório de Helminologia Veterinária do Departamento de Parasitologia do ICB/UFMG. As amostras foram pesadas e submetidas individualmente ao exame de Baermann, para pesquisa de L<sub>1</sub>.

#### **IV. 4. 5. EXAMES CLÍNICOS**

Exames clínicos foram realizados sete dias antes da inoculação (-7 DAI) e nos dias 0, +15, +30, +45 e +60 DAI, nos gatos dos grupos A, B e D, a fim de se avaliar o estado geral dos animais e possíveis alterações durante o curso do experimento. Os seguintes parâmetros foram avaliados: pele e pelagem, coloração das mucosas, frequência cardíaca, frequência pulso-femural, frequência respiratória, temperatura, condição física e peso.

Os animais foram avaliados diariamente quanto ao aspecto geral e quanto a presença/ausência de outras manifestações clínicas, tais como tosse, espirro, secreção ocular e nasal.

##### **IV. 4. 5. 1. COLETA DE SANGUE**

Para coleta de sangue, os animais dos grupos A, B e D foram submetidos ao protocolo anestésico descrito anteriormente (item IV. 4. 3.). As coletas foram realizadas, aos -7, 0, +15, +30, +45 e +60 DAI, através da punção da veia jugular, utilizando seringas descartáveis com anticoagulante (EDTA). Foram coletados 3ml de sangue de cada animal dos grupos A, B e D para realização do hemograma.

##### **IV. 4. 6. INGESTÃO DE ALIMENTO**

Foi oferecido aos animais dos grupos A, B e D cem gramas (g) de ração comercial

diariamente. A quantidade de ração ingerida por cada gato foi pesada todos os dias pela manhã. Aos animais do grupo C a ração foi mantida a vontade. Água fresca foi mantida a vontade para todos os animais.

## **IV.5. RESPOSTA CELULAR**

### **IV. 5. 1. HEMOGRAMA**

Para avaliação do quadro hematológico, o sangue coletado dos animais dos grupos A, B e D foi submetido a hemograma completo de acordo com Carvalho (2002). O eritrograma, foi determinado pelo número de hemácias/milímetro cúbico ( $\text{mm}^3$ ) de sangue, através de contagem em câmara de Neubauer, e volume globular médio, usando a técnica de microhematócrito. O leucograma, foi determinado pelo número global de leucócitos/ $\text{mm}^3$  através de contagem em câmara de Neubauer e a contagem diferencial destes em esfregaços corados pela técnica de May-Grunwald-Giemsa.

## **IV. 6. ASPECTOS PATOLÓGICOS**

Com o objetivo de otimização metodológica dos procedimentos realizados durante a necropsia, além de coração e pulmões, fígado, baço, pâncreas, intestinos, rins, adrenais, bexiga, pele e musculatura foram examinados em busca de possíveis alterações decorrentes da inoculação, da migração larvária e verificação da presença de larvas e adultos em localizações ectópicas e, nos animais imunossuprimidos, alterações decorrentes do uso da droga.

Os animais do grupo A e B foram sacrificados aos 60 DAI e os animais do grupo C a cada quinze dias (+15, +30, +45 e +60) de acordo com as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Minas Gerais (CETEA/UFMG) após sedação e anestesia (de acordo com item IV.4), seguido da administração via endovenosa de 5ml de solução de cloreto de potássio 20% (Oliveira-Jr. et al., 2003).

Após a morte, o animal foi colocado em decúbito dorsal e realizou-se a necropsia, com a abertura através uma incisão longitudinal a partir da região mentoniana, continuando pela região torácica, com desarticulação das junções esterno-costais e abertura da caixa

torácica. O conjunto cárdio-respiratório foi retirado e transferido para uma bandeja contendo PBS, e os órgãos examinados separadamente.

A recuperação de parasitos adultos no coração foi realizada a partir da abertura das câmaras cardíacas. Os pulmões foram separados, submersos em PBS e dissecados com auxílio de uma tesoura de ponta fina, a partir do tronco principal da artéria pulmonar, continuando até os vasos pulmonares de menor calibre.

Fígado, baço, pâncreas, intestinos, rins, adrenais, bexiga, pele e musculatura esquelética foram avaliados macroscopicamente quanto ao aspecto, tamanho e coloração. Estes órgãos foram retirados, seccionados em fragmentos com cerca de 2cm e submetidos ao aparelho de Baermann por 12hs, para pesquisa das formas evolutivas do parasito.

#### **IV. 6. 1. HISTOPATOLOGIA**

Para avaliar as alterações provocadas pelos estádios evolutivos de *A. vasorum*, dos pulmões e coração foram retirados fragmentos de aproximadamente 1cm<sup>2</sup>, especialmente das áreas que apresentaram alguma lesão macroscópica aparente. Este material foi fixado em solução formalina tamponada 10%, permanecendo nesta até o emblocamento em parafina. Os blocos de parafina foram cortados na espessura de 4µm em micrótomo e corados em hematoxilina-eosina (HE) para avaliação em microscópio óptico (Martins, 2004).

#### **IV. 7. CARACTERIZAÇÃO E MORFOMETRIA DOS PARASITOS ADULTOS**

Os estádios evolutivos de *A. vasorum* recuperados nas necropsias dos animais dos grupos A, B e C foram fixados em solução Henry-Railliet aquecida a 70°C, para realização da morfometria e caracterização dos parasitos em microscópio óptico.

Todos os procedimentos técnicos e metodológicos, necessários ao manuseio dos animais, como medicação, coleta de sangue, exames clínico, anestesia e eutanásia, foram aprovados pelo CETEA/UFGM e realizados com a colaboração de médicos veterinários.

#### **IV. 8. ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Foram utilizados os pacotes estatísticos R e MINITAB para realizar a estimativa dos parâmetros dos modelos ajustados neste trabalho, com nível de significância de 95%.

*V – RESULTADOS*



### **V. 1. INOCULAÇÃO**

Nos animais dos grupos A, B e C inoculados com L<sub>3</sub> e nos animais do grupo D que receberam uma solução de macerado de caramujos não infectados não foram observadas alterações como contrações abdominais e vômitos, até 2hs após o retorno anestésico.

### **V. 2. AVALIAÇÃO PARASITOLÓGICA**

Não foram observadas L<sub>3</sub> nas fezes dos animais até três dias após a inoculação.

Não foi observada eliminação de L<sub>1</sub> nas fezes em nenhum animal inoculado nos exames realizados diariamente entre os 21° e 60° dia após inoculação.

### **V. 3. PARÂMETROS CLÍNICOS**

Durante o período de ambientação e o período experimental observou-se alteração no comportamento dos animais, que anteriormente era arredo e gradativamente foi se tornando mais dócil, facilitando o manejo diário, principalmente dos animais do grupo A (imunossuprimidos).

As alterações clínicas observadas nos animais dos grupos A, B e D durante o período experimental encontram-se na **Tabela 1**.

Foram observados quadros de apatia entre os dias +15 e +45 nos animais imunossuprimidos (grupo A). Estes animais apresentaram-se mais quietos que os outros animais.

Além disso, todos os animais do grupo A apresentaram ao longo do experimento uma flacidez da pele acentuada com fragilidade tissular da derme.

Foram observados, em alguns animais dos grupos A e B, quadros de descompensação respiratória e dificuldade no movimento inspiratório (**Tabela 1**).

**TABELA 1** – Aspectos clínicos dos animais experimentalmente inoculados (grupos A e B) com 50 larvas de terceiro estágio de *Angiostrongylus vasorum* / quilograma de peso vivo e controle (grupo D), durante os 60 dias de observação.

Sinal clínico	Grupo	Número de animais					
		Dias após a inoculação					
		-7	0	+15	+30	+45	+60
Mucosas pálidas	A	-	4*	3	2	3	-
	B	-	1	-	1	-	-
	D	-	-	2	-	1	-
Desidratação	A	-	-	-	3	3	-
	B	-	-	-	-	-	-
	D	-	-	1	-	1	-
Queda de pêlo	A	-	1	-	1	-	-
	B	1	-	-	-	1	4
	D	-	2	1	1	1	2
Dispnéia	A	-	-	-	3	3	-
	B	-	-	-	2	2	2
	D	-	-	-	-	-	1
Apatia	A	-	-	2	1	2	-
	B	-	-	-	-	-	-
	D	-	-	-	-	-	-
Seborréia	A	3	4	4	4	4	-
	B	-	1	2	2	3	2
	D	2	-	-	2	1	1
Reflexo de tosse aumentado	A	-	-	-	2	1	-
	B	-	-	-	1	-	2
	D	-	-	-	-	-	1

Grupo A – seis animais experimentalmente inoculados com 50 L<sub>3</sub> de *A. vasorum* / quilogramagrama de peso vivo

Grupo B – cinco animais experimentalmente inoculados com 50 L<sub>3</sub> de *A. vasorum* / quilogramagrama de peso vivo

Grupo D – três animais livres de inoculação

\*Total de animais com o sinal clínico

### **V. 3. 1. GANHO DE PESO**

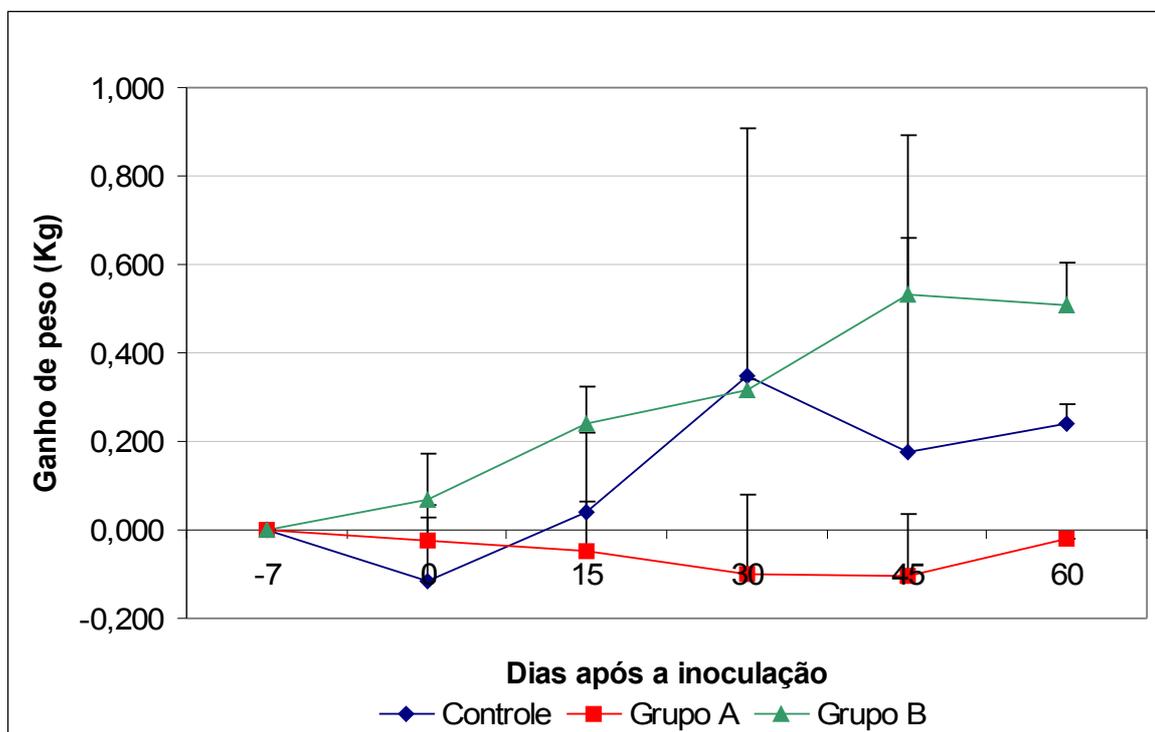
O **Gráfico 1** apresenta as variações de ganho de peso dos gatos inoculados com *A. vasorum* (grupos A e B) e controle (grupo D). A variação média de peso em cada ponto corresponde à diferença entre o peso do animal no dia do procedimento e àquele aferido no exame anterior.

Foram observadas diferenças estatísticas ( $p < 0,05$ ) entre os grupos A e B ao longo do período de experimento, sendo que o grupo B apresentou, ao longo do tempo, tendência a maior ganho de peso.

Os animais do grupo A apresentaram perda de peso durante todo o período experimental, com ligeira recuperação entre os +45 e +60 DAI.

Já os animais do grupo B apresentaram ganho de peso durante todo o período experimental, com discreta queda entre os +45 e +60 DAI.

Os animais do grupo controle apresentaram queda de peso no dia 0, em relação aos -7 DAI, com recuperação consecutiva aos +15 e +30 DAI. Aos +45 DAI houve queda no peso dos animais com pequena recuperação aos +60 DAI.



**GRÁFICO 1 – Variação de peso de gatos inoculados com *Angiostrongylus vasorum* e de gatos controle. Grupo A** – seis gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo, submetidos ao protocolo de imunossupressão. **Grupo B** – cinco gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo. **Controle** (grupo D) – três gatos não inoculados. Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos A e B ao longo do tempo de observação.

### V. 3. 2. TEMPERATURA RETAL MÉDIA

Os valores de TRM estão representados no **Gráfico 2**

Os animais dos grupos B e D, durante todo o período experimental, apresentaram temperatura retal média (TRM) dentro dos valores fisiológicos estabelecidos por Fraser (1996), que é de  $38,6 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ .

Apesar de os valores se manterem dentro dos valores fisiológicos normais, os animais do grupo A apresentaram TRM com valores estatisticamente superiores ( $p < 0,05$ ) ao grupo B ao longo do tempo de observação.

### **V. 3. 3. FREQUÊNCIA CARDÍACA**

Os valores das FCM estão representados no **Gráfico 3**.

As frequências cardíacas médias (FCM) aferidas para os grupos infectados (A e B) e controle (D) estiveram, durante todo o período experimental, acima dos valores fisiológicos normais para gatos que varia de 110 a 140 batimentos por minuto (bpm) (Fraser, 1996).

Não houve diferenças significativas entre os gatos dos grupos A e B ao longo do tempo ( $p > 0,05$ ).

### **V. 3. 4. FREQUÊNCIA PULSO-FEMURAL**

Os valores de frequência pulso-femural média (FPFM) estão representados no **Gráfico 4**. Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos A e B ao longo do tempo ( $p > 0,05$ ).

O grupo A apresentou uma queda nos valores entre os dias  $-7$  e  $0$ , com aumentos consecutivos até os  $+45$  DAI. Aos  $+60$  DAI foi verificada uma ligeira queda nos valores.

Os animais do grupo B apresentaram um aumento na FPFM entre os  $-7$  e  $0$ , com consecutivas quedas até os  $+60$  DAI.

Os animais do grupo controle apresentaram quedas consecutivas até os +60 DAI, exceto entre os dias 0 e +15 DAI, quando houve uma discreta elevação nos valores aferidos.

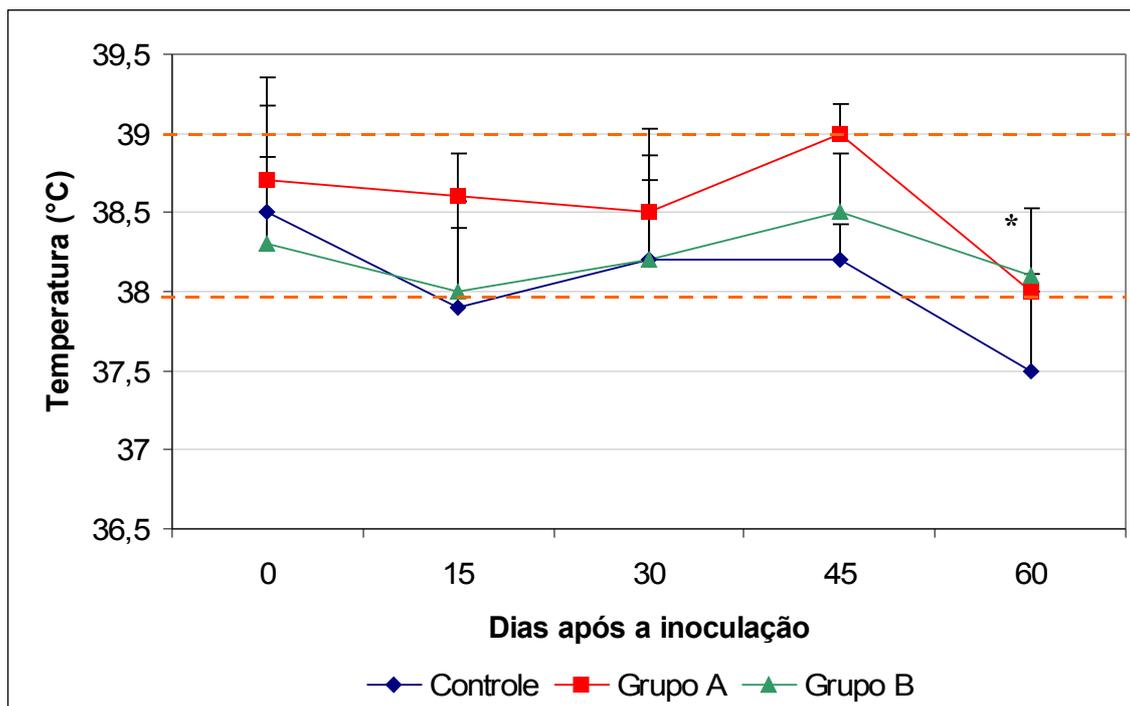
### **V. 3. 5. FREQUÊNCIA RESPIRATÓRIA**

As médias das frequências respiratórias (FRM) por intervalo de tempo, em animais em repouso, não apresentaram variações estatisticamente diferentes ( $p > 0,05$ ) entre os animais inoculados com *A. vasorum* dos grupos A e B ao longo do tempo de observação. Os valores de FRM mantiveram-se, durante todo o período experimental, acima do valor fisiológico normal para gatos, que são de 26 movimentos por minuto (mpm) (Fraser, 1996) (**Gráfico 5**).

