

CDU 636.75:619.616.936

**IDENTIFICAÇÃO POR MÉTODO HISTOQUÍMICO, DE MICROFILÁRIAS DE
Dipetalonema reconditum, EM CÃES DE CAÇA, NO RECIFE**

LAURO RUBENS WANICK

Prof. Adjunto do Dep. de Biologia Geral da
Universidade Federal de Pernambuco
(UFPE).

**GUILHERME ANTÔNIO DA COSTA FI-
LHO**

Prof. Adjunto do Dep. de Medicina Veteriná-
ria da UFRPE. Pesquisador da Secretaria de
Agricultura do Estado de Pernambuco.

HENRY A. TERWEDOW

PhD em Biologia. Ex-Estagiário da Universi-
dade Federal da Bahia.

*Microfilárias de Dipetalonema reconditum foram identificadas parasitando
cães de caça em Recife, utilizando-se o método histoquímico de Barka.*

INTRODUÇÃO

Em levantamento estatístico realizado pela Disciplina Patologia Clínica em Medicina Veterinária, no Hospital Veterinário, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (COSTA FILHO² et alii, 1974), constatou-se haver maior incidência de microfilárias no sangue de cães de caça, em relação a cães domésticos, o que levou a se pensar na probabilidade de serem diferentes as espécies parasitando esses cães que vivem em áreas diversas, rural e urbana, respectivamente. No entanto surgiram obstáculos intransponíveis de ordem parasitológica, e os exames laboratoriais realizados somen-

te com as técnicas de diferenciação das características morfológicas em esfregaços corados pelo método de Giemsa não foram elucidativos. Resolvemos, por este motivo, empregar o método histoquímico de Barka, de evidênciação da atividade da fosfatase ácida, utilizado com sucesso por CHALIFOUX & HUNT¹ (1971) para distinguir a *Dirofilária immitis* que infesta cães domésticos da *Dipetalonema reconditum*, pesquisa que continuaremos a fazer para levantamento de maior casuística, pensando, também, receber o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), em Projeto que vai ser estruturado.

MATERIAL E MÉTODO

Foram selecionados 4 cães de caça, perdigueiros, que eram de há muito portadores de microfilárias, dos quais foram retirados 2 ml de sangue que foi deixado coagular. Em seguida, macerado, adicionando-se 2 ml de água destilada, filtrado em uma tela de arame de finas malhas e, contrifugado. O sedimento foi espalhado em uma lâmina de microscopia e deixado secar ao ar. Após, foi fixado em acetona por 1 minuto, deixando, novamente, secar ao ar, e corado pelo método de Barka, transcrito de CHALIFOUX & HUNT¹ (1971):

1) Tampão de acetato de veronal de Michaelis, pH 10.0

Acetato de sódio (NaC ₂ H ₃ O ₂ .3H ₂ O)	9,714	g
Barbital sódico	14,714	g
Água destilada	500,0	ml

Conservado a 4°C

2) Fostafo As-TR Naftol

Fosfato AS-TR Naftol, sal sódico	0,05	g
N,N-Dimetil-formamida	5,0	ml

Preparação recente.

3) Pararosanilina

Hidrocloreto de pararosanilina	1,0	g
Água destilada	20,0	ml
Ácido clorídrico concentrado	5,0	ml

Adicione pararosanilina à água, aqueça para dissolver.

Adicione HCl e esfrie. Guardar a 4°C.

4) Nitrito de sódio, 4%

Nitrito de sódio (NaNO ₂)	4,0	g
Água destilada	100,0	ml

Mantém-se bem à temperatura ambiente ou a 4°C.

5) Verde de metila em tampão fosfato, 1%

a) 0,2 M fosfato de sódio

Na ₂ HPO ₄	28,396 g
Água destilada	1.000,0 ml

b) 0,1M ácido cítrico

C ₃ H ₄ (OH) (COOH) ₃ . H ₂ O	21,011 g
Água destilada	1.000,0 ml

Solução final

Sol. A	77,1 ml
Sol. B	122,9 ml
Verde metila	2,0 g

Mantém-se bem à temperatura ambiente.

Juntar 20 ml da solução 1 a 50 ml de água destilada. A esta adicionar 4 ml da solução 2. Em um tubo de ensaio misturar 3,2 ml de cada uma das soluções 3 e 4, e adicionar à mistura anterior. Ajustar o pH a 5,0 com 0,1 N de NaOH. A solução final deve ser preparada recentemente antes de cada uso. O fosfato AS-TR naftol em tampão pode ser preparado e guardado a 4°C por 4 semanas. As soluções 3 e 4 são estáveis a 4°C por mais de 6 meses.