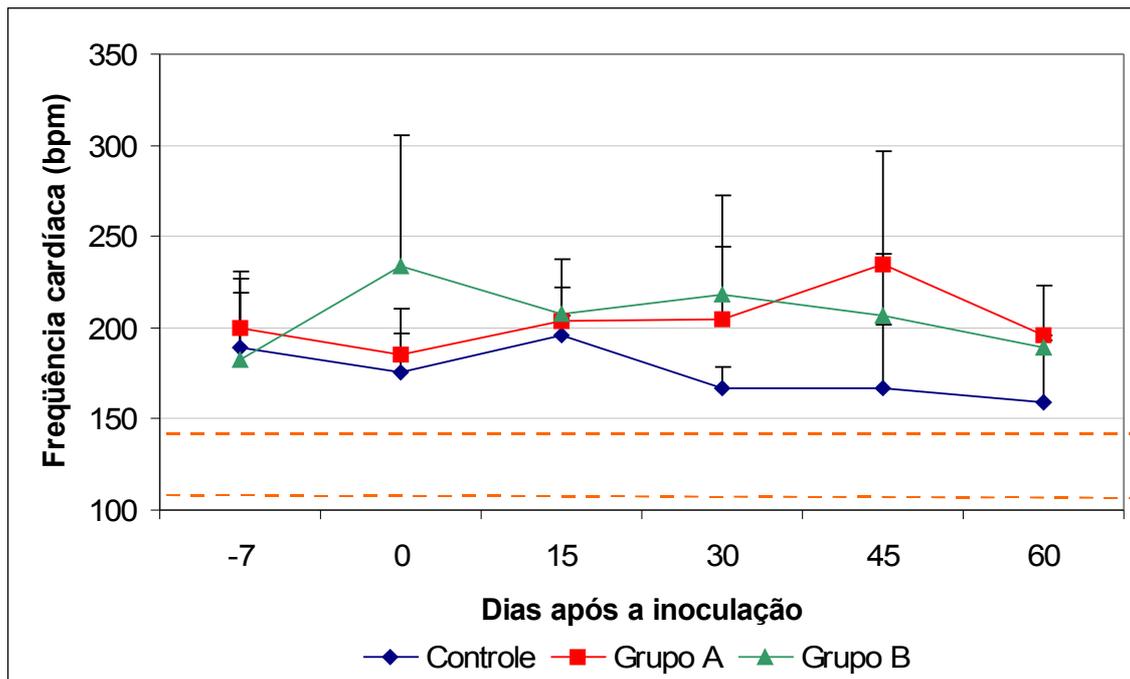
Os animais inoculados com *A. vasorum* (grupos A e B) e controle (grupo D) apresentaram padrão semelhante. Entre os dias -7 e 0 DAI houve aumento na FRM dos três grupos. Entre os dias 0 e +15 DAI houve uma queda nestes valores, com maior intensidade nos animais do grupo A. Aos +30 DAI houve recuperação na FRM, atingindo sua elevação máxima para o três grupos. Após os +30 DAI houve queda na FRM que se mantiveram até o final dos experimentos.

### **V. 3. 6. INGESTÃO DE ALIMENTOS**

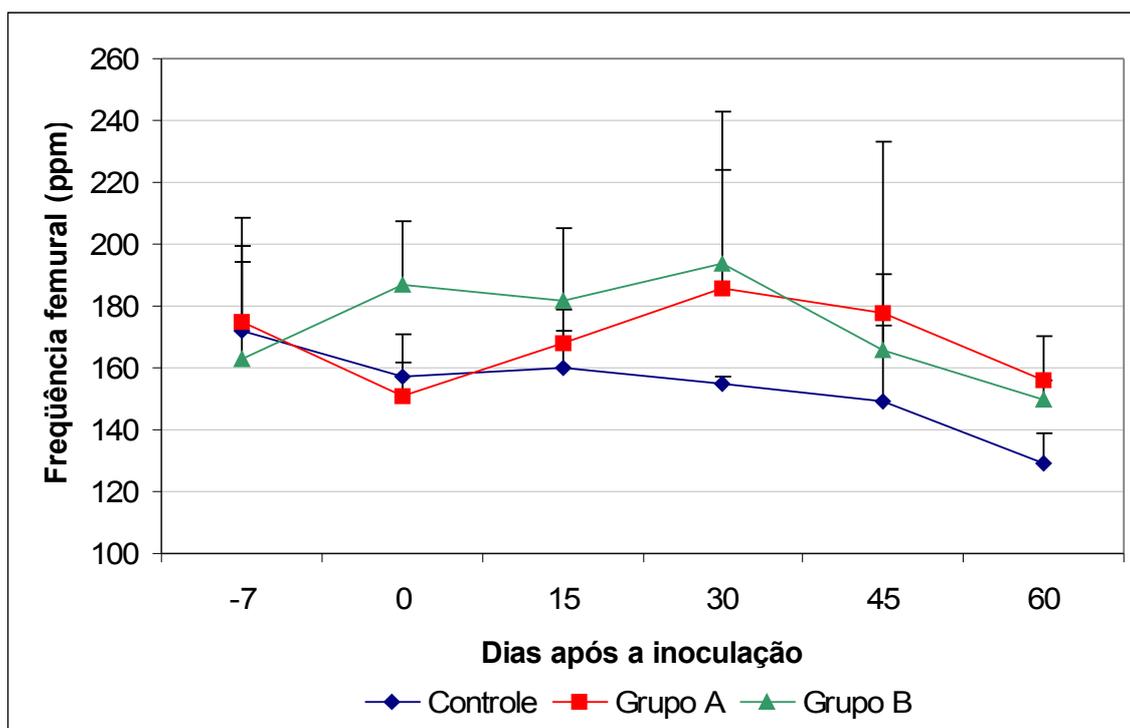
A média semanal da ingestão de alimento pelos animais inoculados com *A. vasorum* (grupos A e B) e controle (grupo D) está representada no **Gráfico 6**. Os animais do grupo A ingeriram, ao longo do experimento, em média, 29,42g a menos de alimento que os animais do grupo B ( $p < 0,05$ ).



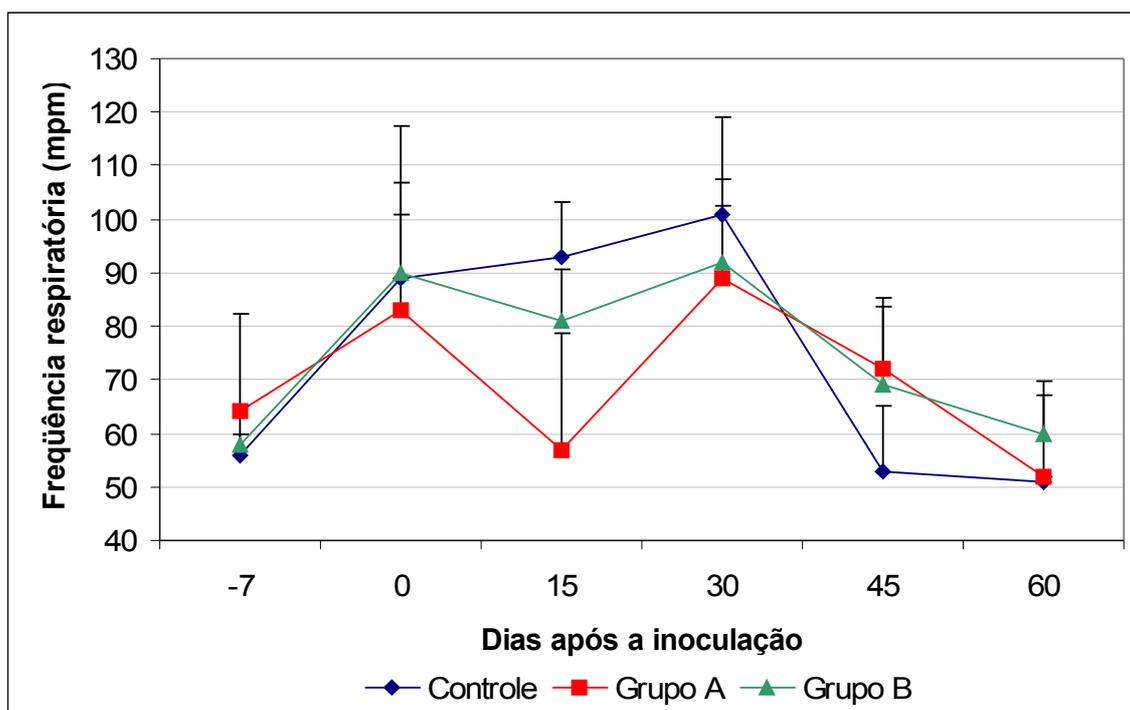
**GRÁFICO 2 - Temperatura retal média de gatos inoculados com *Angiostrongylus vasorum* e de gatos controle. Grupo A** – seis gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo, submetidos ao protocolo de imunossupressão. **Grupo B** – cinco gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo. **Controle** (grupo D) – três gatos não inoculados. Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos A e B ao longo do tempo de observação. Os limites fisiológicos (Fraser', 1996) estão representados por ( - ).



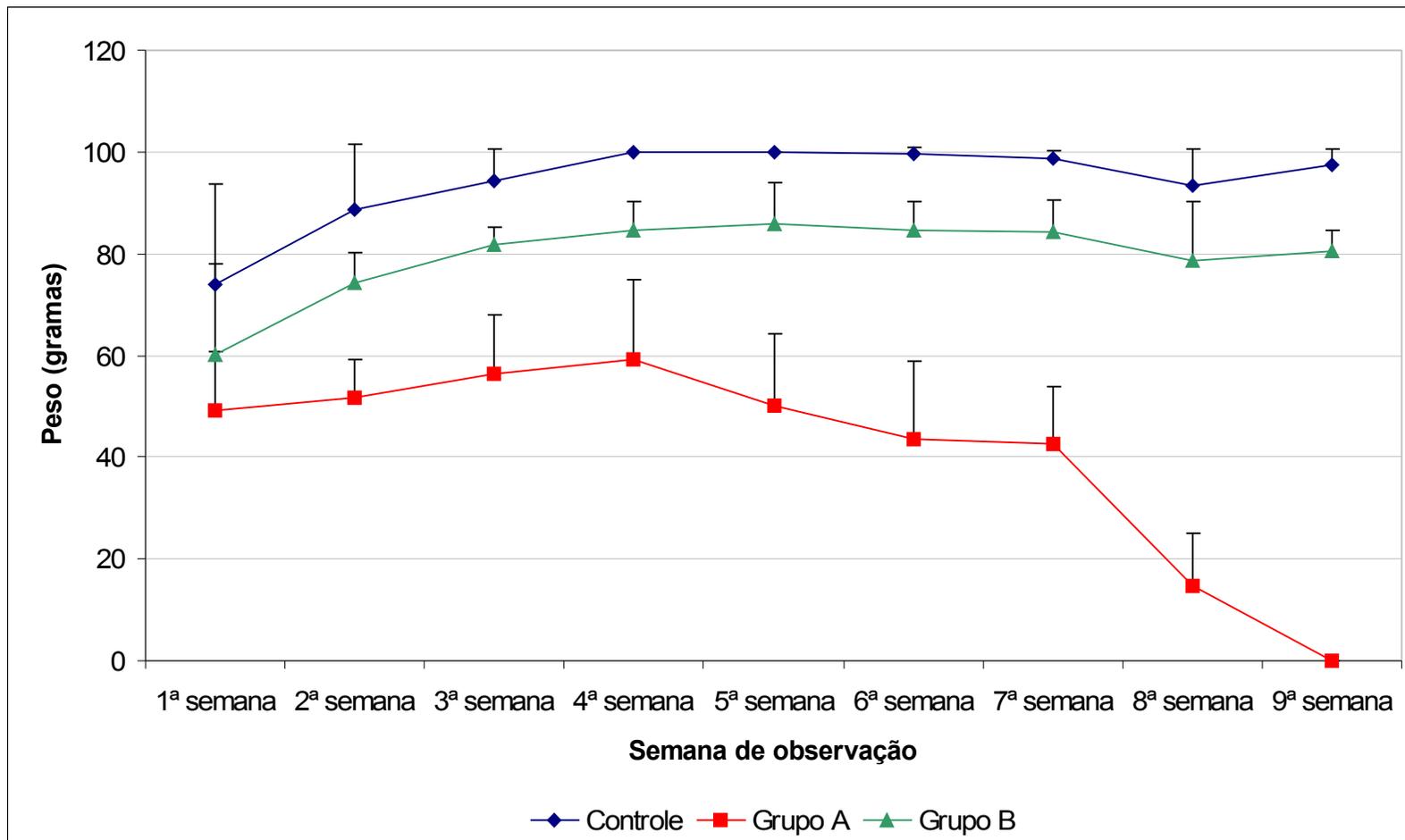
**GRÁFICO 3 – Frequência cardíaca média de gatos inoculados com *Angiostrongylus vasorum* e de gatos controle.** Grupo A – seis gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo, submetidos ao protocolo de imunossupressão. Grupo B – cinco gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo. Controle (grupo D) – três gatos não inoculados. Os limites fisiológicos (Fraser, 1996) estão representados por ( - ). Não houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre os grupos A e B ao longo do tempo de observação.



**GRÁFICO 4 –** Frequência pulso-femural média de gatos inoculados com *Angiostrongylus vasorum* e de gatos controle. *Grupo A* – seis gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo, submetidos ao protocolo de imunossupressão. *Grupo B* – cinco gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo. *Controle* (grupo D) – três gatos não inoculados. Não houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ) entre os grupos A e B ao longo do tempo de observação.



**GRÁFICO 5 –** **Freqüência respiratória média de gatos inoculados com *Angiostrongylus vasorum* e de gatos controle.** *Grupo A* – seis gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo, submetidos ao protocolo de imunossupressão. *Grupo B* – cinco gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo. *Controle* (grupo D) – três gatos não inoculados. O valor fisiológico normal para gatos é de 26 movimentos por minuto (mpm) (Fraser, 1996). Não houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos A e B ao longo do tempo de observação.



**GRÁFICO 6 – Média semanal da ingestão de alimentos de gatos inoculados com *Angiostrongylus vasorum* e de gatos controle. Grupo A – seis gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo, submetidos ao protocolo de imunossupressão. Grupo B – cinco gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo. Controle (grupo D) – três gatos não inoculados. Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os animais dos grupos A e B no decorrer do período experimental.**

## V. 4. EXAMES HEMATOLÓGICOS

### V. 4. 1. HEMOGRAMA

#### V. 4. 1. 1. CONTAGEM DE HEMÁCIAS

Foram verificadas diferenças estatísticas significativas ( $p < 0,05$ ) entre os animais dos grupos A e B ao longo do período experimental. Os animais dos grupos A e B apresentaram quedas nas contagens de hemácias até os +30 DAI, quando houve, aos +45 DAI, uma discreta elevação no número de hemácias para os dois grupos, especialmente para o grupo B (**Gráfico 7**). Aos +60 DAI houve uma queda na contagem global de hemácias do grupo B, enquanto, o grupo A apresentou discreta elevação na mesma.

Os animais do grupo A apresentaram, a partir dos +15 DAI, contagem abaixo dos valores fisiológicos considerados normais para gatos, que, é de  $5-10 \times 10^6/\mu\text{l}$  de sangue (Fraser, 1996).

Os animais do grupo controle apresentaram queda, ainda dentro dos valores fisiológicos normais, na contagem de hemácias aos +15 DAI, seguido de elevação na contagem até os +45 DAI. Aos +60 DAI houve queda na contagem destas células, aproximando-se aos grupos A e B.