Modo de usar: incube os esfregaços na solução precedente por 1 hora a 37°C ou 2 horas a 25°C. Lavar em água destilada. Contraste em verde de metila a 1% (solução 5) de 2 a 3 minutos. Lave em água destilada. Desidratar em álcool etílico a 95% e, em seguida, em álcool absoluto. Clareie em xilol e monte em permount. Os esfregaços estão prontos para exame da atividade da fostatase ácida.

RESULTADOS

Os cães apresentavam grau variado de infestação. Todos os esfregaços tratados pelo método do fosfato AS-TR naftol mostraram as microfilárias inteiramente coradas em vermelho, menos intensamente na parte cefálica, e evidenciando atividade da fosfatase ácida em toda a extensão do seu corpo o que as identifica como *Dipetalonema reconditum*, uma vez que a *Dirofilária immitis* cora-se em vermelho apenas em duas faixas bem delimitadas correspondentes aos poros excretório e anal. Essa diferenciação histoquímica foi confirmada pela observação clínica que não evidenciou sinais de estado patológico nos parasitos pela *Dipetalonema reconditum*, apesar da infestação ser antiga, o que não acontece no caso da infestação por *Dirofilária immitis*. Em 2 cães

o número de microfilárias era bem expressivo para atribuir-se a falta de sinais clínicos a uma possível infestação leve.

É provável que, em vista desses animais habitarem a zona rural, a infestação pelo *Dipetalonema reconditum* se dê mais facilmente nessas áreas pela existência de outros animais que poderiam servir muito bem de reservatórios explicando, assim, a maior incidência de filariose em cães de caça no Recife e adjacências.

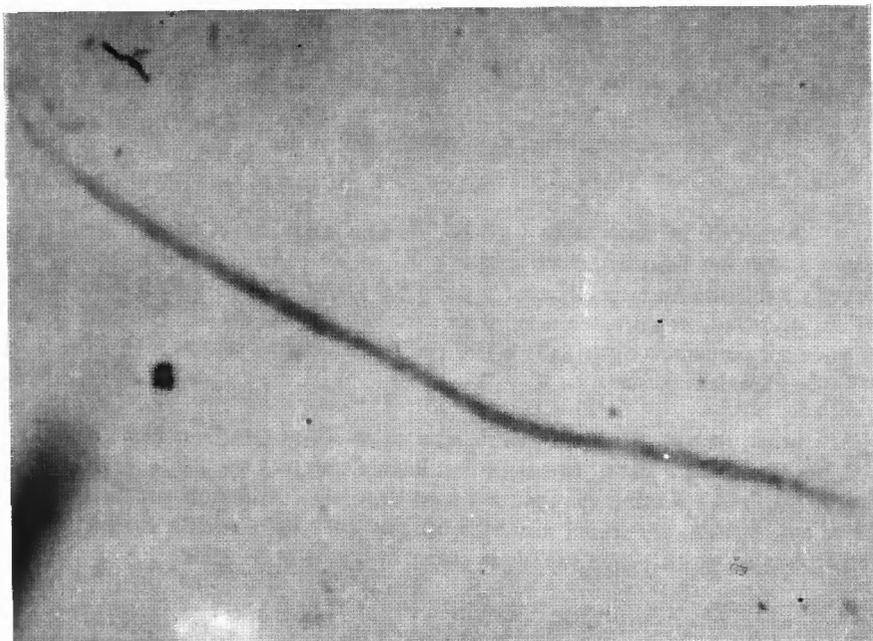


Figura 1— A microfilária Dipetalonema reconditum em ampliação fotográfica, mas, que foi feita de original microfotográfico, de x 450 (X 450). Original dos Autores.

ABSTRACT

Microfilariae of *Dipetalonema reconditum* were identified in blood smears from hunting dogs from Recife, stained for the demonstration of acid phosphatase activity.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 – CHALIFOUX, Laura & HUNT, Ronald D. Histochemical differentiation of *Dirofilaria immitis* and *Dipetalonema reconditum*. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, Chicago, 158(5): 601-5, Mar. 1971.
- 2 – COSTA FILHO, Guilherme Antônio da et alii. Ocorrência de parasitoses no Hospital Veterinário, Departamento de Clínicas da Escola Superior de Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco. *Anais da Escola Superior de Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco*, Recife, 1(1):63-7, 1974.