#### V. 4. 1. 2. VOLUME GLOBULAR

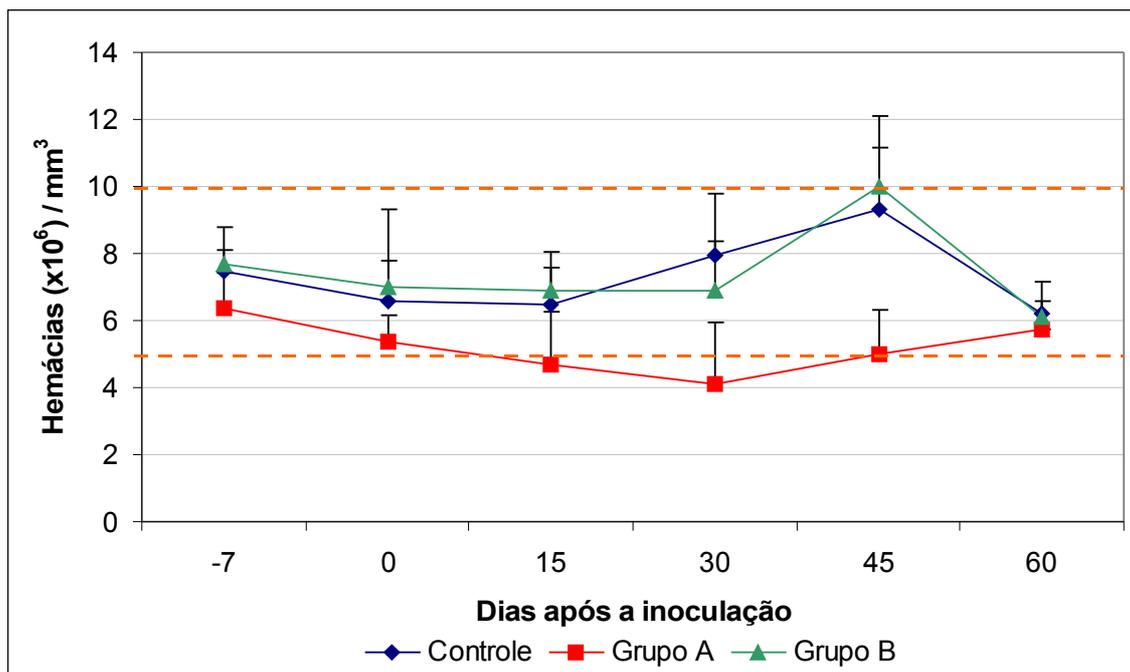
Os valores do volume globular médio dos animais inoculados com *A. vasorum* (grupos A e B) e animais controle (grupo D) encontram-se representados no **Gráfico 8**.

São considerados valores fisiológicos normais para gatos o volume de 30 a 45% (Fraser, 1996).

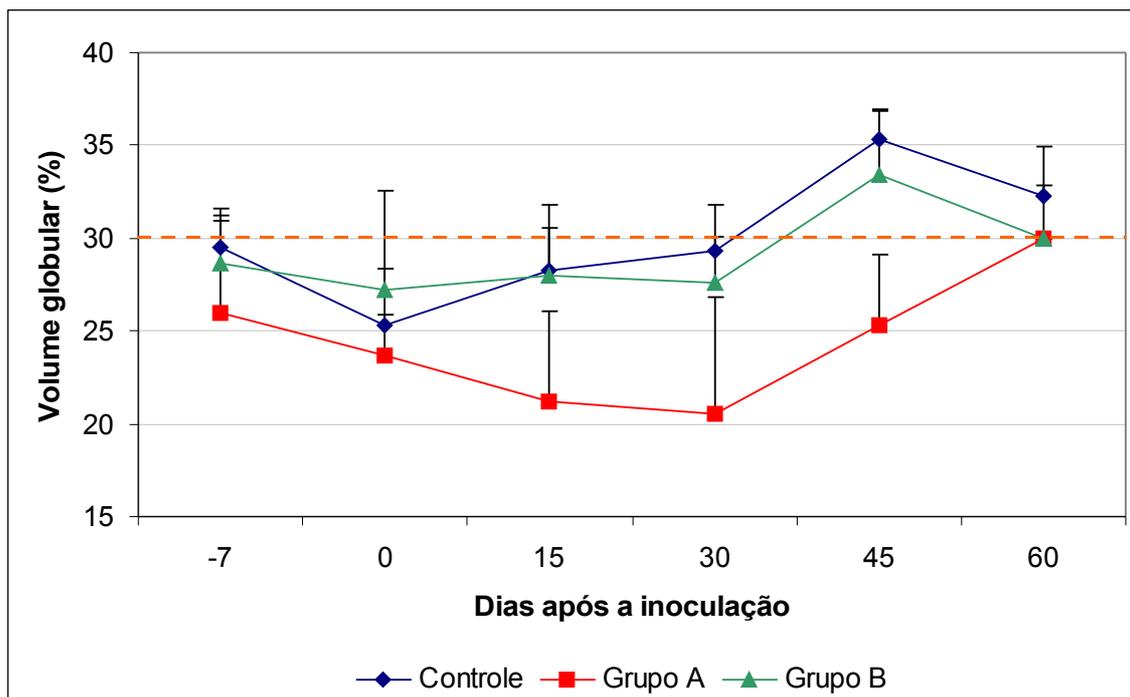
Os animais do grupo A apresentaram volume globular médio significativamente diferentes ( $p < 0,05$ ) dos animais do grupo B ao longo do tempo. Este grupo apresentou, desde o dia  $-7$ , volume globular médio abaixo dos valores fisiológicos normais, com quedas consecutivas nos valores até os +30 DAI, com recuperação aos +45 e +60 DAI, quando atingiu o nível fisiológico mínimo da faixa de normalidade.

Os animais do grupo B mantiveram o volume globular médio abaixo dos valores fisiológicos normais até os +30 DAI. Aos +45 DAI, o volume globular médio apresentou ligeira elevação, atingindo patamares normais até os +60 DAI.

Os animais controle apresentaram valores abaixo da faixa de normalidade dos -7 aos +30 DAI. Estes animais apresentaram discreta queda entre os dias -7 e 0 com recuperação e elevação nos valores até os +45 DAI. Aos +60 DAI houve ligeira diminuição no volume globular médio deste grupo.



**GRÁFICO 7 – Número médio de hemácias de gatos inoculados por *Angiostrongylus vasorum* e de gatos controle. Grupo A – seis gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo, submetidos ao protocolo de imunossupressão. Grupo B – cinco gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo. Controle (grupo D) – três gatos não inoculados. Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos A e B ao longo do tempo de observação. Os limites fisiológicos (Fraser, 1996) estão representados por ( - ).**



**GRÁFICO 8 – Volume globular médio do sangue de gatos inoculados por *Angiostrongylus vasorum* e de gatos controle. Grupo A – seis gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo, submetidos ao protocolo de imunossupressão. Grupo B – cinco gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo. Controle (grupo D) – três gatos não inoculados. Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos A e B ao longo do tempo de observação. O valor fisiológico mínimo (Fraser, 1996) estão representados por ( - ). O valor máximo é de 45% (Fraser, 1996).**

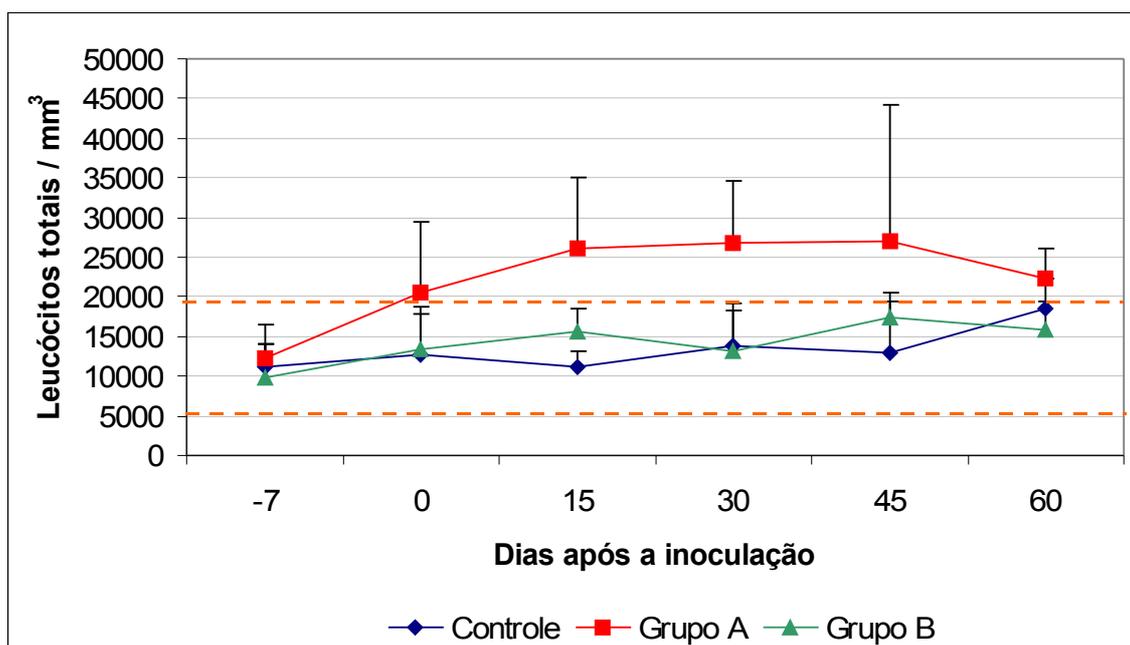
### V. 4. 1. 3. LEUCÓCITOS TOTAIS

O **Gráfico 9** apresenta os valores médios de leucócitos totais do sangue periférico.

Os valores médios do grupo A foram significativamente superiores aos do grupo B ( $p < 0,05$ ) a partir do dia 0, mantendo-se acima dos valores fisiológicos normais, que é de  $5,5-19,5 \times 10^3/\mu\text{l}$  de sangue (Fraser, 1996) desde o dia 0 até os +60 DAI. Houve aumento no número de leucócitos entre os dias -7 e +15 DAI, com manutenção deste valor até os +45 DAI. Aos +60 DAI houve ligeira diminuição na contagem de leucócitos deste grupo.

Os animais do grupo B apresentaram-se, durante todo o período experimental, dentro dos limites fisiológicos normais. Houve pequeno aumento nas contagens de leucócitos do dia -7 aos +15 DAI, com queda aos +30 DAI. Aos +45 DAI houve ligeira recuperação no número de leucócitos totais, que se manteve com discreta diminuição aos +60 DAI.

Os animais não inoculados com *A. vasorum* (controle - grupo D) mantiveram, com pequenas variações dentro dos valores fisiológicos normais, o número de leucócitos totais no sangue periférico. Aos +60 DAI, houve aumento na contagem dos leucócitos deste grupo.



**GRÁFICO 9 – Número de leucócitos totais sangue periférico de gatos infectados por *Angiostrongylus vasorum* e de gatos controle. Grupo A – seis gatos infectados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo, submetidos ao protocolo de imunossupressão. Grupo B – cinco gatos infectados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo. Controle (grupo D) – três gatos não inoculados. Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos A e B ao longo do período experimental. Os limites fisiológicos mínimos (Fraser, 1996) estão representados por ( - ).**

#### **V. 4. 1. 4. CONTAGEM DIFERENCIAL DE LEUCÓCITOS**

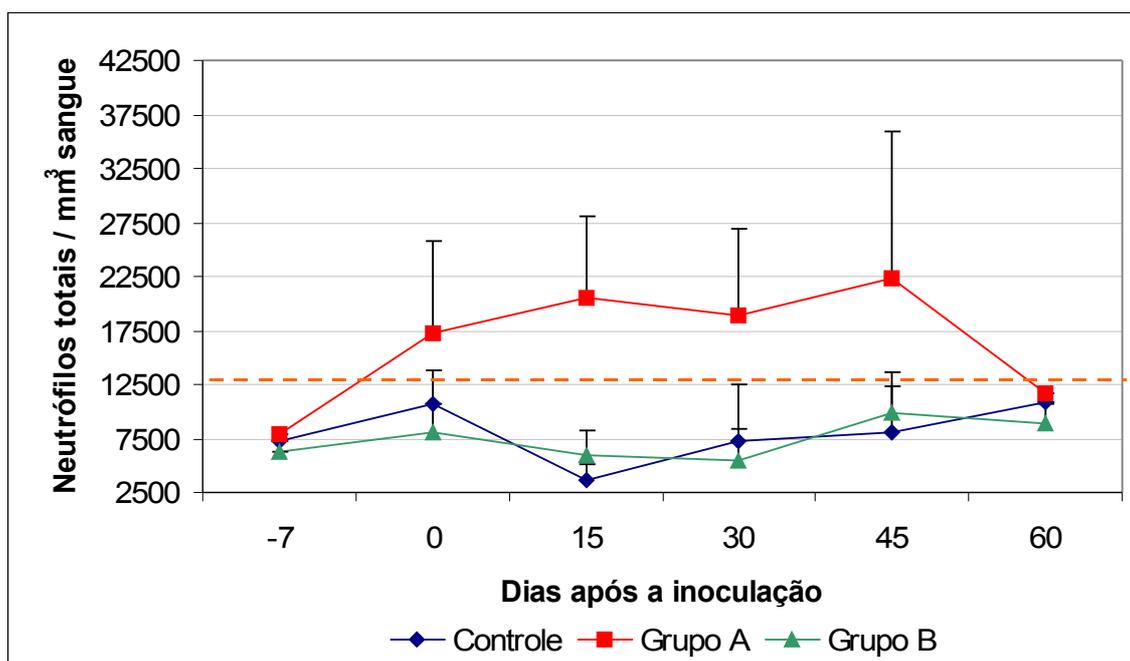
##### **V. 4. 1. 4. 1. NEUTRÓFILOS**

No **Gráfico 10** encontram-se representados os valores absolutos ao número médio de neutrófilos (NMN) do sangue periférico, nos diferentes procedimentos para os grupos A, B e controle (grupo D).

O NMN do grupo A foi significativamente maior do que o do grupo B ( $p < 0,05$ ), durante todo o período experimental. Do dia -7 aos +15 DAI os animais do grupo A apresentaram um aumento acentuado no NMN, ultrapassando o limite fisiológico superior ( $12,8 \times 10^3/\mu\text{l}$  de sangue) (Fraser, 1996). Este quadro permaneceu até os +45 DAI. Aos +60 DAI, o NMN atingiu valores fisiológicos normais.

O grupo B manteve, com pequenas variações, o NMN dentro dos limites fisiológicos descritos por Fraser (1996), que varia de 2,5 a  $12,8 \times 10^3/\mu\text{l}$  de sangue.

Os animais do grupo D (controle) apresentaram discreto aumento no NMN do dia -7 e 0 de inoculação, seguido de queda acentuada até o dia +15 DAI, atingindo os menores valores encontrados em todo período experimental. Entre os +30 e +60 DAI o NMN aumentou, atingindo valores muito próximos aos do dia 0.



**GRÁFICO 10 – Número absoluto de neutrófilos, por milímetro cúbico de sangue de gatos inoculados com *Angiostrongylus vasorum* e de gatos controle.** Grupo A – seis gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo, submetidos ao protocolo de imunossupressão. Grupo B – cinco gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo. Controle (grupo D) – três gatos não inoculados. Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos A e B ao longo do período experimental. O limite fisiológico máximo (Fraser, 1996) está representado por ( - ).

#### V. 4. 1. 4. 2. MONÓCITOS

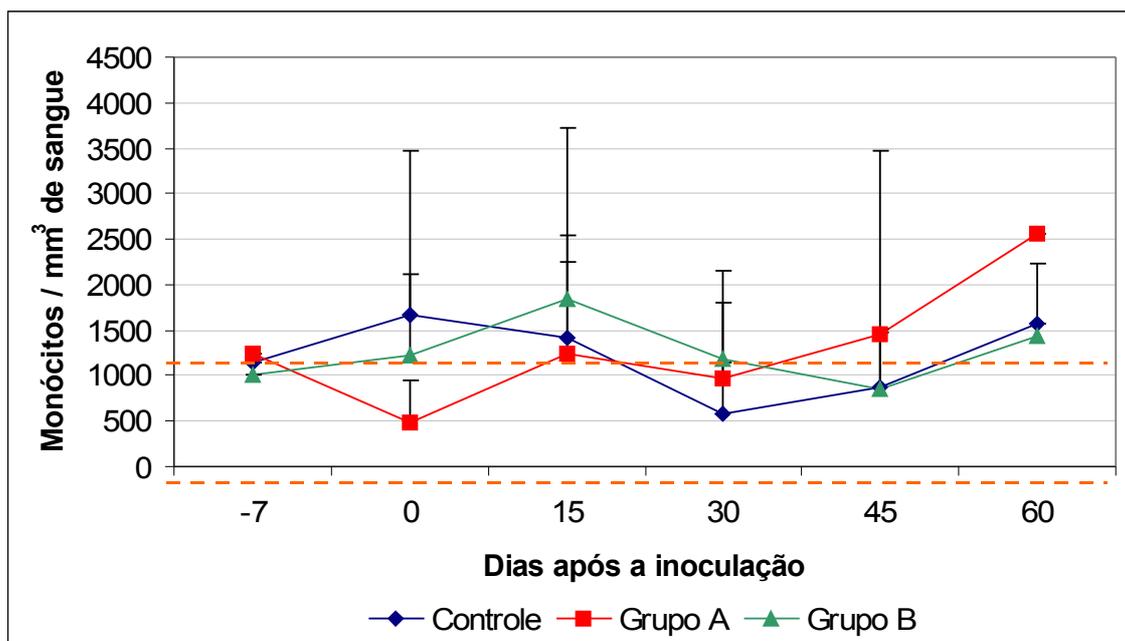
Estão demonstradas no **Gráfico 11** as variações no número médio de monócitos (NMM), nos grupos A, B (inoculados com *A. vasorum*) e D (controle).

Todos os animais apresentaram NMM acima dos valores fisiológicos considerados normais para gatos ( $0-0,85 \times 10^3/\mu\text{l}$  de sangue) (Fraser, 1996), exceto no dia 0, para o grupo A e aos +30 DAI para o grupo controle.

O grupo A apresentou diferença estatística ( $p < 0,05$ ) para o grupo B ao longo do período experimental. Dos dias -7 ao 0, houve queda no NMM do grupo A, com recuperação aos +15 DAI. Aos +30 DAI houve uma discreta diminuição no NMM, com recuperação aos +45 e +60 DAI, quando houve uma elevação no NMM.

O grupo B apresentou aumento no NMM até os +15 DAI, seguido de quedas consecutivas até o +45 DAI. Aos +60 DAI houve ligeira recuperação no NMM, alcançando valores superiores aos do início do experimento.

O grupo controle apresentou aumento no NMM até o dia 0. Seguiu-se uma queda nestes valores até os +30 DAI, com recuperação consecutiva nos +45 e +60 DAI.



**GRÁFICO 11 – Número absoluto de monócitos, por milímetro cúbico de sangue de gatos inoculados com *Angiostrongylus vasorum* e de gatos controle. Grupo A – seis gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo, submetidos ao protocolo de imunossupressão. Grupo B – cinco gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo. Controle (grupo D) – três gatos não inoculados. Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos A e B ao longo do período experimental. Os limites fisiológicos (Fraser, 1996) estão representados por ( - ).**

#### V. 4. 1. 4. 3. LINFÓCITOS

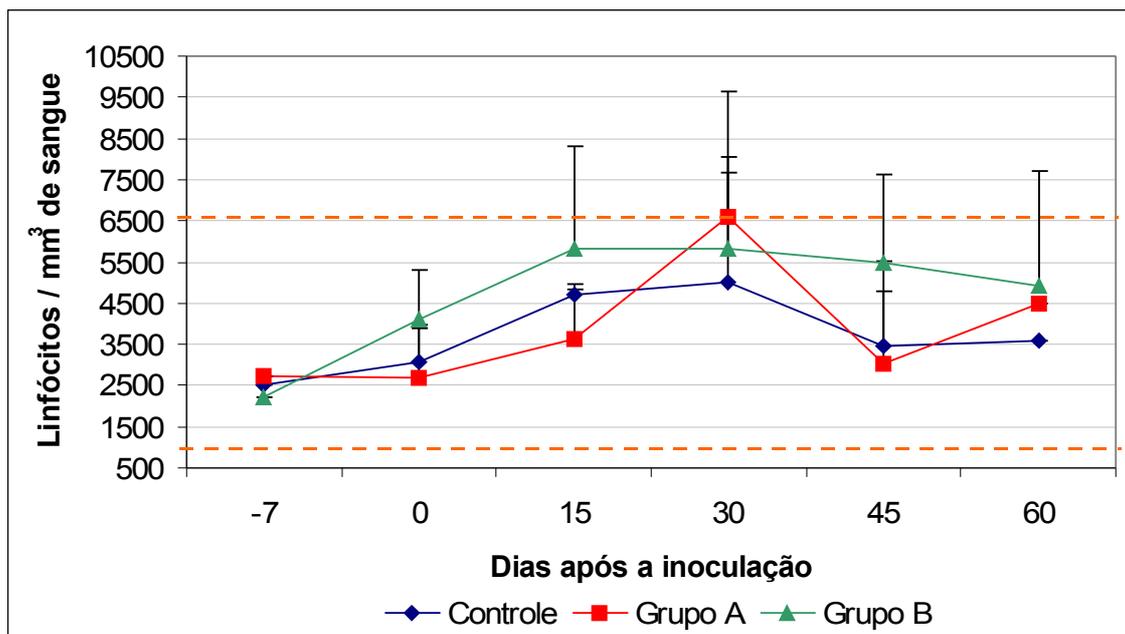
O **Gráfico 12** apresenta as contagens do número médio de linfócitos (NML) nos grupos de animais inoculados com *A. vasorum* (grupos A e B) e controle (grupo D), durante todo o período experimental.

Considerando que os valores fisiológicos normais variam de  $1,5-7 \times 10^3/\mu\text{l}$  de sangue (Fraser, 1996), todos os animais apresentaram valores normais no NML.

Os animais do grupo A apresentaram NML abaixo dos valores encontrados para o grupo B, exceto aos  $-7$  e  $+30$  DAI. Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos A e B ao longo do período experimental. Entre o dia da infecção (dia 0) e os  $+30$  DAI houve aumento na contagem deste tipo celular para o grupo A, atingindo valores cerca de três vezes maior do que os encontrados no dia da inoculação (dia 0). Aos  $+45$  DAI houve queda no NML, atingindo valores próximos aos do dia 0. O NML encontrados aos  $+60$  DAI foram superiores aos do grupo controle (grupo D) e inferiores aos encontrados para o grupo B.

O NML do grupo B apresentou aumentos consecutivos desde o dia  $-7$  até os  $+15$  DAI, onde atingiu valores cerca de três vezes maior do que os encontrados no dia  $-7$ . Este valor apresentou discreta diminuição até os  $+60$  DAI.

Durante todo o período experimental os animais do grupo D (controle) apresentaram aumento no NML, excetos aos  $+45$  DAI, quando houve queda na contagem deste tipo celular, que se manteve aos  $+60$  DAI.



**GRÁFICO 12 – Número absoluto de linfócitos, por milímetro cúbico de sangue de gatos inoculados com *Angiostrongylus vasorum* e de gatos controle. Grupo A – seis gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo, submetidos ao protocolo de imunossupressão. Grupo B – cinco gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo. Controle (grupo D) – três gatos não inoculados. Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos A e B ao longo do período experimental. Os limites fisiológicos mínimos (Fraser, 1996) estão representados por ( - ).**

#### V. 4. 1. 4. 4. BASÓFILOS

São demonstradas no **Gráfico 13** as variações do número de basófilos dos grupos A, B e D (controle).

Os animais do grupo A apresentaram contagens de basófilos apenas aos +15 DAI e os animais do grupo controle no dia 0. Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos A e B aos +15 DAI.

Não foram observados basófilos nos animais do grupo B.

#### V. 4. 1. 4. 5. EOSINÓFILOS

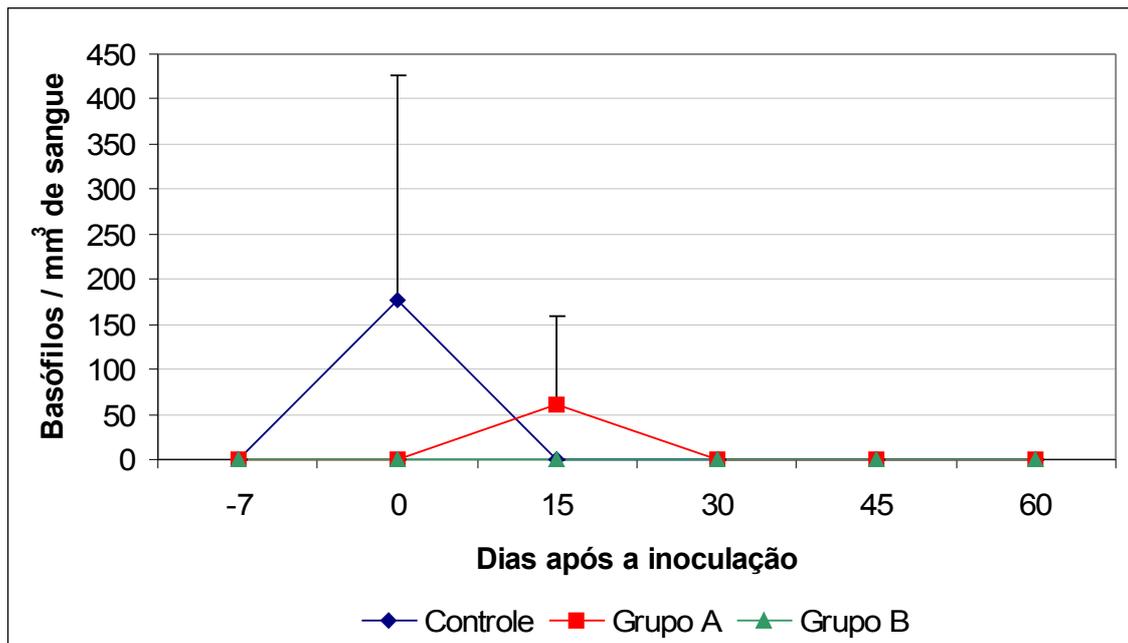
As variações no número médio de eosinófilos (NME) para os animais inoculados com *A. vasorum* (grupos A e B) e controle (grupo D) estão representados no **Gráfico 14**.

Consideram-se normais valores absolutos variando entre  $0-0,75 \times 10^3/\mu\text{l}$  de sangue (Fraser, 1996).

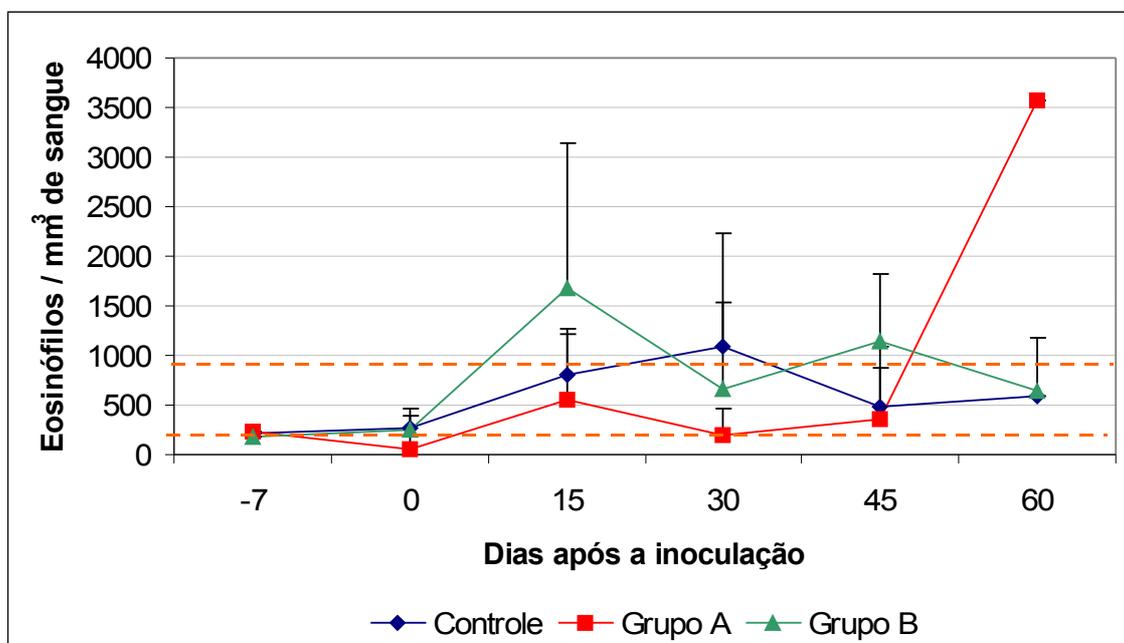
O NME do grupo A permaneceu, durante todo o período experimental, com pequenas variações. A contagem deste tipo celular foi estatisticamente inferior aos do grupo B ( $p < 0,05$ ) durante todo período experimental. Aos +60 DAI, quando houve um aumento acentuado na contagem, acima do limite fisiológico.

Os animais do grupo B apresentaram aos +15 DAI houve um aumento na contagem do NME, alcançando o maior valor para este grupo. Seguiu-se, aos +30 DAI uma queda expressiva no NME que, com pequenas variações, se manteve até o final dos experimentos. Aos +15 e +45 DAI, o NME ficou acima dos valores fisiológicos normais.

O NME dos animais do grupo D apresentou elevação até os +30DAI, com queda aos +45 DAI, atingindo valores que se mantiveram aos +60 DAI. Aos +15 e +30 DAI foram encontradas contagens com valores acima do normal.



**GRÁFICO 13 – Número absoluto de basófilos, por milímetro cúbico de sangue de gatos inoculados com *Angiostrongylus vasorum* e de gatos controle. Grupo A – seis gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo, submetidos ao protocolo de imunossupressão. Grupo B – cinco gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo. Controle (grupo D) – três gatos não inoculados.**



**GRÁFICO 14 – Número absoluto de eosinófilos, por milímetro cúbico de sangue de gatos inoculados com *Angiostrongylus vasorum* e de gatos controle. Grupo A – seis gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo, submetidos ao protocolo de imunossupressão. Grupo B – cinco gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *A. vasorum* / quilograma de peso vivo. Controle (grupo D) – três gatos não inoculados. Houve diferença estatística ( $p < 0,05$ ) entre os grupos A e B durante todo o período experimental. Os limites fisiológicos mínimos (Fraser, 1996) estão representados por ( - ).**

## V. 5. NECRÓPSIA E ACHADOS PARASITOLÓGICOS

Cinco animais do grupo A vieram a óbito antes do período previsto, que era de 60 dias (gatos número 12, 13, 14, 15 e 18). O óbito destes animais variou de 17 a 57 dias (ver **Tabela 2**).

No grupo C, apenas um animal (gato 07) veio a óbito antes do período previsto, cinco dias após a inoculação. Os demais animais foram sacrificados aos +60 DAI. Este animal apresentou, à necrópsia, mucosa estomacal com pontos hiperêmicos. Do Baermann do pâncreas deste gato foi recuperada uma  $L_3$  de *A. vasorum*.

Quinze dias após a inoculação, outro animal do grupo C veio a óbito (gato 8). Do exame de Baermann da vesícula biliar deste animal foi recuperada uma  $L_3$  morta. À necrópsia não foram encontradas alterações macroscópica evidentes.

Foram recuperados vermes adultos apenas no coração e pulmão dos animais necropsiados.

Foram encontrados no parênquima pulmonar de cinco animais (gatos 06, 09, 17, 18 e 21) pequenos nódulos. Ao corte, estes nódulos possuíam aspecto granuloso e, de alguns deles, foram recuperados parasitos adultos vivos e mortos, sendo estes últimos, não quantificados. A confirmação da presença de vermes adultos de *A. vasorum* mortos nestes granulomas se deu através da recuperação de pequenos fragmentos, que foram levados ao microscópio estereoscópio para identificação. Estes fragmentos apresentavam-se frágeis e desmanchando.

De todos os animais necropsiados, em apenas cinco (gatos 06, 09, 12, 17 e 18) foram encontrados vermes adultos vivos de *A. vasorum*. Foram recuperados, no total, dois vermes adultos de *A. vasorum* (um macho e uma fêmea) no ventrículo direito do coração do gato 18 e doze vermes adultos de *A. vasorum* na artéria pulmonar e suas ramificações dos demais gatos (inclusive o 18) (**Tabela 2**).

Foram recuperados seis vermes adultos (42,86% do total de vermes adultos recuperados) no grupo A (sendo, 05 fêmeas e 01 macho), três vermes adultos (21,43%) no grupo B (sendo, 02 fêmeas e 01 macho) e cinco vermes adultos (35,71%) no grupo C

(sendo, 04 fêmeas e 01 macho). No total, 14 vermes adultos, sendo 11 fêmeas (78,57%) e três machos (21,43%).

Das 11 fêmeas recuperadas, cinco eram ovígeras (45,45%) e seis eram não ovígeras (54,54%). No total, os animais do grupo A apresentaram cinco fêmeas não ovígeras. Já os animais do grupo B apresentaram, no total, duas fêmeas ovígeras. O grupo C apresentou, no total, três fêmeas ovígeras e uma fêmea não ovígera.

**TABELA 2** – Estádios evolutivos de *Angiostrongylus vasorum* recuperados da necrópsia de gatos experimentalmente infectados com 50L<sub>3</sub>/kg de peso vivo.

Grupo	Animal n°	Inóculo	Necrópsia (DAI)	Larvas no tecido	Localização vermes adultos vivos		Total de parasitos		Adultos recuperados (%)
					Coração	Artéria pulmonar	Larvas	Adultos	
A	11	55 L <sub>3</sub>	60	-	-	-	0	0	0
	12	40 L <sub>3</sub>	57	-	-	1 fêmea	0	1	2,5
	13	50 L <sub>3</sub>	17	-	-	-	0	0	0
	14	50 L <sub>3</sub>	32	-	-	-	0	0	0
	15	50 L <sub>3</sub>	51	-	-	-	0	0	0
	18	75 L <sub>3</sub>	55	-	1 macho + 1 fêmea	3 fêmeas	0	05	6,66
<b>TOTAL</b>				0	02	04	0	06	-
B	10	50 L <sub>3</sub>	60	-	-	-	0	0	0
	17	75 L <sub>3</sub>	60	-	-	1macho + 2 fêmeas *	0	03	4
	19	50 L <sub>3</sub>	60	-	-	-	0	0	0
	21	65 L <sub>3</sub>	60	-	-	- *	0	0	0
	22	75 L <sub>3</sub>	60	-	-	-	0	0	0
<b>TOTAL</b>				0	0	03	0	03	-
C	06	50 L <sub>3</sub>	45	-	-	3 fêmeas + 1macho	0	04	8
	07	50 L <sub>3</sub>	05	1 L <sub>3</sub>	-	-	1	0	0
	08	50 L <sub>3</sub>	15	1 L <sub>3</sub>	-	-	1	0	0
	09	50 L <sub>3</sub>	30	-	-	1 fêmea	0	01	2
<b>TOTAL</b>				02	0	05	02	05	-
D	20	-	-	-	-	-	-	-	-
	23	-	-	-	-	-	-	-	-
	24	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>TOTAL</b>				-	-	-	-	-	-

\* - indica a presença de parasitos adultos não quantificados

### **V. 5. 1. ANÁLISE HISTOLÓGICA DE CORAÇÃO E PULMÕES**

Os cortes histológicos evidenciaram um quadro de pneumonite infiltrativa, caracterizada pelo espessamento da parede dos alvéolos e endarterite (**Figuras 01 e 02**).

Além disso, foi observada a formação de processos granulomatosos, ilustrado nas **Figuras 03**, em alguns casos com a presença de corpo estranho no seu interior.

### **V. 6. CARACTERIZAÇÃO E MORFOMETRIA DOS VERMES ADULTOS DE *A. vasorum***

Os vermes adultos de *A. vasorum* recuperados do coração e pulmão dos gatos quantificados e caracterizados a seguir apresentavam-se íntegros e ativos. A **Tabela 3** mostra a variação e a média das medidas dos vermes adultos recuperados.

#### **V. 6. 1. GERAL**

Os nematóides apresentavam-se característicos, com corpo delgado e alongado, atenuado nas extremidades. Ao microscópio estereoscópio era possível perceber a cutícula transparente, que permitia observar os órgãos reprodutores mais claros, com aspecto helicoidal em torno do tubo digestivo mais escuro (**Figura 04 A e B**).

Após a fixação em solução de Henry-Railliet, a 70°C, observou-se, ao microscópio óptico, que a extremidade anterior dos vermes adultos de *A. vasorum* apresentava-se um pouco dilatada e o esôfago claviforme (**Figura 05**) e, na extremidade posterior das fêmeas, a presença de uma expansão cuticular em forma de bainha (**Figura 06**).

#### **V. 6. 2. FÊMEAS**

Das 11 fêmeas recuperadas, apenas cinco (45,45%) eram fêmeas ovígeras. Em todas foram observados poucos ovos elípticos na porção final do aparelho reprodutor, próximo à cloaca (**Figura 07 A e B**). Nas outras sete fêmeas (63,64%) não foram observados ovos no aparelho reprodutor (**Figura 08 e 09**).

As fêmeas ovígeras apresentaram medidas superiores às fêmeas não ovígeras. As fêmeas ovígeras apresentaram, em média, 13,8mm enquanto as fêmeas não ovígeras mediram 10,5mm de comprimento.

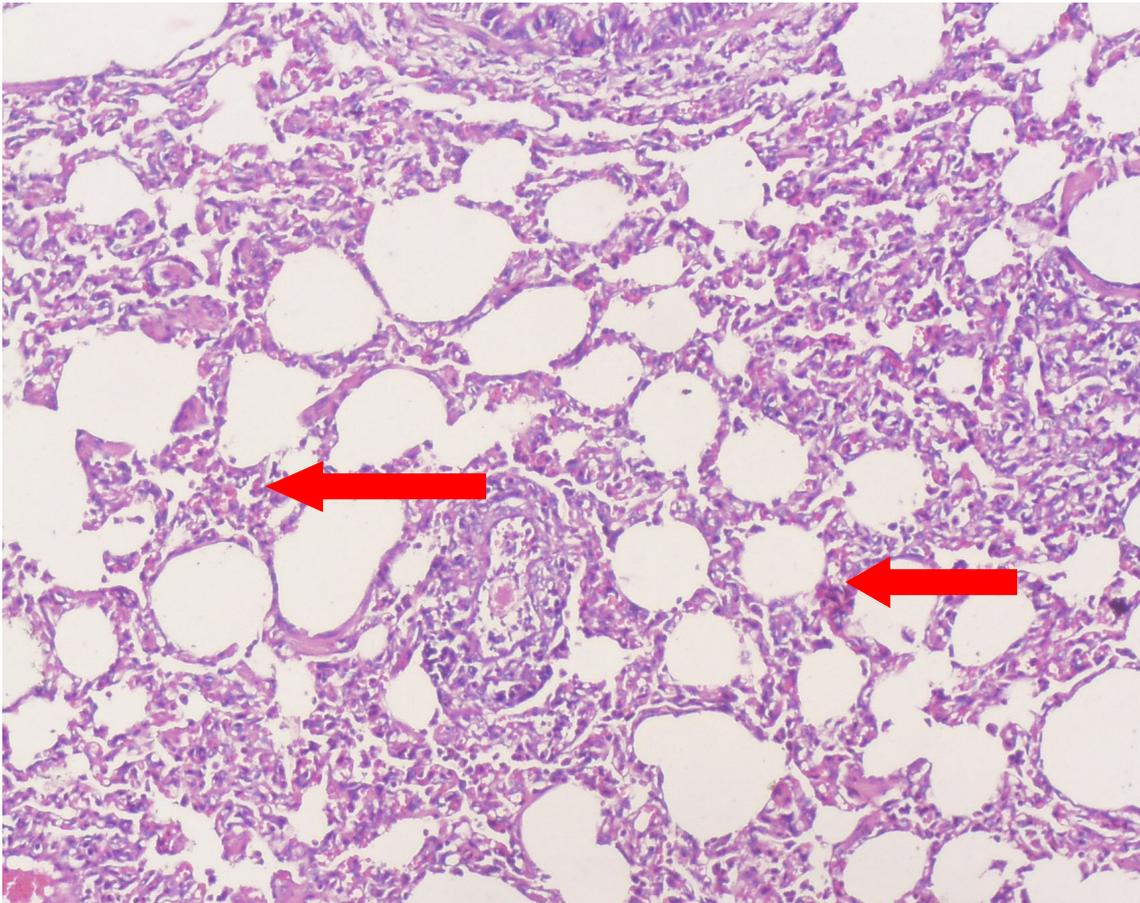
As fêmeas apresentavam vagina abrindo-se ao exterior pela vulva, situada anteriormente ao ânus. A distância entre vulva e ânus, na fêmeas ovígeras foi de 119 $\mu$ m e, nas fêmeas não ovígeras é de 89 $\mu$ m.

### **V. 6. 3. MACHOS**

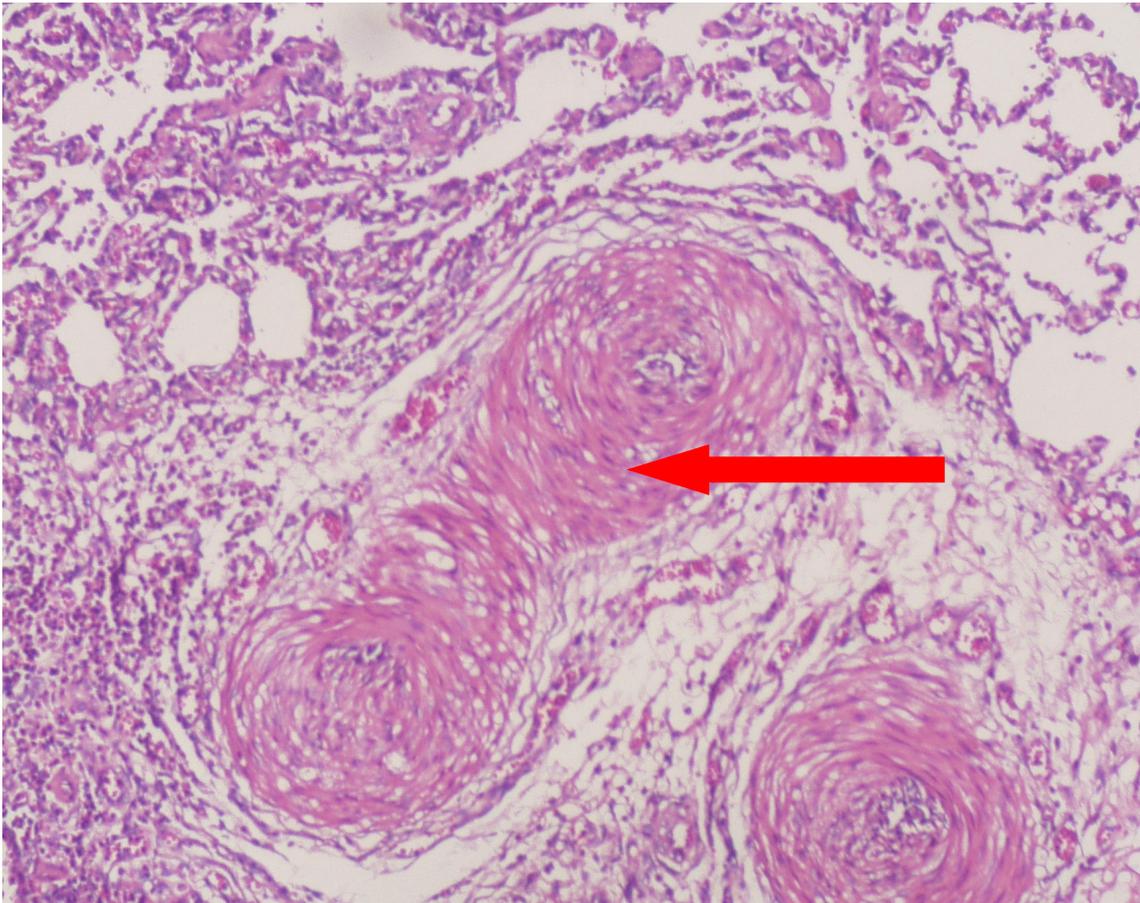
Os três machos recuperados nas necropsias apresentavam-se menores e mais delgados que as fêmeas. Mediram, em média, 11,8mm de comprimento e 180 $\mu$ m de diâmetro.

Bolsa copulatória curta, medindo 69 $\mu$ m (a partir da base), com raios bursais bem desenvolvidos (**Figura 10**).

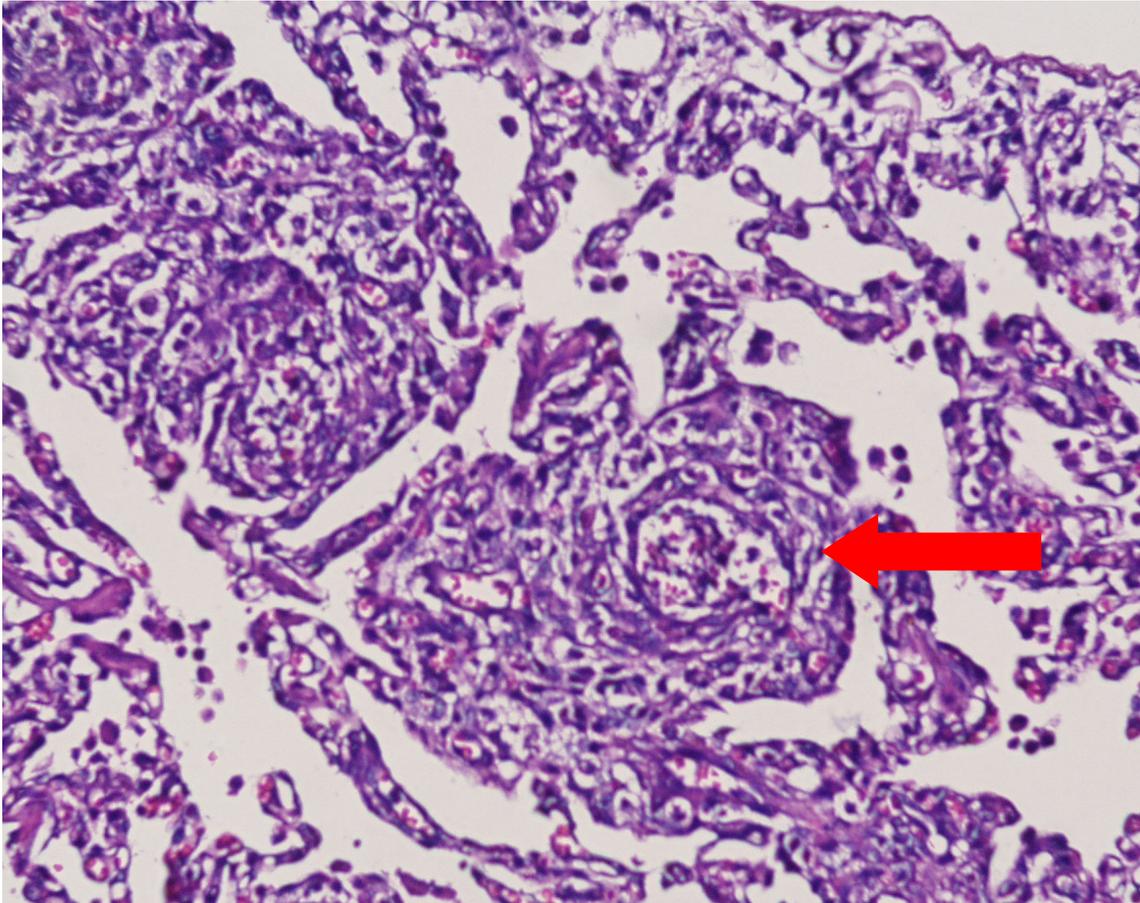
Os espículos apresentam-se quitinizados, com coloração castanho-escura. São desiguais, com maior medindo, em média, 493 $\mu$ m, e, o menor, 433 $\mu$ m (**Figura 11**).



**FIGURA 01** – Corte histológico de pulmão de um gato inoculado experimentalmente com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 60 dias após a inoculação. As setas (←) indicam o espessamento da parede dos alvéolos, característica do quadro de pneumonite infiltrativa. Coloração: HE. Microscópio óptico: aumento 40X.



**FIGURA 02** – Corte histológico de pulmão de um gato inoculado experimentalmente com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 55 dias após a inoculação. As setas (←) indicam inflamação das artérias (endarterite). Coloração: HE. Microscópio óptico: aumento 40X.

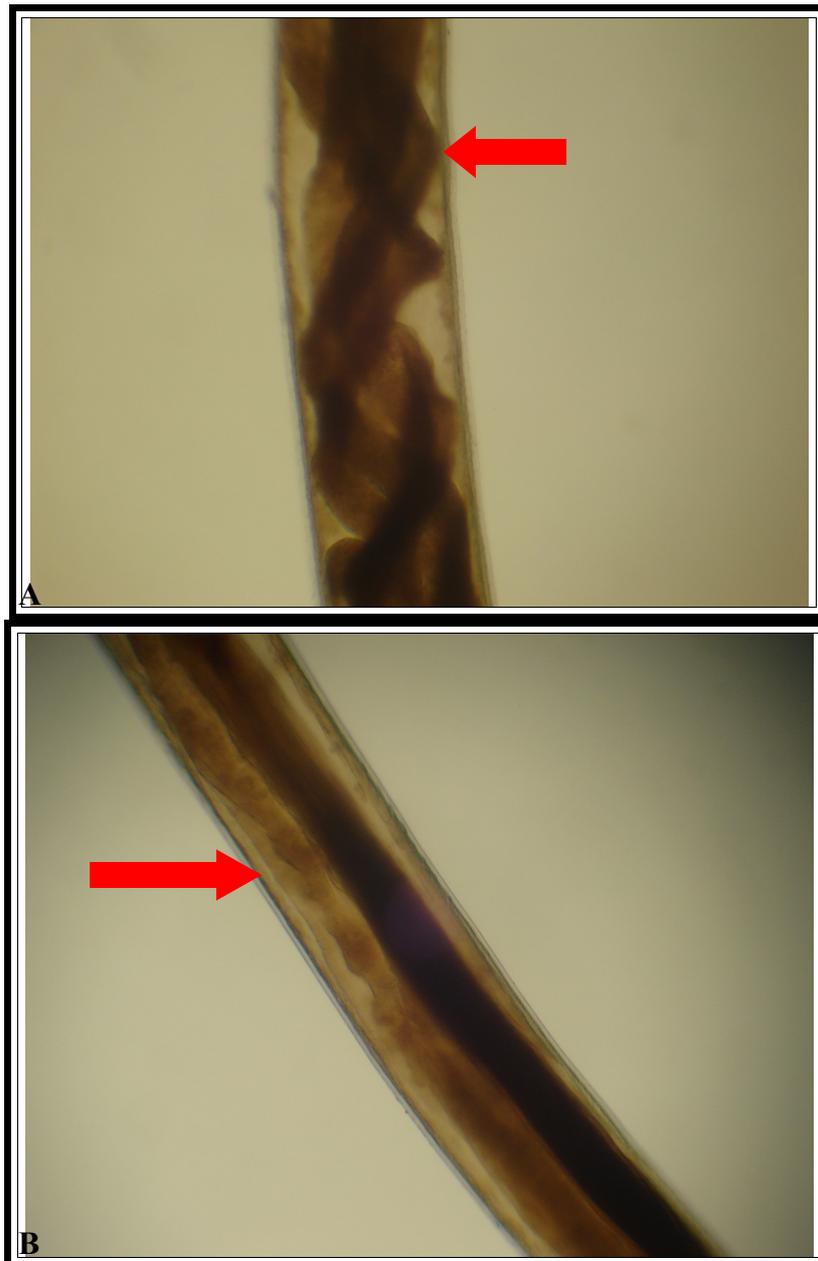


**FIGURA 03** – Corte histológico de pulmão de um gato inoculado experimentalmente com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 55 dias após a inoculação. As setas (←) indicam a formação de processos granulomatosos. Coloração: HE. Microscópio óptico: aumento 40X.

**TABELA 03** – Medidas dos vermes adultos recuperados de gatos inoculados com 50 larvas de terceiro estágio de *Angiostrongylus vasorum* / quilograma de peso vivo.

	Machos		Fêmeas			
	Variação	Média	Ovígeras		Não ovígeras	
			Variação	Média	Variação	Média
Comprimento (mm)	11,2 – 12,3	11,808	12,9 – 14,4	13,836	5,8 – 15,1	10,487
Diâmetro maior (µm)	162 – 198	180	180 – 234	207	144 – 252	169
Diâmetro extremidade anterior (µm)	44 – 64	54	56 – 66	60	68 – 81	71
Esôfago (µm)	202 – 225	210	246 – 278	262	212 - 289	260
Diâmetro entre vulva e ânus (µm)	-	-	95 – 130	113	68 – 105	94
Expansão cuticular (µm)	-	-	17 – 110	52	13 – 18	16
Ovos (µm)	-	-	-	40X32	-	-
Espículo maior (µm)	476 – 511	493	-	-	-	-
Espículo menor (µm)	441 – 455	433	-	-	-	-
Diferença entre os espículos (µm)	35 – 56	45	-	-	-	-
Largura bolsa copuladora (µm)	59 – 79	69	-	-	-	-
Distância entre vulva e ânus (µm)	-	-	102 – 144	119	68 - 110	89





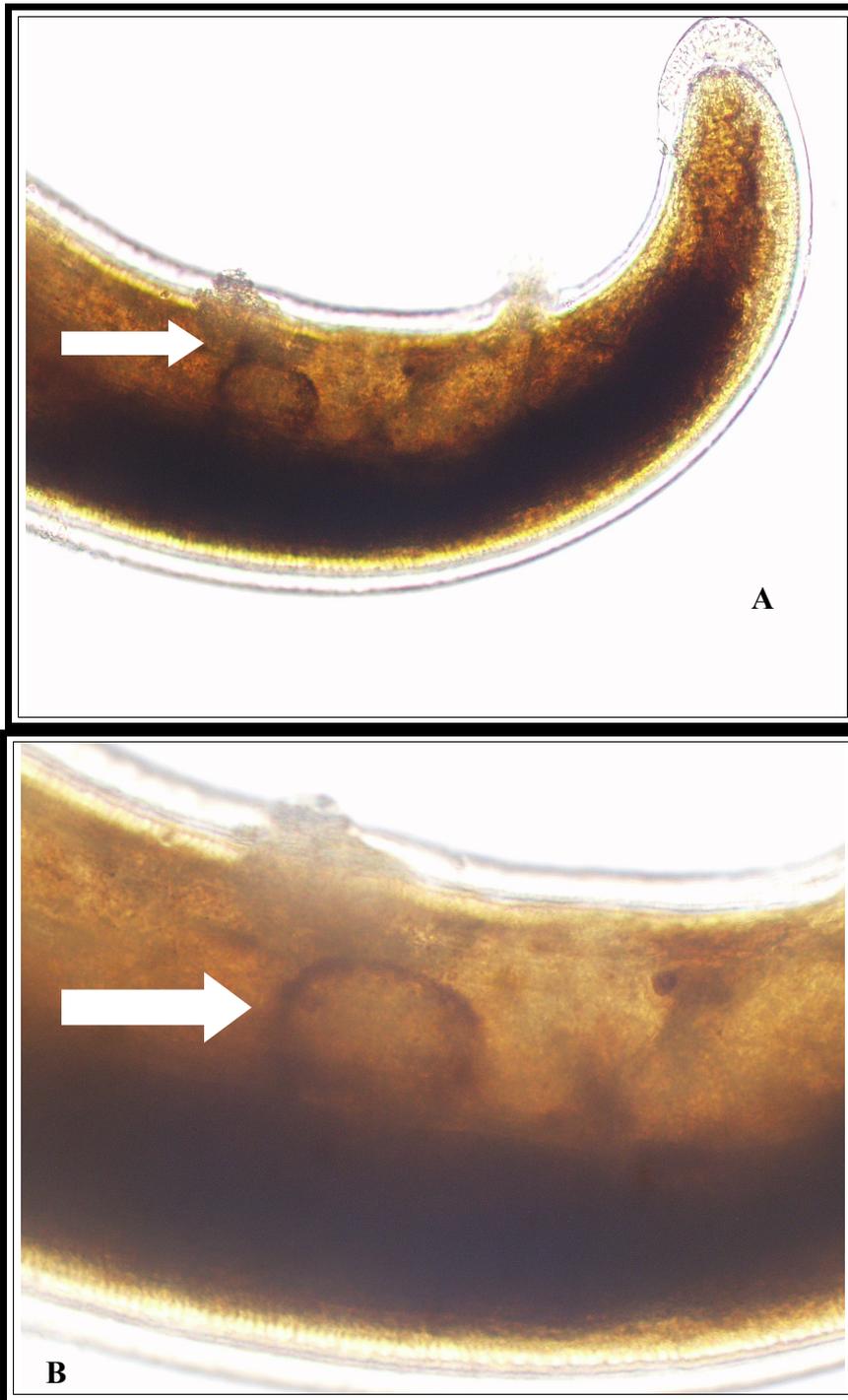
**FIGURA 04** – Porção medial de uma fêmea (A) e de um macho (B) de *Angiostrongylus vasorum* recuperados de um gato inoculado experimentalmente com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 55 dias após a inoculação. As setas (←) indicam o aparelho reprodutor. Observar a cutícula transparente e, nas fêmeas, o aspecto helicoidal do aparelho reprodutor em torno do tubo digestivo. Microscópio óptico: aumento 40X.



**FIGURA 05** – Extremidade anterior de uma fêmea de *Angiostrongylus vasorum* recuperada de um gato infectado experimentalmente com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 55 dias após a inoculação. A seta (←) indica o esôfago claviforme. Microscópio óptico: aumento 10X.



**FIGURA 06** – Extremidade posterior de uma fêmea de *Angiostrongylus vasorum* recuperada de um gato infectado experimentalmente com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 55 dias após a inoculação. A seta (←) indica a expansão cuticular característica da espécie. Microscópio óptico: aumento 10X.



**FIGURA 07 A e B**– Extremidade posterior de uma fêmea ovígera de *Angiostrongylus vasorum* recuperada de um gato experimentalmente infectado com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 60 dias após a inoculação. As setas (→) mostram o ovo no interior do aparelho reprodutor. Microscópio óptico: aumento de 10X (A) e 40X (B).



**FIGURA 08** – Extremidade posterior de uma fêmea adulta não ovígera de *Angiostrongylus vasorum* recuperada de um gato experimentalmente infectado com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 55 dias após a inoculação. Microscópio óptico: aumento 10X.



**FIGURA 09** – Porção mediana de uma fêmea adulta não ovígera de *Angiostrongylus vasorum* recuperada de um gato experimentalmente infectado com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 55 dias após a inoculação. Microscópio óptico: aumento 40X.



**FIGURA 10** – Extremidade posterior de um macho adulto de *Angiostrongylus vasorum* recuperado de um gato experimentalmente infectado com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 55 dias após a inoculação. Microscópio óptico: aumento 10X.



**FIGURA 11** – Extremidade posterior de um macho adulto de *Angiostrongylus vasorum* recuperado de um gato experimentalmente infectado com 50 larvas de terceiro estágio/quilograma de peso vivo, morto aos 55 dias após a inoculação. Microscópio óptico: aumento 40X.

## *VI – DISCUSSÃO*



## **VI. 1. IMUNOSSUPRESSÃO**

A literatura sobre o uso de metilprednisolona injetável (intramuscular) é escassa. A maioria dos relatos utiliza a prednisolona oral como agente imunossupressor.

A dosagem de prednisolona utilizada neste trabalho foi inferior à sugerida por Cohn (1997), que propõe 2-8 mg/kg aplicados via oral, uma ou duas vezes ao dia para tratamento de doenças auto-imunes.

No entanto, neste trabalho o efeito da imunossupressão pôde ser constatado em diversos parâmetros clínicos, nas contagens de diversos tipos celulares e na recuperação de vermes adultos, como será discutido adiante. A redução na dosagem da droga aos +30 DAI teve como finalidade manter o quadro de imunossupressão e evitando o agravamento dos efeitos colaterais provocados pelo uso contínuo da prednisolona.

Os animais do grupo A, que tiveram um quadro de imunossupressão induzido com a aplicação de acetato de metilprednisolona, apresentaram desde o início do tratamento quadros marcantes de apatia, fraqueza muscular e fragilidade (ou adelgaçamento) tissular. Estes achados concordam com os trabalhos de Middleton et al. (1987), Chandler & Hilbery (1988), Miller (1997) e Plumb (2002), que relacionam estes achados com o uso prolongado desta droga.

Apesar de os animais não terem sido medidos (altura e comprimento), foi possível observar que os animais imunossuprimidos (grupo A) cresceram menos que os animais do grupo B, que apresentaram um crescimento corpóreo acentuado. Esta observação concorda com o descrito por Plumb (2002), que afirma que o crescimento dos ossos

pode ser inibido pela inibição do hormônio do crescimento, aumento da excreção de cálcio e inibição da ativação da vitamina D provocados pelo uso crônico de corticosteróides.

Na avaliação clínica dos animais destaca-se a presença de animais do grupo A com desidratação moderada. Isso pode ser justificado pelo fato de que o tratamento com glicocorticóides deprime a reabsorção de água nos rins (Fraser, 1996). Em 1987, Middleton et al. descreveram, comparando gatos saudáveis e gatos experimentalmente tratados com prednisolona, a ingestão de menor volume de água por estes últimos.

O horário de aplicação da droga foi escolhido com base no trabalho de Chandler & Hilbery (1988), que colocam a importância de se observar o período do dia em que o animal possui maior taxa metabólica da droga. Neste caso, foi escolhido o período vespertino, uma vez que os gatos são animais de hábitos noturnos.

## **VI. 2. INOCULAÇÃO**

Ao contrário dos trabalhos de Ribeiro (2001) e Barçante (2004), que observaram a manifestação de vômitos e contrações abdominais em gatos inoculados com *Aelurostrongylus abstrusus* e cães inoculados com *Angiostrongylus vasorum*, respectivamente, a inoculação de larvas infectantes de *A. vasorum* em gatos não provocou quaisquer manifestações clínicas durante o retorno anestésico e até duas horas após o retorno anestésico. O jejum a que os animais foram submetidos antes da infecção e o protocolo anestésico utilizados visavam prevenir vômitos, garantindo a inoculação.

A ausência de vômitos ou contrações abdominais nos animais do grupo controle deixa evidente que a ingestão de tecidos de caramujos não infectados não causa desconforto gástrico e vômito, contradizendo os trabalhos de Chandler & Hilbery (1988), Pennisi et al. (1994), Hamilton (1996) e Ribeiro (2001).

Cury (1999) e Barçante (2004) em infecções experimentais de *A. vasorum* em cães observaram manifestações clínicas, tais como vômitos e contrações abdominais, nos animais inoculados com 100 L<sub>3</sub>/Kg p.v.. Ribeiro (2001) trabalhando com gatos, inoculou experimentalmente 800 L<sub>3</sub> de *A. abstrusus* por animal e também observou o desencadeamento instantâneo de vômitos na maioria dos animais. Guilhon & Cens

(1970) não fornecem detalhes a respeito da infecção e da reação dos animais à mesma, no entanto, o inóculo fornecido a cada animal variou de 600 a 3333 L<sub>3</sub>/Kg p.v., com média de 1560 L<sub>3</sub>/Kg p.v.. Neste trabalho o maior inóculo dado a um animal foi de 75 L<sub>3</sub> de *A. vasorum* o que sugere que o inóculo pode estar intimamente relacionado com a manifestação clínica após a infecção.

Nos exames de fezes realizados diariamente até o terceiro dia após a inoculação não foi constatada a presença de L<sub>3</sub> que, porventura não tivessem penetrado na mucosa gástrica e/ou intestino delgado e, portanto, tivessem sido eliminadas nas fezes. Este fato, associado à ausência de vômito e ao encontro de L<sub>3</sub> no pâncreas e vesícula biliar de gatos mortos dias após a inoculação, sugerem a penetração da maioria das larvas inoculadas.

### **VI. 3. EXAMES COPRO-PARASITOLÓGICOS**

A ausência de larvas de primeiro estágio nas fezes de todos os animais durante os 60 dias de experimento concorda com os resultados apresentados por Guilhon & Cens (1970), que acompanharam gatos experimentalmente infectados por períodos que variaram de 33 dias até 12 meses sem eliminação larvária.

Este fato pode estar relacionado com o encontro de fêmeas adultas vivas, não ovígeras na artéria pulmonar de alguns animais ou com a destruição de ovos eliminados pelas fêmeas ovígeras o que será discutido mais adiante. Além disso, a pequena taxa de conversão em vermes adultos, dificulta o encontro de fêmeas e machos nos vasos sanguíneos, o que impossibilita a cópula e conseqüente formação de ovos e eliminação larvária.

### **VI. 4. EXAMES CLÍNICOS**

A infecção por *A. vasorum* não provocou alterações da frequência cardíaca, pulso-femural e respiratória dos animais experimentalmente inoculados. Todos os grupos permaneceram acima dos limites fisiológicos normais durante todo o experimento. Este fato justifica-se pelo fato de os gatos apresentarem um comportamento de estresse durante o manejo e a contenção para a realização dos exames clínicos, que eram feitos sem sedativo. Ribeiro (2001) trabalhando com gatos jovens e adultos infectados

experimentalmente com *A. abstrusus* observou o mesmo aumento nas frequências cardíaca e respiratória.

A ocorrência de sinais clínicos ligados ao aparelho respiratório, tais como dispnéia e dificuldade na inspiração pode estar intimamente relacionada ao parasito. Cães infectados por *A. vasorum* apresentam lesões pulmonares bilaterais, quadros de congestão, edema, inflamação granulomatosa e hepatização do parênquima pulmonar (Prestwood et al., 1981; Costa & Tafuri, 1997). Este tipo de resposta inflamatória, comum a qualquer parasito pulmonar e a qualquer hospedeiro, pode ter levado ao estabelecimento de um estado ventilatório anormal, caracterizado por quadros de descompensação respiratória e aumento no ritmo respiratório de alguns animais.

#### **VI. 4. 1. INGESTÃO DE ALIMENTO**

A quantidade de ração fornecida aos animais foi determinada com base na recomendação do fabricante e através de observações realizadas antes do período experimental.

De acordo com Miller (1997), Cohn (1997) e Plumb (2002), gatos tratados com doses elevadas de metilprednisolona ou com uso crônico da droga tendem a desenvolver vários efeitos adversos. Entre eles polifagia e ganho de peso.

No entanto, neste trabalho, os animais do grupo A, apresentaram comportamento diferente. Neste caso, os animais tratados com metilprednisolona durante 67 dias diminuíram a ingestão de alimento ao longo do período experimental. Estes animais consumiram 29,43g menos de ração, se comparados aos animais do grupo B, com mesma idade. Conseqüentemente, perderam peso e massa corpórea. Middleton et al. (1987) acompanharam gatos tratados com 2mg/kg de prednisolona por 16 dias e não observaram aumento na ingestão de alimento.

A perda de massa corpórea e diminuição no depósito de gordura e conseqüente perda de peso do grupo A podem ser justificados pelo uso prolongado de glicocorticóides que leva a um aumento da liberação de aminoácidos a partir de músculos, pele e tecido conjuntivo. Estes aminoácidos são convertidos em glicose que é liberada na urina (glicosúria) (Fraser, 1996).

## **VI. 5. HEMOGRAMA**

### **VI. 5. 1. CONTAGEM GLOBAL DE HEMÁCIAS E VOLUME GLOBULAR**

O uso de glicocorticóides em mamíferos leva ao aumento no volume sangüíneo, devido a maior produção de hemácias pela medula óssea, diminuição no tempo de remoção de hemácias velhas e conseqüente aumento no número de hemácias circulantes (Spinosa, 2002).

Os animais do grupo A apresentaram queda na contagem global de hemácias e no volume globular entre os dias +15 e +30 DAI. Em cães, sabe-se que nesta fase da infecção o parasito já atingiu o estágio adulto hematófago (Rosen et al., 1970; Barçante, 2004; Cury, 1999). Apesar de o ciclo biológico do parasito ser uma incógnita em gatos, neste trabalho houve o encontro de verme adulto no pulmão aos +30 DAI (gato 09 – grupo C), o que sugere que o tempo de desenvolvimento do parasito seja semelhante em cães e gatos.

Os animais do grupo A apresentaram maior número de vermes adultos recuperados (42,86% do total). Visto que o *A. vasorum* é um parasito hematófago, o número de vermes adultos está intimamente relacionado ao aumento na espoliação sanguínea. Associa-se a isso, o fato de os animais deste grupo estarem imunossuprimidos e, portanto, mais suscetíveis à infecção, o que é comprovado pelo menor número de animais com reação inflamatória de combate ao parasito (granulomas).

Já os animais do grupo B e controle, apresentaram uma variação normal, dentro dos limites fisiológicos. No grupo B, a hematofagia por parte do parasito provavelmente foi menor, uma vez que este grupo apresentava uma “linha de defesa” contra o parasito, o que pôde ser percebido pelo número de animais que apresentaram reações granulomatosas no parênquima pulmonar e, conseqüentemente, uma menor recuperação de vermes adultos vivos.

### **VI. 5. 2. CONTAGEM GLOBAL DE LEUCÓCITOS**

De maneira geral, as infecções causadas por helmintos têm uma característica de induzir uma resposta aguda inicial que tende a se tornar crônica e de longa duração (Yazdanbakhsh et al., 2001).

Os glicocorticóides afetam direta ou indiretamente a cinética de leucócitos, defesas fagocíticas, imunidade célula-mediada, imunidade humoral e produção de mediadores da inflamação (Cohn, 1997).

Variações no número de leucócitos podem ocorrer em situações fisiológicas ou de doença. Aumentos nos níveis de corticóides endógenos ou exógenos estão associados com alterações previsíveis nas contagens total e diferencial de leucócitos. A resposta típica consiste em neutrofilia, linfopenia e eosinopenia.

Os animais do grupo A, que receberam tratamento com metilprednisolona, apresentaram aumento significativo no número de leucócitos. Este tipo de resposta é típica de um leucograma de estresse, onde a leucocitose ocorre devido à neutrofilia, como será visto a seguir.

Hoffmann-Jagielska et al.(2003) estudaram a influência da dexametasona na celularidade de gatos, utilizando uma dosagem imunossupressora e observaram leucocitose periférica.

Os animais dos grupos B e controle apresentaram uma variação da contagem de leucócitos normal, dentro dos limites fisiológicos estabelecidos por Fraser (1996).

### **VI. 5. 3. CONTAGEM DIFERENCIAL DE CÉLULAS**

#### **VI. 5. 3. 1. NEUTRÓFILOS**

No trabalho de Hoffmann-Jagielska et al. (2003) citado anteriormente, os autores observaram que o aumento no número de leucócitos acompanha o aumento no número de neutrófilos.

Os animais do grupo A apresentaram um quadro de neutrofilia que se estendeu durante grande parte do período experimental. Segundo Cohn (1997) em leucogramas de estresse é comum a observação de neutrofilia madura. Especialmente em gatos, onde o *pool* marginal de neutrófilos é cerca de duas a três vezes maior que o *pool* circulante, o tratamento com glicocorticóides faz com que o *pool* marginal se “desprenda” do

endotélio e passe à circulação, aumentando o número de neutrófilos circulantes (Jain, 1986).

A elevação nos níveis de corticóides na circulação, sejam eles endógenos ou exógenos, faz com que os neutrófilos permaneçam mais tempo no compartimento marginal, amadurecendo mais e ficando com o núcleo hipersegmentado, o que caracteriza um desvio de neutrófilos à direita (Jain, 1986).

O papel dos neutrófilos é atuar como células ativas quando um trauma, toxinas, hemorragia, isquemia, injúria ou invasão bacteriana, viral ou parasitária, que ocorram nos tecidos, sendo mobilizadas para estes locais por diapedese ou ação amebóide atraídos por agentes quimiotáticos das células lesadas para fagocitose (Swenson, 1996).

No caso da infecção por *A. vasorum*, os neutrófilos agem como primeira linha de defesa. Nos animais do grupo A (imunossuprimidos) provavelmente a permeabilidade do endotélio estava diminuída, dificultando a marginação e a diapedese dos neutrófilos até o foco inflamatório. Com isso estas células ficam mais tempo na corrente sanguínea, aumentando a contagem de neutrófilos segmentados (desvio à direita) (Cohn, 1997; Spinosa, 2002).

Nos animais do grupo B, o número de neutrófilos circulantes se manteve dentro dos valores fisiológicos normais. Nestes animais foi observado maior resposta no combate a parasitos adultos, que incluíram a formação de nódulos de onde foram recuperados parasitos mortos. Isso se justifica, ao contrário dos animais do grupo A, pelo perfeito funcionamento do sistema de defesa destes animais, permitindo que os neutrófilos alcancem o foco inflamatório.

Os animais do grupo controle apresentaram variações normais no número neutrófilos circulantes.

### **VI. 5. 3. 2. MONÓCITOS**

A ocorrência de maiores contagens de monócitos pode estar relacionada com o aumento da monocitopoiese, que ocorre em doenças onde seja necessário, no foco infeccioso, maior número de macrófagos (Willard et al., 1994). Associado a isto, ocorre também a

diminuição da permeabilidade do endotélio, que dificulta a passagem deste tipo celular para o tecido, passando a macrófago tecidual (Jain, 1986; Spinosa, 2002).

Em 2004, Barçante observou, em cães experimentalmente infectados com *A. vasorum*, um aumento na celularidade pulmonar, inclusive macrófagos, especialmente na fase aguda da infecção, uma vez que os valores tendem a reestabelecer a normalidade.

Os animais do grupo A apresentaram um aumento significativo no número de monócitos circulantes entre o dia 0 e +60 DAI. Já os animais do grupo B, o fizeram entre -7 e +15 DAI e entre +45 e +60 DAI.

Diminuições nas contagens de monócitos, observadas durante o experimento, apesar de se manterem acima dos valores fisiológicos normais (exceto no dia 0 – grupo A), não foram consideradas importantes, uma vez que, baixas contagens e até mesmo a ausência de monócitos no sangue são consideradas normais em gatos (Willard et al., 1994).

#### **VI. 5. 3. 3. LINFÓCITOS**

Segundo Barçante (2004), cães infectados por *A. vasorum* apresentam maiores elevações no número de linfócitos durante a fase aguda da infecção, quando antígenos do parasito são liberados na corrente sanguínea e nos linfonodos mesentéricos estimulando a diferenciação e migração destas células.

Neste estudo foi possível observar que a maior contagem deste tipo celular para o grupo B ocorreu antes do grupo A (imunossuprimido). Para os animais do grupo B o pico ocorreu aos +15 DAI e para o grupo A aos +30 DAI. Não foram encontradas diferenças estatísticas entre os grupos. Este resultado concorda como de Middleton (1987) que, ao trabalhar com imunossupressão, também encontrou valores dentro dos limites fisiológicos para este tipo celular no grupo imunossuprimido e não imunossuprimido.

#### **VI. 5. 3. 4. EOSINÓFILOS**

A elevação das contagens de eosinófilos observadas neste trabalho relaciona-se ao fato de existir uma infecção helmíntica em curso (Cara et al., 2000). Em casos de infecções helmínticas, a eosinofilia pode ser um reflexo de hipersensibilidade à proteína do

parasito ou de seus produtos de secreção e excreção, sendo proporcional ao grau de estimulação antigênica (Jain, 1986; Pritchard, 1997).

Neste estudo foi possível observar um aumento na contagem de eosinófilos para os dois grupos inoculados com *A. vasorum* (A e B) aos +15 DAI, período que coincide, no cão, com a fase de mudança de estágio, migração do parasito e maturação sexual, onde há intensa liberação de antígenos de secreção e excreção diretamente na corrente sanguínea.

Na angiostrongilose canina, a resposta imune induz a formação de granulomas resultantes da resposta inflamatória contra ovos e larvas do parasito, na qual os macrófagos e os eosinófilos são as principais células participantes (Barçante, 2004). Aqui, pôde-se observar a mesma formação granulocítica.

## **VI. 6. NECRÓPSIA E ACHADOS PARASITOLÓGICOS**

Guilhon & Cens (1973) descreveram o ciclo biológico do *A. vasorum* em cães domésticos experimentalmente infectados. Os autores observaram que, 24hs após a inoculação, as L<sub>3</sub> já são encontradas livres (sem cutícula L<sub>2</sub>) nos linfonodos mesentéricos. No quinto dia de infecção já são encontradas L<sub>5</sub> nos linfonodos e, por volta do nono dia de infecção já é possível encontrar o parasito jovem no coração. Em momento algum os autores descrevem a passagem por quaisquer órgãos, exceto a passagem pelo fígado (circulação porta-hepática).

O encontro de larvas de terceiro estágio (L<sub>3</sub>) no pâncreas (gato 7 – grupo C) e na vesícula biliar (gato 8 – grupo C) não havia sido descrito antes em nenhum hospedeiro definitivo.

Anatomicamente, o encontro da L<sub>3</sub> no pâncreas do gato 07 pode ser justificado durante a penetração da L<sub>3</sub> na mucosa gástrica e/ou duodeno, quando, então, esta larva pode alcançar o pâncreas acidentalmente e não conseguindo alcançar a corrente linfática e, conseqüentemente, os linfonodos mesentéricos.

Uma possível explicação para o encontro de uma larva L<sub>3</sub> na vesícula biliar do gato 08, quinze dias após a inoculação é que, durante a penetração, esta larva tenha ganhado a circulação porta-hepática e alcançado a vesícula biliar.

Em nenhum destes dois animais (gato 07 e 08) foram encontrados quaisquer outras formas evolutivas em nenhum outro órgão.

#### **VI. 6. 1. RECUPERAÇÃO DE VERMES ADULTOS E PATOGENIA**

Estes dados são inferiores aos apresentados por Guilhon & Cens (1970) que realizaram a infecção experimental por *A. vasorum* em gatos, fornecendo um inóculo médio de 1560L<sub>3</sub>. Os autores encontraram uma taxa de recuperação de vermes adultos variando de 3,2 a 20,4%. Provavelmente a menor proporção encontrada neste trabalho (**Tabela 2**) foi devido ao inóculo fornecido aos animais.

Sabe-se que o número de parasitos adultos recuperados está intimamente relacionado com o tipo de resposta do hospedeiro. Como já foi discutido anteriormente, os animais do grupo B mostraram-se responsivos à infecção.. No entanto isso não parece ter influenciado na recuperação de parasitos adultos e sim à patogenia da doença.

Apesar de não ter sido contabilizado como um animal positivo, devido à não recuperação de parasitos vivos, íntegros, o gato número 21 (grupo B) apresentava à necrópsia o pulmão com muitos granulomas, dos quais, em alguns deles foram recuperados fragmentos de parasitos mortos, não quantificados. Este fato demonstra que este animal apresentou resposta ao parasito, matando-o.

O processo inflamatório resultante da presença do parasito nas artérias (endarterite) leva a um quadro de pneumonia intersticial, caracterizada macroscopicamente pela presença de nódulos na superfície dos pulmões (Bolt et al., 1994).

Segundo Prestwood et al. (1994), estudando cães em fase crônica da angiostrongilose, a formação de granulomas em torno do vaso leva a fibrose e, em casos de alta infecção, endurecimento dos pulmões, conseqüente de fibrose, o que pode levar a quadros clínicos respiratório da doença.

Os gatos infectados por *A. vasorum* não apresentaram sinal clínico da doença, como tosse seca, secreção nasal, presença de muco na árvore respiratória, observada freqüentemente em cães, estão mais relacionados à eliminação larvária para o meio exterior.

#### **VI. 6. 2. MORFOMETRIA**

Os parasitos recuperados foram identificados como *A. vasorum*. A **Quadro 02** mostra as medidas obtidas neste trabalho e nos trabalhos de Lima et al. (1985), Guilhon & Cens (1973) e Costa et al.(2003).

**QUADRO 02** – Comparação de medidas médias de parasitos adultos de *Angiostrongylus vasourm* neste trabalho e nos trabalhos de Lima et al. (1985) e Guilhon & Cens (1973).

CARACTERÍSTICA	Guilhon & Cens, 1973		Lima et al., 1985		Presente trabalho		
	Macho (média)	Fêmea (média)	Macho (média)	Fêmea (média)	Macho (média)	Fêmea não ovígera (média)	Fêmea ovígera (média)
<b>Comprimento (mm)</b>	15	18	12,6	16,6	11,808	10,487	13,836
<b>Diâmetro maior (µm)</b>	200	270	284,5	349,5	180	169	207
<b>Diâm. extremidade anterior (µm)</b>	-	-	62	69,5	54	71	60
<b>Esôfago (µm)</b>	250	265	310	376,5	210	260	262
<b>Diferença entre os espículos (µm)</b>	30	-	20	-	45	-	-
<b>Espículo maior (µm)</b>	480	-	518	-	493	-	-
<b>Espículo menor (µm)</b>	450	-	490,5	-	433	-	-
<b>Distância vulva/ânus (µm)</b>	-	180	-	135,5	-	89	119
<b>Ovos (µm)</b>	-	-	-	48	-	-	45X32
<b>Expansão cuticular (µm)</b>	-	-	-	49	-	16	52

Guilhon & Cens (1970) foram os únicos a relatar o encontro de fêmeas não ovígeras em infecção experimental de gatos. Ainda sim os autores não realizaram a morfometria dos parasitos encontrados. Neste trabalho ficou evidente a diferença no tamanho das fêmeas não ovígeras para as fêmeas ovígeras.

Entre os parasitos recuperados neste experimento, destaca-se a diferença entre as fêmeas ovígeras e não ovígeras. As fêmeas não ovígeras são, em média, cerca de 25% menores que as fêmeas ovígeras. Em diâmetro, as primeiras são, em média, cerca de 20% menores que as demais. A distância entre a cauda e a bainha da extremidade posterior é, nas fêmeas não ovígeras, em média, cerca de 70% menor que nas fêmeas ovígeras.

Comparando as medidas dos vermes adultos de *A. vasorum* recuperados de gatos e os vermes recuperados dos cães necropsiados por Lima et al. (1985), as fêmeas ovígeras recuperadas dos gatos deste experimento eram, em média, cerca de 15% menores que as fêmeas recuperadas por Lima et al. (1985), já as fêmeas não ovígeras eram, em média, cerca de 35% menores.

Os vermes adultos recuperados, fêmeas e machos, eram também, em média, mais finos que os recuperados de cães, especialmente as fêmeas não ovígeras, que se mostraram cerca de 52% menores que as fêmeas recuperadas de cães (Lima et al., 1985).

Além destas diferenças entre as fêmeas, destacam-se também a diferença de tamanho entre o esôfago e o espículo menor dos machos, que nos adultos recuperados por Lima et al. (1985) eram maiores do que os encontrados neste trabalho.

## **VI. 7. PERSPECTIVAS FUTURAS**

Este trabalho demonstra que o número de possíveis hospedeiros definitivos para o *A. vasorum* pode ser maior do que o já descrito na literatura. A infecção na fase aguda de gatos domésticos por este parasito comprova que podem ocorrer casos de infecção oculta, sem eliminação de L<sub>1</sub> nas fezes, e sem sintomatologia clínica.

A angiostrongilose é uma doença cujo diagnóstico de escolha é o encontro de larvas de primeiro estágio (L<sub>1</sub>) nas fezes de animais infectados. Entretanto, este trabalho, apesar de ter mostrado que *A. vasorum* seja uma espécie capaz de se desenvolver em vermes adultos em gatos domésticos, não foi observada a eliminação de larvas nas fezes. Assim o acompanhamento parasitológico de gatos experimentalmente infectados por mais tempo pode mostrar se o gato é realmente capaz de vencer a infecção e combater o parasito adulto e/ou ovos e/ou L<sub>1</sub>.

Dessa forma, um estudo mais aprofundado sobre o ciclo biológico do parasito em gatos, bem como maior detalhamento da resposta celular e complementação dos estudos com avaliação da resposta humoral, permitirá avanços no que diz respeito à proteção do hospedeiro definitivo habitual.

## *VII – CONCLUSÕES*



1 – Gatos domésticos são permissíveis à infecção por *Angiostrongylus vasorum*, uma vez que alguns animais desenvolvem a forma adulta do parasito. No entanto, as fêmeas podem ser ovígeras ou não, sendo, as últimas, menores. Até os 60 dias de infecção a infecção ocorre de forma oculta, uma vez que não é observada a eliminação de L<sub>1</sub> nas fezes de gatos infectados.

2 – A infecção por *A. vasorum* pode provocar no pulmão de gatos uma reação inflamatória caracterizada, macroscopicamente, pela presença de nódulos e, microscopicamente, por um quadro de pneumonite infiltrativa, endarterite e formação de granulomas.

3 – Gatos imunossuprimidos e infectados por *A. vasorum* apresentam menor reação inflamatória pulmonar e maior recuperação de parasitos adultos, em relação a gatos não imunossuprimidos.

4 – A imunossupressão induzida pela metilprednisolona provoca, em gatos, quadro de apatia e flacidez da pele com fragilidade tissular da derme.

5 – A infecção por *A. vasorum* pode levar, em gatos domésticos, a quadros de descompensação respiratória e dispnéia.

*VII – BIBLIOGRAFIA*



ACEDO, C.S.; DIEZ, J.B.; MORALES, J.G. Angiotrongylosis canina. **Rev. Iber. Parasitol.**, v. 39, p. 135-142, 1979.

BAILLET, C.C. Strongle des vaisseaus et du coeur du chein *Strongylus vasorum* (Nobis). **N. Dict. Paract. Med. Vet.**, v. 8, p. 587-588, 1866.

BARÇANTE, J.M.P.; BARARÇANTE, T.A.; DIAS, S.R.C.; VIEIRA, L.Q.; LIMA, W.S.; NEGRÃO-CORRÊA, D. A method to obtain axenic *Angiostrongylus vasorum* first-stage larvae from dog feces. **Parasitol. Res.**, v. 89, p. 89-93, 2003.

BARÇANTE, J.M.P. **Aspectos parasitológicos, clínicos e imunológicos de cães experimentalmente infectados com *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) Kamensky, 1905.** 2004. 178 p. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

BOLT, G.; MONRAD, J.; FRANSEN, F.; HENRIKESSEN, P.; DIETZ H.H. The common frog (*Rana temporaria*) as a potential paratenic and intermediate host for *Angiostrongylus vasorum*. **Parasitol. Res.**, v. 79, n. 5, p. 428-430, 1993.

BOLT, G.; MONRAD, J.; KOCH, J.; JENSEN, A.L. Canine angiostrongylosis: a review. **Vet. Rec.**, v. 5, p. 447-452, 1994.

BOURDEAUX, P. L'angiostrongylose canine. **Rev. Méd. Vét.**, v. 5/6, p. 401-407, 1993.

BWANGAMOI, O. *Angiostrongylus vasorum* and other worms in dogs in Uganda. **Vet. Rec.**, v. 19, n 11, p. 267, 1972.

BWANGAMOI, O. Renal lymphoid and pulmonary lesions in naturally acquired canine angiostrongylosis in Uganda. **Bul. Epiz. Dis. Africa**, v. 22, p. 55-68, 1974.

CARA, D.C.; NEGRÃO-CORRÊA, D.; TEIXEIRA, M.M. Mechanisms underlying eosinophil trafficking and their relevance in vivo. **Histol. Histopathol.**, v. 15, p. 899-920, 2000.

CARUSO, J.P.; PRESTWOOD, A.K. Immunopathogenesis of canine Anggiostrongylosis: Pulmonary effects of Infection. **Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis**, v. 11, p. 85-92, 1988.

CHANDLER, E.A.; HILBERY, A.D.R. **Medicina e terapêutica de felinos.** 2 ed. São Paulo: Editora Manole, 1988.

COHN, L.A. Glicocorticosteroids as immunossupressive agents. **Sem. Vet. Méd. Surgery**, v. 12, n 3, p. 150-156, 1997.

COSTA, J.O. **Angiostrongylus vasorum (Baillet, 1866) Kamensky, 1905: considerações taxonômicas, patológicas e de diagnóstico imunológico (ELISA) em cães experimentalmente infectados.** 1992. 135p. Tese (Doutorado em Ciências Parasitárias) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

COSTA, J. O.; ARAUJO-COSTA, H.M.; GUIMARÃES, 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. Méd. Vét.**, v. 154. n 1, p. 9-19, 2003.

COSTA, J.O.; LIMA, W. dos S.; NASCIMENTO, E. Immunodiagnosis by ELISA test of experimental canine angiostrongylosis. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, v. 48, n. 4, p. 491-495, 1996.

COSTA, J.O.; TAFFURI, W.L. Estudo anátomo-patológico de cães infectados experimentalmente pelo *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) Kamensky, 1905. **Arq. Bras. Méd. Vet. Zootec.**, v. 49, p. 389-407, 1997.

CURY, M.C.; LIMA, W. dos S. Ocorrência de *Angiostrongylus vasorum* no rim de cão experimentalmente infectado. **Arq. Bras. Med. Vet. Zoot.**, v. 47, n 4, p. 593-595, 1995.

CURY, M.C.; LIMA, W. dos S. Aspectos clínicos de cães infectados experimentalmente com *Angiostrongylus vasorum*. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.**, v. 48, n 1, p. 27-34, 1996.

CURY, M.C.; LIMA, W. dos S.; VITOR, R.W.A. Enzyme-linked Immunosorbent assay for the diagnosis of *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) infection in dogs. **Rev. Méd. Vet.**, v. 147, n 7, p. 525-530, 1996.

CURY, M.C. **Angiostrongilose canina: avaliação das alterações sangüíneas, hepáticas, renais, pulmonares e cardíacas em cães inoculados experimentalmente com *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) Kamensky, 1905.** 1999. 213 p. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

DARRASPEN, E.; FLORIO, R.; GUEDOT, B. Eletrocardiographie et strongylose cardio-pulmonarie du chien. **Rev. Méd. Vet.**, v. 16, p. 674-689, 1953.

DIAS, S.R.C.; BARÇANTE, J.; VASCONCELOS, V.; OLIVEIRA, E.; RAJÃO, D.; LIMA, W. *Meriones unguiculatus* e *Rattus norvegicus* como potenciais hospedeiros paratênicos de *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) Kamenky, 1905. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA E I SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO DE RICKETTSIOSSES, 13., 2004, Ouro Preto. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária. Belo Horizonte: Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, 2004, p. 272-272.

DODD, K. *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) infestation in a Greyhound Kennels. **Rev. Rec.**, v. 92, p. 195-197, 1973.

ECKERT, J.; LÄMMLER, G. Angiostrongylose bei Mensch und Tier. **Z. Parasitenk.**, v. 39, p. 303-322, 1972.

FEHRINGER, W.T.; FIEDLER, H.H. Dois novos casos de *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) do cão (*Canis familiaris*) em Salvador. **Arq. Esc. Méd. Vet. Salvador**, v. 2, p. 110-114, 1977.

FERREIRA NETO, J.M.; MAGALHÃES, L.M. **Patologia Clínica Veterinária**. Belo Horizonte: Rabelo, 1982. 279 p.

FRASER, C.M.. **Manual Merck de Veterinária**. 7ª ed. São Paulo: Editora Roca, 1996. 2169p.

GIOVANNONI, M.; FERNANDEZ, B. F.; KAVINSKI, L. C. Angiostrongilose do cão. **Arq. Biol. Tec. Paraná**, v. 28, n 4, p. 601-604, 1985.

GONÇALVES, P. C. *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866), novo parasita do cão do Rio Grande do Sul (Brasil). (Nematoda: Metastrongyloidea). **Rev. Agron. e Vet. Univ. Rio Grande do Sul**, v. 4, p. 35-40, 1961.

GOULD, S.M.; McLNES, E.L. Immune-mediated thrombocytopenia associated with *Angiostrongylus vasorum* infection in a dog. **J. Small Anim. Pract.**, v. 40, n 5, p. 227-232, 1999.

GUILHON, J. Rôle des limacidés dans le cycle évolutif d'*Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866). **Compt. Rend. Acad. Sci.**, v. 251, p. 2252-2253, 1960.

GUILHON, J. Evolution l'arvaire d'*Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) dans l'organisme d'arionidés. **Comp. Rend. Acad. Sci.**, v. 261, p. 4225-4227, 1965.

GUILHON, J.; CENS, B. Essais de transmission d'*Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) du chat. **Comp. Rend. Acad. Sci.**, v. 271, p. 936-939, 1970.

GUILHON, J.; BENEX, J.; MISHRA, G. S. Premiers essais de diagnostic immunologique de l'angiostrongylose canine à *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866). **Bull. Soc. Pathol. Exot.**, v. 64, n 2, p. 220-228, 1971.

GUILHON, J.; CENS, B. *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) Etude biologique et morfologique. **Ann. Parasitol.**, v. 48, n 4, p. 567-596, 1973.

HAMILTON, J.M. Experimental lungworm disease of the cat – association of the condition of lesions of the pulmonary arteries. **J. Comp. Pathol.**, v. 76, p. 147-157, 1996.

HOFFMANN-JAGIELSKA, M.; WINNICKA, A.; JAGIELSKI, D.; LECHOWSKI, R. Influence of dexamethasone on some cellular aspects of the immune system in cats. **Vet. Res. Comm.**, v. 27, n 8, p. 643-652, 2003.

HORTA-DUARTE, F.; LOUZADA, G.L.; VIEIRA, F.M.; VALENTE, A.M.; PIFANO, D.; BESSA, E.C.A.; SOUZA LIMA, S. Ocorrência de helmintos em *Cercocyon thous* Linnaeus, 1766 (Carnívora: Canidade) na Zona da Mata mineira. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOLOGIA, 25., 2004, Brasília.

JACOBS, D. E. & PROLE, J. H. B. *Angiostrongylus vasorum* and others nematodes in British Greyhounds. **Vet. Rec.**, v. 22, p. 180, 1975.

JAIN, C.N. **Schalm's veterinary hematology**. 4 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986. 1221p.

JONES, G.W.; NEAL, C.; TURNER, G.R.J. *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs in Cornwall. **Vet. Rec.**, v. 26, p. 83, 1980.

KAMENSKY, S. N. Sistematiche scoe polozhenieradov *Metastrongylus wots* in *Protostrongylus* g. n. sredi drugikh Strongylidae. **Sbrnik. Ttrudov Kkhard'kov. Vet. Insti.**, v. 7, n. 2, p. 17-20, 1905.

KOCH, J.; JENSEN, A.L.; MONRAD, J. *Angiostrongylus vasorum* infection in a Scottish terrier associated with gastric dilat. **J. Small Anim. Pract.**, v. 33, n 5, p. 239-241, 1992.

LANGENEGGER, J.; LANGENEGGER, A. M.; DARCOSO FILHO, P.; GOUVEIA, G. L. A.. 1962. Ocorrência da infestação por *Angiostrongylus vasorum* em cães do Rio de Janeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 7, 1962, p. 246-247.

LIMA, W.; COSTA, H. M. A.; GUIMARÃES, M. P.; LEITE, A. C. R. *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) Nematoda: Prothostrongylidae em cães de Minas Gerais, Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 80, n. 2, p. 233-235, 1985.

LIMA, W.S.; GUIMARÃES, M.P.; LEMOS, I.S. Occurrence of *Angiostrongylus vasorum* in the lungs of Brazilian fox *Dusicyon vetulus*. **J. Helminthol.**, v. 68, p. 87, 1994.

MAHAFFEY, M.B.; LOSONSKY, J.M.; PRESTWOOD, A.K.; MAHAFFEY, E.A.; LEWIS, R.E. Experimental Canine Angiostrongylosis: II. Radiographic Manifestations. **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.**, v. 17, p. 499-502, 1981.

MARTIN, N. W. S.; ASHTON, G.; SIMPSON, B. R. Angiostrongylosis in Cornwall: Clinical presentation of eight cases. **J. Small Ann. Pract.**, v. 34, p. 20-25, 1991.

MARTINS, R.F. **Apoptose e morfometria das lesões granulomatosas causadas pelo *Angiostrongylus vasorum* em cães.** 2004. Dissertação (Mestrado em Patologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

MIDDLETON, D.J.; WATSON, D.J.; HOWE, C.J.; CATERSON, I.D. Suppression of cortisol responses to exogenous adrenocorticotrophic hormone, and the occurrence of side effects attributable to glucocorticoid excess, in cats during therapy with megestrol acetate and prednisolone. **Can. J. Vet. Res.**, v. 51, p. 60-65, 1987.

MILLER, E. Immunosuppression – an overview. **Sem. Vet. Med. Surgery.**, v 12, n 3, p. 144-149, 1997.

MINGAUD, P.; MARTY, C.; CHARTIER, C. What is your diagnosis? *Angiostrongylus vasorum* infection in a dog. **Point. Vet.**, v. 23, n 141, p. 989-991, 1992.

MISHRA, G. S.; CENS, B. Eosinophilic variations and electrophoretic analysis of plasma of dogs infected with *Angiostrongylus vasorum*. **Indian Vet. J.**, v. 48, n 6, p. 633-640, 1971.

MISHRA, G. S.; BENEX, J. Immunological specificity of *Angiostrongylus cantonensis* and *A. vasorum* (Nematoda). **Indian J. Anim. Sc.**, v. 42, n 8, p. 614-617, 1972.

OLIVEIRA-JR., S.D. **Avaliação de aspectos clínicos, parasitológicos e imunológicos de cães reinfetados na fase crônica da angiostrongilose.** 2003. 137p. Dissertação (Mestrado em Parasitologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

PALLASKE, G. Zur Angiostrongylose des Hundes. **Deuts. Tier.**, v. 74, p. 166-167, 1967.

PATTESON, M.W.; GIBBS, C.; WOTTON, P. R.; DAY, M. J. *Angiostrongylus vasorum* infection in seven dogs. **Vet. Rec.**, v. 133, n 4, p. 565-570, 1993.

PENNISI, M.G.; NIUTTA, P.P.; GIANNETTO, S. Parasitos pulmonares en el gato. **Med. Vet.**, v. 11, p. 568-572, 1994.

PERRY, A. W.; HERTLING, R.; KENNEDY, M. J. Angiostrongylosis with disseminated larval infection associated with signs of ocular and nervous disease in an imported dog. **Canadian Vet. J.**, v. 32, n 7, p. 430-431, 1991.

PIERSON, P.; BIOURGE, V.; BOURRAT, P.; BENET, C.; CRÉPIN, F.; GARCIA, P.; MAURIN, S. **O livro do gato.** Descalvado: Royal Canin do Brasil, 1996. 56p.

PLUMB, D.C. **Veterinary Drug Handbook.** 4 ed. Iowa State Press, 2002. 854p.

POLI, A.; ARISPICI, M.; MARCONCINI, A.; MANCIANTI, F.; de MONTE, D. *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) in red foxes (*Vulpes vulpes*) in Italy. **Wild Dis.**, v. 20, p. 345-346, 1984.

POLIOGIANNI, F.; ARRUJA, S.S.; BALOW, J.P.; BALOW, J.E.; BOUMPAS, D.T. Novel mechanism of inhibition of human T cells by glucocorticoids. Glucocorticoids inhibit signal transduction through IL-2 receptor. **J. Immunol.**, v. 151, n 8, p. 4081-4089, 1993.

PRESTWOOD, A. K.; GREENE, C. E.; MAHHAFHEY, E. A.; BURGESS, D. E. Experimental canine angiostrongylosis: pathologic manifestations. **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.**, v. 17, n 3, p. 491-497, 1981.

PRITCHARD, D.I. The pro-allergic influences of helminth parasites. **Mem. Int. Oswaldo Cruz**, v. 92, p. 15-18, 1997.

RAILLIET, A.; CADIOT, J. 1892. Strongylose du coeur et du poumon chez un chien. **Compt. Rend. Soc. Biol.**, v. 44, p.482-486, 1892.

RAMSEY, J.D.; LITTLEWOOD, J.D.; DUNN, J.K.; HERRTAGE, M.E. Role of chronic disseminated intravascular coagulation in a case of canine angiostrongylosis. **Vet. Rec.**, v. 138, p. 360-363, 1996.

RIBEIRO, V.M. **Aspectos clínicos, citologia pulmonar, padrão radiológico, laboratorial e imunológico em gatos experimentalmente infectados e reinfectados com *Aelurostrongylus abstrusus* (Railliet, 1898)**. 2001. 212p. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

ROBERTS, F. H. S. Notes on some helminthes infesting domestic animals in Queensland. **Austral. Vet. J.**, v. 16, p. 30-33, 1940.

ROSEN, L.; ASH, L. R.; WALLACE, G. D. Life history of the canine lungworm *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866). **Am. J. Vet. Res.**, v. 31, p. 131-143, 1970.

SHELLING, C.G.; GREENE, C.E.; PRESTWOOD, A.K. Coagulation abnormalities with acute *Angiostrongylus vasorum* infection in dogs. **Am. J. Vet. Res.**, v. 47, n 12, p. 2669-2673, 1986.

SERRES, E. Entozoaires trouvés dans o'oreillette droit du coeur, le ventricule correspondant et l'artère pulmonaire dun chien. **J. des Vet. du Midi. Toulouse**, v. 2, n 7, p. 70-72, 1854.

STORER, T.I.; USINGER, R.L.; STEBBINS, R.C.; NYBAKKEN, J.W. **Zoologia geral**. 6 ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 2000. 816 p.

SWENSON, M.J. Propriedades fisiológicas e constituintes químicos e celulares do sangue. In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 19-43.

THIENGO, S.C. Mode of Infection of *Sarasinula marginata* (Mollusca) with larvae of *Angiostrongylus costaricensis*. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 91, n 3, p. 277-278, 1996.

TRAVASSOS, L. Nematódeos novos. **Bol. Biol. São Paulo**, v. 6, p. 52-61, 1927.

URQUHART, G.M.; ARMOUR, J.; DUNCAN, J.L.; DUNN, A.M.; JENNINGS, F.W. **Parasitologia veterinária**. 1 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1990. p. 65-66.

VETCITY. Lángiostrongylose. In:\_. **Veterinaire Europeen de Lánimal de Compagnie**. Disponível [http://www.vet-city.com/v2/fr/php/Maladies.php3?anim=2osis/charper\\_frm.asp](http://www.vet-city.com/v2/fr/php/Maladies.php3?anim=2osis/charper_frm.asp), acesso em 24/08/2005

WILLARD, M.D.; TVEDTEN, H.; TURNWALD, G.H. **Small animal clinical diagnosis by laboratory methods**. 2 ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company. 1994. 375p.

WILLIAMS, J. F.; LIDERMANN, B.; PADGET, G. A.; SMITH, O. L. *Angiostrongylus* in a Greyhound. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 186, n 10, p. 1101-1103, 1985.

YAMAGUTI, S. Systematic survey of nematodes of vertebrates and their host relationship. In:\_. **Systema helmintum; the nematodes of vertebrates**. New York: Interscience Publishers v. 3, pt.2, p. 681-704, 1961.

YAZDANBAKHSH, M.; BIGGELAAR, A.; MAIZELS, R.M. The responses with atopy: immunoregulation in chronic helminth infections and reduced allergic disease. **Trends Immunol.**, v. 22, n 7, p. 372-377, 2001.